(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 559 455**

(51) Int. CI.:

A23L 1/05 (2006.01)
A23L 1/304 (2006.01)
A23L 1/305 (2006.01)
A23L 1/00 (2006.01)
B01J 13/04 (2006.01)
C08J 3/075 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.07.2012 E 12735532 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.10.2015 EP 2731450**

(54) Título: **Encapsulado de calidad alimentaria y su procedimiento de fabricación**

(30) Prioridad:

15.07.2011 EP 11174258

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.02.2016

(73) Titular/es:

NESTEC S.A. (100.0%)
Avenue Nestlé 55
1800 Vevey, CH

(72) Inventor/es:

BRAGA, ANA LUIZA;
KOLODZIEJCZYK, ERIC y
SCHMITT, CHRISTOPHE JOSEPH ETIENNE

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Encapsulado de calidad alimentaria y su procedimiento de fabricación

Campo técnico

La invención se refiere a un encapsulado de calidad alimentaria que comprende proteínas gelificadas asociadas con un micronutriente. También se divulga un proceso para producir el encapsulado.

Antecedentes de la invención

La fortificación de alimentos con micronutrientes, como el hierro no es un procedimiento sencillo. Por ejemplo el hierro induce con frecuencia alteraciones del producto inaceptables relacionadas con su decoloración y propiedades pro-oxidativas. Para evitar estas alteraciones es común utilizar fuentes de hierro insolubles, que son químicamente menos reactivas que las sales de hierro solubles en agua. Sin embargo, estos compuestos tienen generalmente una biodisponibilidad reducida, y por lo tanto, un valor nutricional inferior. Está claro, sin embargo, que la biodisponibilidad depende de muchos factores, tales como la matriz de los alimentos y la edad de la población.

Otra solución es la encapsulación del hierro, con el fin de impedir físicamente la interacción del hierro con otros ingredientes alimenticios. El compuesto de hierro se recubre con una capa protectora o se embebe en una matriz, que constituye una barrera física para su difusión o disolución en la matriz alimentaria, lo que reduce su reactividad. A continuación, la liberación de hierro se activa por el pH, la escisión enzimática o los cambios de temperatura.

Los encapsulados a base de grasa no son termoestables y sufren separación de fases en las composiciones acuosas. Sin embargo, una ventaja de tales sistemas es la posibilidad de encapsular sulfato de hierro, el cual se considera como el compuesto de hierro más biodisponible y, por lo tanto, se utiliza como una referencia para las comparaciones de biodisponibilidad. Otros tipos de encapsulados se basan en fosfolípidos y la mayoría de ellos ofrecen pirofosfato de hierro, el cual es menos biodisponible que el sulfato de hierro.

Las proteínas como las lactoferrinas pueden quelar hierro. Sin embargo, tales proteínas imparten un color rosado indeseable al producto. La alta afinidad por el hierro es también una característica de otras proteínas tales como caseínas o proteínas globulares. Remondetto et al. (2004) (Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 8137-8143) ha estudiado el mecanismo de liberación de hierro de macrogeles de proteínas globulares que contienen hierro gelificado por medio de calor e inducción iónica.

Surh et al. (2007) (Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 175-184) describe procesos de emulsificación de agua en aceite. Sin embargo, el inconveniente de la aplicación del proceso de emulsificación de agua en aceite es la etapa adicional que se necesita para separar las micropartículas y el lavado del aceite.

También es deseable ofrecer un encapsulado de hierro que no implique la declaración de múltiples ingredientes. Hoy no existen tales encapsulados que puedan ofrecer un rendimiento satisfactorio en aplicaciones de alta humedad. De los numerosos sistemas de encapsulación de hierro de los proveedores que han sido evaluados hasta ahora, Ferrazone (hierro-EDTA) parece ser la mejor solución. Sin embargo EDTA no está permitido en todos los países.

Se encuentran dificultades similares cuando se consideran otros micronutrientes.

Por lo tanto, es deseable ofrecer una solución de fortificación versátil, que se adapte a varios micronutrientes.

Jaejoon Han et al. (2008) (Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56, 2528-2535) se refiere a la funcionalización con alginato y quitosano para la encapsulación de micronutrientes.

Sumario de la invención

Por lo tanto, hay una necesidad de un encapsulado de calidad alimentaria que exhiba algunas, preferiblemente todas, de las siguientes propiedades: estabilidad bajo tratamiento térmico, estabilidad en varias matrices alimenticias, en especial matrices de alta humedad, estabilidad durante el almacenamiento, protección de la matriz alimenticia frente a alteraciones asociadas con la fortificación de micronutrientes o mitigación de los efectos indeseables de tal fortificación. La producción de tal encapsulado de micronutrientes debe ser reproducible de forma fiable a una escala industrial, en una manera rentable. Por otra parte, el encapsulado debe ser versátil, lo que significa que puede ser fácilmente adaptado a varios micronutrientes.

Es un objeto de realizaciones de la invención cumplir con la necesidad de un encapsulado de calidad alimentaria que tenga las propiedades mencionadas anteriormente. Este objeto se resuelve por medio de la invención definida en las reivindicaciones independientes. Las reivindicaciones dependientes desarrollan adicionalmente la idea central de la invención.

En un primer aspecto, la invención se refiere a un encapsulado de calidad alimentaria que comprende agregados de proteínas gelificadas embebidos en una fase continua de polisacárido, en el que dichos agregados de proteínas gelificadas comprenden un micronutriente, y en el que el encapsulado presenta un tamaño de desde 1 micra hasta 5 mm. Preferiblemente, dicho micronutriente es un mineral de la dieta, o una mezcla de varios minerales de la dieta.

En realizaciones de la invención, las proteínas se seleccionan de proteínas globulares, preferiblemente de proteínas del suero de la leche, proteínas de soja, proteínas de clara de huevo, proteínas de guisante, proteínas de lupino, proteínas de patata, proteínas de canola o mezclas de las mismas. En otras realizaciones, dichas proteínas son la caseína micelar, las caseínas ácidas, caseinatos o mezclas de las mismas.

En realizaciones de la invención, el componente polisacárido se selecciona de pectinas altamente ramificadas, arabinogalactanos, complejos de arabinogalactano-proteína, arabinoxilanos de cereales, polisacáridos de alto peso molecular y/o polisacáridos gelificantes, seleccionados preferiblemente de alginato, carragenanos, pectinas, agar, goma guar, goma de algarroba o goma de xantano o mezclas de los mismos. Preferiblemente, el componente polisacárido se selecciona a partir de polisacáridos de alto peso molecular y/o polisacáridos gelificantes, seleccionados preferiblemente de alginato, carragenanos, pectinas, agar, goma guar, goma de algarroba o goma de xantano.

En realizaciones de la invención, el encapsulado tiene un pH que oscila desde 1,5 unidades por encima o por debajo del punto isoeléctrico de la proteína.

En un segundo aspecto, la invención se refiere a un proceso para producir un encapsulado de calidad alimentaria, que comprende las etapas de:

a) mezclar un micronutriente con una solución de proteína, donde el micronutriente se proporciona como una sal o una solución,
b) gelificar dicha solución de proteína,
c) antes o después de la etapa b), añadir un componente polisacárido a la solución de proteína.

En realizaciones de la invención, la solución de proteína tiene una concentración de 1 a 10 % en peso de proteína, y la etapa b) puede comprender:

- calentar la solución de proteína a una temperatura de 70 °C a 150 °C, durante un período de entre 10 segundos y 2 horas, a un pH de 5,8 a 8,0, hasta la gelificación de dicha proteína,
- ajustar el pH de la solución de proteína hasta el punto isoeléctrico de dicha proteína
- tratar la solución de proteína a alta presión de 200 MPa a 800 MPa a una temperatura de 20 °C a 100 °C, durante un período de desde 10 segundos hasta 2 horas, a un pH de 5,8 a 8,0, hasta la gelificación de dicha proteína.

Un tercer aspecto de la invención es un producto alimentario que comprende un encapsulado de calidad alimentaria de acuerdo con el primer aspecto de la invención, o producido por un proceso de acuerdo con el segundo aspecto de la invención. Los productos alimentarios incluyen bebidas y alimentos sólidos. Un encapsulado de calidad alimentaria que está en forma de un polvo, es también parte de la invención. Tal encapsulado puede ser utilizado para el enriquecimiento de productos alimentarios y bebidas.

Estos y otros aspectos, características y ventajas de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica al leer la divulgación proporcionada aquí en relación con los dibujos adjuntos. La descripción detallada, aunque indica realizaciones preferidas de la invención, se da solamente a modo de ilustración de la invención.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra encapsulados de micropartículas de gel que contienen polisacáridos, preparados según el Ejemplo 1, por microscopía óptica. A: fase dispersa con proteína gelificada; B: fase continua con polisacárido gelificado. La barra de escala representa 10 micras.
La Figura 2 muestra una emulsión de agua-en-agua del Ejemplo 1. A: control sin tinción (después de la etapa 2 del Ejemplo 1); B: marcado de hierro (después de la etapa 3 del Ejemplo 1). La barra de escala representa 100 micras.
La Figura 3 muestra la evolución de la fuga de hierro de micropartículas de gel del Ejemplo 1, más de 12 meses de almacenamiento, a 4 °C, 20 °C y 30 °C.
La Figura 4 muestra la liberación de hierro en una matriz de leche acidificada después del tratamiento térmico y a lo largo del tiempo a 4 °C.
La Figura 5 muestra la estructura porosa de encapsulados de complejos moleculares preparados según el Ejemplo 7 (microscopía óptica). La barra de escala representa 15 micras.
La Figura 6 muestra el marcado de encapsulados de complejos de polisacárido de preparados según el Ejemplo 7 (microscopía óptica). La barra de escala representa 20 micras.
La Figura 7 muestra la estructura de complejos moleculares preparados según el Ejemplo 7, por microscopía de fuerza atómica. La barra de escala representa 1 micra.

La Figura 8 muestra la liberación de hierro en una matriz de leche condensada azucarada a lo largo del tiempo a 4 °C, del Ejemplo 7.

Descripción detallada de la invención

Componente micronutriente

Se pueden considerar varios micronutrientes para la encapsulación. Como ya se ha mencionado, los micronutrientes son preferiblemente mineral de la dieta o mezclas de minerales de la dieta. Los minerales de la dieta se proporcionan como mineral de calidad alimentaria o sales orgánicas, o iones. Ejemplos de minerales de la dieta incluyen:

- potasio, calcio, y magnesio, y
- oligoelementos, tales como hierro, boro, cobalto, cromo, cobre, flúor, yodo, manganeso, molibdeno, selenio y zinc.

Mezclas de minerales de la dieta de especial interés comprenden hierro. Además, también pueden comprender zinc o yodo. Las mezclas de hierro, zinc y yodo son también de interés. En una realización, los componentes de hierro pueden ser considerados como micronutrientes para la encapsulación. Preferiblemente, el componente de hierro se selecciona del grupo que consiste en Fe^{2+}, Fe^{3+} y mezclas de los mismos. Se proporcionan componentes de hierro en forma de sales o en forma de una solución de tales sales. Las sales pueden ser sales inorgánicas o sales orgánicas. Las sales inorgánicas incluyen cloruro, fosfato, pirofosfato y sulfato. Podrían considerarse otras sales inorgánicas de calidad alimenticia. Las sales orgánicas incluyen fumarato, lactato, citrato, gluconato, succinato, sacarato, glicerofosfato y tartrato. Por ejemplo, se usan sulfato de hierro, pirofosfato férrico. Estos productos son los productos básicos en la industria alimentaria.

Encapsulados

De acuerdo con la invención, los encapsulados de micronutrientes se preparan mediante un proceso de microencapsulación, para obtener encapsulados. Tales procesos se describen por ejemplo en un artículo de Sagalowicz y Leser “Delivery systems for liquid food products” (Current Opinion in Colloid & Interface Science 15 (2010) 61-72). Otra referencia que trata sobre procesos de microencapsulación es el libro editado por Zuidam y Nedovic “Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing” (2008). En la microencapsulación, el componente micronutriente está embebido en una matriz de proteína gelificada. En otras palabras, se obtiene un gel a escala submicrónica, micrométrica o milimétrica, que forma una dispersión coloidal estable de proteína gelificada y el componente micronutriente. Preferiblemente, el componente micronutriente comprende hierro. Dependiendo de qué tipo de proteína se utiliza, se pueden obtener diferentes especies de encapsulados, tales como micropartículas de gel discretas y complejos moleculares, en los que la matriz de proteína se gelifica.

En el marco de esta invención, las proteínas gelificadas se definen como un conjunto de 100 a miles de unidades de proteína monomérica que forman una red tridimensional capaz de retener disolvente, principalmente agua. En este montaje, los monómeros de proteína generalmente no están en su estado nativo y se mantienen unidos por enlaces no covalentes (enlaces electrostáticos, hidrófobos y/o enlaces de hidrógeno) y/o covalentes. Todas las características físico-químicas que describen geles de proteínas se detallan en el documento de revisión de Clark y Ross-Murphy “Structural and mechanical properties of biopolymer gels” (Advances in Polymer Science, 83, 57-192). Por ejemplo, las proteínas gelificadas se pueden obtener por tratamiento térmico de las proteínas globulares por encima de su temperatura de desnaturalización, lo que provoca la agregación y la gelificación. Alternativamente, las proteínas gelificadas se pueden formar por agregación y gelificación de proteínas cerca de su pH isoeléctrico.

Los encapsulados comprenden también un componente polisacárido, lo que mejora la estabilidad de la matriz de proteína gelificada y el componente de micronutrientes dentro de la matriz de proteína gelificada.

El tamaño y la estructura de los encapsulados dependen principalmente de la naturaleza de las proteínas utilizadas para preparar los encapsulados, el método de preparación, así como el componente polisacárido.

La producción de encapsulados de hierro se describirá ahora con mayor detalle. El proceso descrito a continuación se puede adaptar fácilmente a otros minerales de la dieta tales como potasio, calcio, magnesio, y los oligoelementos mencionados anteriormente.

Encapsulados de hierro en micropartículas de gel

Los encapsulados de hierro consisten en micropartículas de proteína gelificada agrupadas en una matriz de polisacárido gelificado. Los encapsulados de hierro son partículas discretas con un diámetro medio que varía de 20 a 5000 micras. Las micropartículas de proteína gelificada tienen un diámetro medio que varía de aproximadamente 200 nm a aproximadamente 20 micras. El diámetro medio de los encapsulados de hierro puede ser medido por difusión y dispersión de la luz utilizando por ejemplo un Malvern MasterSizer 2000 (unidad de difracción de láser,

con un intervalo de tamaño de 0,02 a 2.000 micras) equipado con un Malvern Hydro 2000G (unidad de dispersión para muestras grandes), un reductor de presión de agua Honeywell (presión máxima de agua desionizada: 1 bar) y un desgasificador de agua ERMA (para reducir el aire disuelto en el agua desionizada). Las mediciones se calculan en el software Malvern basado en la teoría de Mie. Los siguientes parámetros se usan para medir la distribución del tamaño de los encapsulados de micropartículas de gel: 1.460 para el índice de refracción de las partículas, 0,01 para la absorción de las partículas, el dispersante utilizado es agua con un índice de refracción de 1330.

En una primera realización de la invención, los encapsulados de micropartículas de gel se producen con caseínas o proteínas globulares como una fuente de proteína. Las caseínas incluyen caseína micelar, caseínas, caseinatos o mezclas de los mismos. Al menos se pueden proponer dos métodos para la fabricación de encapsulados de hierro de micropartículas de gel: un método de goteo y un método de extrusión.

En una primera variante de la primera realización, se prepara primero una solución de caseína, la cual tiene preferiblemente una concentración de 1 a 10 % en peso de la caseína. Más preferiblemente, la concentración de caseína varía de 6 a 9 % en peso. A continuación, se mezcló una solución de hierro con la solución de caseína, con agitación. El componente de hierro ha sido descrito anteriormente. Preferiblemente, si se usa sulfato de hierro la solución comprende citrato de sodio y ascorbato de sodio. Preferiblemente, el hierro está en forma ferrosa. Preferiblemente, la solución de hierro tiene un pH de 6 a 7.

Una solución que comprende polisacáridos de alto peso molecular gelificantes se mezcla a continuación con la solución de caseína y hierro, todavía en agitación. Preferiblemente, dichos polisacáridos se seleccionan de alginato, carragenanos, pectinas o agar.

Preferiblemente, el contenido total de biopolímeros (polisacáridos y proteínas) y la relación entre proteína y polisacáridos debe ser tal que la mezcla se incluye en una región incompatible (bifase) de un diagrama de fases. La región incompatible del diagrama de fases se puede determinar mediante microscopía óptica. Esta determinación se puede hacer de la siguiente manera: una mezcla de una solución de proteína y polisacárido se tiñe con rodamina, a continuación, se coloca sobre un portaobjetos de vidrio y se cubre con cubreobjetos. La muestra se observa a continuación, con excitación luz de 450-490 nm de longitud de onda en un microscopio Leica DMR acoplado a una cámara DC 300F. Las imágenes se tomaron con los objetivos de 40 x o 10 x. Todas las mezclas que muestran una fase dispersa y continua se consideran incompatibles. Para la consecución de una fase dispersa de la proteína, el volumen de fase de la proteína debe ser inferior a 50 %.

Por ejemplo, cuando se utiliza alginato como polisacárido, entonces la relación caseinato:alginato puede ser 2:1 en peso. Cuando se usa proteína del suero de la leche (desnaturalizada) con alginato como polisacárido, entonces la relación suero de la leche:alginato puede ser 4:1 en peso. Cuando la proteína del suero de la leche desnaturalizada y el carragenano se utilizan en la relación suero de la leche:carragenano puede ser 7:1 en peso.

A continuación, el pH de la solución de caseína y polisacárido se ajustará hasta el punto isoeléctrico de la caseína (o un valor de hasta 1 unidades de pH por encima o por debajo del punto isoeléctrico de la proteína). Esto se puede realizar mediante la adición de una solución ácida, preferiblemente de forma progresiva, hasta que se alcanza el punto isoeléctrico. Esto da lugar a la gelificación de la caseína. Por ejemplo, se puede usar una solución de ácido cítrico 0,1 M. También es posible acidificar la solución mediante la adición de polvo de glucono-delta-lactona.

Como puede verse en la Figura 1, las micropartículas de gel son estructuras discretas que tienen una fase dispersa de proteína gelificada en una fase continua de polisacárido gelificado.

En una segunda variante de la primera realización, en primer lugar se prepara una solución de proteína globular y las proteínas se desnaturalizan usando un tratamiento térmico, tal como se describe en relación con la primera realización. A continuación, se añade una primera solución que contiene polisacárido a la solución de proteína globular. Los detalles son similares a los de la primera variante anterior. A continuación, el pH de la solución de proteína globular y polisacárido se ajusta como se ha descrito anteriormente en relación con la primera variante.

La solución acidificada de proteína y polisacáridos se transfiere a continuación a una segunda solución que contiene cationes de calcio, zinc o de potasio u otros iones que podrían gelificar un polisacárido de alto peso molecular, por goteo o extrusión. Esta solución acidificada también puede ser secada por pulverización o enfriada por pulverización. Preferiblemente, cuando el polisacárido es alginato, la segunda solución contiene cationes de calcio o zinc. Preferiblemente, cuando el polisacárido es carragenano, la segunda solución contiene cationes de calcio o de potasio. La rotura de la gota puede ser inducida por corte de un chorro de solución, por vibración de chorro o por presión de chorro. El tamaño de las partículas gelificadas dependerá del tamaño de la boquilla, la tasa de corte, el modo de vibración y/o la presión aplicada. Tales parámetros del proceso pueden ser seleccionados por la persona experta. Los contraiones de la segunda solución puede ser un haluro, tal como cloruro o yoduro. Se pueden utilizar otros contraiones de calidad alimentaria, tales como lactato o gluconato. Preferiblemente, la segunda solución es una solución de cloruro de calcio con una concentración de 0,1 a 0,6 M de sales metálicas.

Este proceso tiene como resultado una suspensión de encapsulados de micropartículas de gel en un medio líquido. Los encapsulados de micropartículas se pueden separar del medio líquido, por ejemplo, por centrifugación o filtración.

Ventajosamente, los encapsulados de micropartículas se secan a continuación. Se pueden aplicar diferentes métodos de secado, tales como secado por pulverización o secado en lecho fluidizado. Esto da lugar a un polvo que comprende encapsulados de micropartículas gelificadas.

Los encapsulados de micropartículas gelificadas preparados de acuerdo con la primera realización son partículas discretas. Se pueden utilizar como señales visuales en un producto alimentario final. Se pueden añadir al producto alimentario final en forma de un producto acuoso o de un producto seco.

Encapsulados de complejos moleculares

Los complejos moleculares que comprenden microgeles de proteínas tienen una dimensión de 50 a 600 nm, preferiblemente de aproximadamente 100 nm. Los complejos moleculares pueden estar puenteados entre sí por un componente polisacárido, o gelatina para formar encapsulados de complejos moleculares. Los encapsulados de complejos moleculares pueden tener una dimensión de 200 nm a 100 micras. La dimensión de los encapsulados de complejos moleculares se puede evaluar mediante dispersión de luz dinámica utilizando por ejemplo un aparato Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Ltd.). El aparato está equipado con un láser de He-Ne que emite a 633 nm y con una fuente de energía de 4,0 mW. El instrumento utiliza una configuración de retrodispersión donde la detección se realiza en un ángulo de dispersión de 173 ° utilizando un fotodiodo de avalancha. Los encapsulados de complejo molecular se diluyeron hasta menos de 1,0 % en peso en agua Millipore y se vertieron en cubetas de plástico cuadradas (Sarstedt, Alemania). Las mediciones se realizaron a 25 °C. Dependiendo de la turbidez de la muestra, la longitud de la trayectoria de la luz se ajusta automáticamente por el aparato. La función de autocorrelación $G_2(t)$ se calcula a partir de la fluctuación de la intensidad dispersada con el tiempo. Del ajuste polinómico del logaritmo de la función de correlación utilizando el método de “cumulantes”, el diámetro hidrodinámico promedio z de las partículas se calcula suponiendo que las partículas difusoras son esferas monodispersas.

En la preparación de encapsulados de complejos moleculares, las proteínas globulares se usan preferiblemente como una fuente de proteína. Las proteínas globulares incluyen proteínas del suero de la leche, proteínas de soja, proteínas de clara de huevo, proteínas de guisantes, proteínas de lupino o mezclas de las mismas. Como se divulga en relación con los encapsulados de micropartículas de gel, se trata térmicamente una solución de proteína globular para desnaturalizar las proteínas. Esto da lugar a la gelificación de la proteína globular debido a las interacciones hidrófobas y a la formación de enlaces covalentes. Por lo general, la solución de proteína tiene una concentración de 1 a 8 % en peso de proteína, preferiblemente entre 3 y 6 % en peso.

En una segunda realización de la invención, se añade el componente de hierro a la solución de proteína antes del tratamiento térmico. El componente de hierro se ha descrito detalladamente más arriba. Preferiblemente, se añade como una sal en estado seco. También se puede añadir como una solución. A continuación se elimina el exceso de agua, por ejemplo por evaporación o microfiltración.

Después del tratamiento térmico, se añade un componente polisacárido a la solución de proteína. El componente polisacárido es preferiblemente pectinas altamente ramificadas, arabinogalactanos, complejos de arabinogalactano-proteína, arabinoxilanos de cereales o mezclas de los mismos.

Se obtienen encapsulados de complejos moleculares, como una dispersión en agua.

Ventajosamente, el pH de la dispersión de encapsulados de complejos moleculares se puede ajustar entre los valores de 2,0 y 7,0, preferiblemente entre valores de pH de 4,0 y 5,0.

Ventajosamente, a continuación se secan los encapsulados de complejos moleculares. Se pueden aplicar diferentes métodos de secado, tales como secado por pulverización o liofilización. Esto da lugar a un polvo que comprende encapsulados de hierro.

En una tercera realización de la invención, se añade el componente de hierro a la solución de proteína después del tratamiento térmico. El componente de hierro se ha descrito detalladamente anteriormente. Preferiblemente, se añade como una solución. Después de agitar, se añade el componente polisacárido a las proteínas gelificadas. El componente polisacárido es preferiblemente pectinas altamente ramificadas, arabinogalactanos, complejos de arabinogalactano-proteína, arabinoxilanos de cereales o mezclas de los mismos.

Ventajosamente, el pH de la dispersión de los complejos moleculares se puede ajustar entre los valores de 2,0 y 7,0, preferiblemente entre valores de pH de 4,0 y 5,0.

Ventajosamente, a continuación se secan los encapsulados de complejos moleculares. Se pueden aplicar diferentes métodos de secado, tales como secado por pulverización o liofilización. Esto da lugar a un polvo que comprende encapsulados de hierro.

El encapsulado de hierro obtenido de acuerdo con la invención descrito anteriormente se puede utilizar para la fortificación de un producto alimentario con hierro, u otros minerales de la dieta, dependiendo de los minerales usados en el proceso de encapsulación.

Como se mencionó anteriormente, la invención propone un proceso para producir un encapsulado de calidad alimentaria, que comprende las etapas de:

a) mezclar un micronutriente con una solución de proteína,
b) gelificar dicha solución de proteína,
c) antes o después de la etapa b), añadir un componente polisacárido a la solución de proteína.

Por lo tanto, dentro del contexto de la invención están abarcadas varias combinaciones de etapas: a-b-c y a-c-b. Cada una de estas combinaciones pueden ir seguidas por una etapa de secado.

Se pueden añadir a un producto alimentario final, como un ingrediente, en forma de un producto acuoso o de un polvo.

Se pueden utilizar procesos similares para preparar encapsulados que contienen otras especies de mineral de la dieta. Estos encapsulados se pueden utilizar para fortificar un producto alimentario con minerales de la dieta. Los encapsulados se pueden preparar con el fin de comprender una sola especie de mineral de la dieta, o varias especies de minerales de la dieta. Cuando se desee fortificar un producto alimentario con minerales de la dieta, la mezcla requerida de encapsulados puede prepararse a partir de “encapsulados de una sola especie” o encapsulados con la mezcla deseada de micronutrientes minerales.

El producto alimentario final incluye productos lácteos de conservación en frío (yogur, nata, postres, mousse), productos lácteos de conservación a temperatura ambiental (leche condensada), productos alimentarios congelados (helados, sorbetes), productos de confitería (caramelos de azúcar, malvaviscos, jaleas) y comidas (sopas, caldos) o bebidas (listas para beber o polvos para la reconstitución en un líquido).Tales productos alimentarios finales pueden contener una o ambas formas de encapsulado de calidad alimentaria: encapsulados de micropartículas de gel o encapsulados de complejos moleculares.

Ahora debería mencionarse que la invención proporciona un encapsulado de mineral de la dieta de calidad alimentaria, especialmente un encapsulado de hierro, que cumple los objetivos establecidos anteriormente. De hecho, como se muestra en los ejemplos, los encapsulados exhiben un contenido de hierro estable, tanto durante el procesamiento como durante el almacenamiento.

Por lo tanto, una realización de la invención es un encapsulado de hierro que comprende complejos moleculares que presentan fugas de hierro de menos de 30 % a 20 °C, durante un tiempo de almacenamiento de 0,5 meses, o de 1 mes, o de 2 meses, o de 5 meses, en leche condensada azucarada y en productos alimentarios con una concentración alta de azúcar similar.

Ejemplos

Los ingredientes son de calidad alimentaria y se pueden adquirir en Davisco Foods International, Dr. Paul Lohmann, CP Kelco, Emmi Schweiz AG, Internacional Specialty Products Inc.

Ejemplo 1: Preparación de encapsulados de micropartículas con caseinato de sodio y componente polisacárido

Composición final de encapsulados (antes del secado): 3 % en peso de caseinato-Na/1,4 % en peso de alginato-Na/0,21 % en peso de Fe

Descripción del proceso:

1) Mezclar 37,5 g de solución de 8% en peso de una solución de caseinato-Na con 0,5 g de $FeSO_4$ 1,2 M/citrato-Na 1,2 M/ascorbato de sodio 1,2 M durante 15 min.
2) Añadir 56 g de 2,5 % en peso de solución de alginato-Na y agitar durante 15 min.
3) Añadir aproximadamente 9 g de solución de ácido cítrico 0,1 M mientras se agita para reducir el pH hasta 5,0 para gelificar la proteína con hierro. La disminución del pH se lleva a cabo gradualmente, lo que significa que la mezcla se agita durante 1 min en cada disminución de 0,2 unidades de pH.
4) Hacer gotear la mezcla (pH 5,0) en solución de cloruro cálcico al 8 % en peso bajo agitación (mantener en agitación durante 30 min). La ruptura de gota se puede inducir cortando un chorro de solución, por vibración de

chorro o por la presión de chorro. El tamaño de las partículas gelificadas (20-5000 µm) dependerá del tamaño de la boquilla, la velocidad de corte, el modo de vibración y/o la presión aplicada.
5) Separar los encapsulados por filtración o por centrifugación.
6) Añadir los encapsulados en agua en una relación en peso de 1:3 (partículas:agua) durante 15 horas.
7) Secar los encapsulados mediante secado por pulverización (partículas pequeñas) o por lecho fluidizado (necesidad de separar previamente las partículas).

Ejemplo 2: Observación de encapsulados de micropartículas por microscopía óptica

Las micropartículas de gel se estabilizaron con una fijación en glutaraldehído anhidro en metanol y se embebieron en resina Spurr. Se tiñeron cortes finos (0,5 micras de espesor) para la proteína (verde claro) y polisacárido (rutenio rojo) o con azul de toluidina (tinción general). Se utilizó un microscopio Zeiss Axioplan II con cámara digital Axiocam MRC5. La Figura 1 muestra la fase de proteína gelificada dispersa (A) y la fase continua gelificada de polisacárido (B).

Ejemplo 3: Marcado con hierro de encapsulados de micropartículas

Se tiñe con alzinrarot una mezcla de solución de biopolímero de hierro, antes de la etapa de goteo, a continuación, se coloca en un portaobjetos de vidrio y se cubre con cubreobjetos. La muestra se observa a continuación, en el modo de campo claro en un microscopio Leica DMR equipado con una cámara DC 300F. La Figura 2 muestra un control sin tinción con gotitas de proteínas dispersas en la fase continua de polisacárido (A), y una muestra marcada que muestra que el hierro se localiza en la fase dispersa de proteína gelificada (B).

Ejemplo 4: Liberación controlada de hierro de encapsulados de micropartículas en la leche condensada azucarada (LCA) durante la vida útil a diferentes temperaturas

Las micropartículas preparadas como se describe en el ejemplo 1 se añadieron a la leche condensada azucarada (LCA) antes de la etapa de tratamiento térmico (95 °C/5 s). Las muestras de LCA se almacenaron en frascos de vidrio en una habitación oscura a varias temperaturas (4 °C [cuadrado], 20 °C [círculo] y 30 °C [triángulo]). La liberación de hierro a partir de las partículas de la matriz de LCA se evaluó a lo largo de su vida útil (1, 3, 6, 9 y 12 meses). El procedimiento fue el siguiente:

1) Separar los encapsulados por filtración
2) Lavar los encapsulados en agua corriente
3) Secar los encapsulados en el horno a 80 °C hasta la constancia de peso
4) Medir el contenido de hierro en los encapsulados secos por Espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) utilizando un Spectro Ciros Vision (Spectro Analytical Instruments GmbH, Alemania)

La Figura 3 muestra que a 4 °C después de 1 mes, menos del 15 % de hierro se había liberado en la matriz alimentaria. A los 2 meses de vida útil se observó una liberación máxima de hierro de 30 % en la matriz de LCA. Las muestras almacenadas a 20 °C y 30 °C mostraron un aumento de la fuga de hierro con el tiempo alcanzando una liberación máxima de 70 %. A temperatura ambiente las cápsulas comenzaron a desintegrarse después de 6 meses (30 °C) o 12 meses (20 °C) de vida útil debido a un efecto del alto contenido de sacarosa del producto. Esto podría haber aumentado la liberación de hierro.

Por lo tanto, una realización de la invención es un encapsulado de hierro que comprende micropartículas de proteína gelificadas que presentan fugas de hierro de menos de 30 % a 4 °C, durante un tiempo de almacenamiento de 1 mes, o de 2 meses, o de 6 meses, o de 12 meses, en leche condensada azucarada y en productos alimentarios con una concentración alta de azúcar similar.

Ejemplo 5: Liberación controlada de hierro de encapsulados de micropartículas en leche acidificada durante la vida útil a 8 °C.

La liberación de hierro en la leche acidificada se evaluó después de 10 días a 8 °C. Las micropartículas se prepararon como se describe en el ejemplo 1 y se añadieron en dos etapas diferentes del proceso de la preparación del producto lácteo frío. Las micropartículas se añadieron a leche desnatada, ya sea antes de la etapa de tratamiento térmico (92 °C/6 min) o directamente a la leche acidificada agitada después de que el pH había alcanzado el equilibrio (pH 4,5). Las muestras de yogur se almacenaron en frascos de vidrio en un cuarto oscuro a 8 °C. La liberación de hierro de las partículas de la matriz de yogur se evaluó durante 10 días.

<u>Procedimiento 1:</u>

1) Poner 70 g de leche desnatada en frascos de vidrio y añadir las micropartículas de gel (2,1 mg de Fe/100 g de leche)
2) Realizar un tratamiento térmico de la mezcla a 92 °C/6 min y enfriar a 40 °C

3) Añadir glucono-delta-lactona 1,2 % y almacenar las muestras a 4 °C.
4) Después de 1 y 10 días agitar el yogur y centrifugar a 100 xg durante 1 min.
5) Tomar una muestra de yogur sin micropartículas y medir el contenido de hierro por Espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) utilizando un Spectro Ciros Vision (Spectro Analytical Instruments GmbH, Alemania).

Procedimiento 2:

1) Realizar un tratamiento térmico de la leche desnatada a 92 °C/6 min y enfriar a 40 °C
2) Añadir de glucono-delta-lactona al 1,2 % a 40 °C y almacenar las muestras a 4 °C
3) Después de 15 horas a 4 °C agitar la leche acidificada y añadir las micropartículas de gel (2,1 mg de Fe/100 g de producto)
4) Después de 1 y 10 días centrifugar la leche acidificada a 100 xg durante 1 min.
5) Tomar una muestra de yogur sin micropartículas y medir el contenido de hierro por Espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) utilizando un Spectro Ciros Vision (Spectro Analytical Instruments GmbH, Alemania).

La figura 4 muestra que después del proceso de tratamiento térmico se había liberado hasta un 50 % de hierro en la leche. Con el tiempo, la liberación máxima observada fue del 55 %, lo que sucedió ya después de un 1 día de almacenamiento a 4 °C. Por otro lado, la liberación de hierro aumentó con el tiempo cuando se añadieron micropartículas de gel en la leche acidificada (Procedimiento 2). Después de 10 días de almacenamiento aproximadamente el 40 % del hierro se había liberado en la matriz de yogur.

Ejemplo 6: Liberación de hierro de encapsulados de micropartículas en jugo gástrico simulado (JGS)

La liberación de hierro de las micropartículas de gel en el jugo gástrico simulado se evaluó durante 5 horas. El procedimiento del experimento fue el siguiente:

1) Pesar 1 g de micropartículas de gel secas y añadir 3 g de agua para hidratar el gel.
2) Preparar el jugo gástrico simulado de acuerdo con las siguientes etapas:

a. Solución 1 - Disolver 0,6 g de pepsina, 1 g de NaCl, 5,2 g de glucosa en 200 ml de agua ajustando el pH final a 2.
b. Solución 2 - preparar una solución acuosa de NaCl al 0,5 %
c. Mezclar 77 % de la solución 1 con 23 % de solución 2.

3) Añadir 96 g de jugo gástrico simulado a 37 °C a las micropartículas de gel hidratadas y mantener la agitación durante 5 h.
4) Después de 0,5, 1, 3 y 5 h tomar una alícuota del jugo gástrico simulado sin partículas y analizar el contenido de hierro por Espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) con un Spectro Ciros Vision (Spectro Analytical Instruments GmbH, Alemania).

La Tabla 1 muestra el hierro liberado de las micropartículas de gel en JGS a 37 °C. Hasta las 5 h, la bioaccesibilidad del hierro fue casi el 60 %.

Tabla 1. Bioaccesibilidad de hierro en JGS a 37 °C

Tiempo (h)	Hierro liberado %
0,5	30,4
1	38,9
3	45,7
5	56,7

En el contexto de la descripción, los términos “que comprende” o “comprende” no excluye otros posibles elementos o etapas. Además, la mención de referencias tales como “un” o “una”, etc., no debe interpretarse como excluyente de una pluralidad. El uso de signos de referencia en las reivindicaciones con respecto a los elementos indicados en las figuras tampoco se interpretará como una limitación del alcance de la invención.

Se entenderá que los materiales utilizados y los detalles químicos pueden ser ligeramente diferentes o modificarse a partir de las descripciones de la presente memoria sin apartarse de los métodos y composiciones divulgadas y enseñadas por la presente invención.

Aunque las realizaciones preferidas han sido descritas en la descripción anterior, se entenderá que la invención no está limitada a las realizaciones específicas divulgadas. Diversas modificaciones pueden ser evidentes para los expertos en la técnica y pueden ser adquiridas a partir de la práctica de la invención. Las características individuales mencionadas en diferentes reivindicaciones, pueden posiblemente combinarse ventajosamente y la mención de

estas características en diferentes reivindicaciones no excluye que una combinación de características no sea posible y ventajosa.

Ejemplo 7: Preparación de encapsulados de complejo molecular con aislado de proteína del suero de la leche y goma arábiga

Composición final de encapsulados (antes del secado): 3,7 % en peso de APS / 2,8 % en peso de goma arábiga / 0,016 % en peso de Fe
APS: aislado de proteína del suero de la leche

Descripción de las etapas del proceso:

1) Mezclar e hidratar 4 % en peso de APS en polvo en agua
2) Añadir 0,09 % en peso de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ en polvo y ajustar el pH de la solución a 6,5
3) Desnaturalizar la mezcla de APS-hierro a pH 6,5 a 85 °C durante 15 min
4) Añadir polvo de goma arábiga hasta obtener 2,8 % en peso, el valor final del pH está entre 5,5 y 6,0.
5) Añadir opcionalmente concentrado de zumo de vegetales para alcanzar una concentración final de 4,6 %, ajustando continuamente el pH a 5,0 con NaOH 2 M (aproximadamente 0,7 % en peso de la mezcla total)
6) Secar por pulverización la mezcla.

Observación al microscopio óptico (Figuras 5 y 6)

La goma arábiga se marcó usando lectina (*Bandeiraea simplicifolia*, Sigma, # 9381) conjugada con FITC (isotiocianato de fluoresceína) a una concentración de 50 µg/ml en PBS pH 7,2 durante 2 horas. Se observó por epifluorescencia con el microscopio Polyvar (excitación: 488 nm; emisión:> 505 nm).

Observación por microscopia de fuerza atómica (MFA) (Figura 7)

Los portaobjetos de vidrio con los cortes se acoplaron a una placa magnética y se situaron sobre un soporte magnético de la muestra del MFA (PSIA, XE-100). Las imágenes fueron adquiridas en el modo de contacto intermitente (modo repiqueteo) a una velocidad que oscila de 1 a 2,5 Hz usando puntas SSS-NCLR (Nanosensors) (grosor 7 +/- 1 µm. Longitud 225 +/- 10 µm, Anchura: 28 +/- 7,5 µn, Frecuencia de resonancia: 146-236 kHz, Constante de fuerza 20-98 N/m, Altura de la punta 10-15 µm, radio de la punta: 2 nm).

Como se puede ver en las figuras 7 y 8, se puentean entre sí geles de proteína de aproximadamente 130 nm de diámetro mediante goma arábiga, para formar complejos moleculares secundarios de 200 nm a 100 micras de diámetro.

Ejemplo 8: Liberación controlada de hierro de encapsulados del complejo molecular en la leche condensada azucarada (LCA) durante la vida útil a 20 °C

Se prepararon encapsulados de complejo molecular como se describe en el Ejemplo 7, con jugo de vegetales, se añadieron a la leche condensada azucarada (LCA) antes de la etapa de tratamiento térmico (95 °C/5s). La mezcla se sometió a continuación a un tratamiento térmico a 95 °C durante 5 segundos. Las muestras de LCA se almacenaron en frascos de vidrio en un cuarto oscuro a 20 °C. La liberación de hierro de las partículas en la matriz de LCA se evaluó a lo largo de la vida útil (0,5, 1, 3, 5 meses). El procedimiento fue el siguiente:

1. Diluir cada media muestra de LCA en agua pura con el fin de disminuir la viscosidad de la solución (5 g en un total de 10 g);
2. Verter cuidadosamente 1 ml de solución dentro de una bolsa de diálisis Spectra/Por® Dialysis Membrane (SpectrumLabs Inc, EE.UU.) con un corte de peso molecular de 2.000 Da;
3. Dializar la muestra durante 2 h en un medio externo que contiene 50 g de agua + 0,1156 mg de citrato de sodio + 14,93 g de azúcar (solución al 23 %) a pH 7,00;
4. Después de 2 h, retirar el contenido de la bolsa en un tubo Eppendorf;
5. Medir el contenido de hierro de la muestra en el tubo Eppendorf mediante Espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) utilizando un Spectro Ciros Vision (Spectro Analytical Instruments GmbH, Alemania).

La Figura 8 muestra que la cantidad de polisacárido en el complejo molecular puede influir en la liberación de hierro en la matriz del alimento. El aumento del contenido de goma arábiga (GA) provocó una fuga de hierro de aproximadamente 40 % a menos de 30 % a lo largo del tiempo (muestra con relación de peso 12APS:1GA comparado con la relación 1,3APS:1GA). El tipo de polisacárido presente en el encapsulado también tiene un impacto sobre la liberación de hierro. Usando 3 veces menos pectina que de goma arábiga (relación en peso), es posible obtener valores muy similares de liberación de hierro en LCA. Además, la fuga de hierro se produce principalmente durante la etapa de tratamiento térmico del proceso de LCA. A los 5 meses, casi no hay incremento en la liberación de hierro en comparación con el comienzo de la vida útil.

REIVINDICACIONES

1. Un encapsulado de calidad alimentaria que comprende agregados de proteína gelificada embebidos en una fase continua de polisacárido, en el que dichos agregados de proteína gelificada comprenden un micronutriente y en el que el encapsulado presenta un tamaño de 1 micra a 5 mm.

2. El encapsulado de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho micronutriente es un mineral de la dieta seleccionado del grupo que consiste en potasio, calcio, magnesio, hierro, oligoelementos y mezclas de los mismos, proporcionándose dichos micronutrientes como mineral de calidad alimentaria o sales orgánicas, o iones.

3. El encapsulado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que dichas proteínas se seleccionan de proteínas globulares, preferiblemente seleccionadas de proteínas del suero de la leche, proteínas de soja, proteínas de clara de huevo, proteínas de guisante, proteínas de lupino, proteínas de patata, proteínas de canola o mezclas de las mismas.

4. El encapsulado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que dichas proteínas son caseínas micelares, caseínas ácidas, caseinatos o mezclas de las mismas.

5. El encapsulado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el componente polisacárido se selecciona de pectinas altamente ramificadas, arabinogalactanos, complejos de arabinogalactano-proteína, arabinoxilanos de cereales, polisacáridos de alto peso molecular y/o polisacáridos gelificantes, seleccionados preferiblemente de alginato, carragenanos, pectinas, agar, goma guar, goma de algarroba o goma de xantano o mezclas de los mismos.

6. El encapsulado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que tiene un pH que varía de 3,5 a 7,0.

7. Un proceso para producir un encapsulado de calidad alimentaria, que comprende las etapas de:

a) mezclar un micronutriente con una solución de proteína,
b) gelificar dicha solución de proteína,
c) antes o después de la etapa b), añadir un componente polisacárido a la solución de proteína.

8. El proceso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la etapa b) comprende al menos una de las siguientes etapas:

- calentar la solución de proteína a una temperatura de 70 °C a 150 °C, durante un período de entre 10 segundos y 2 horas, a un pH de 5,8 a 8,0, hasta la gelificación de dicha proteína,
- ajustar el pH de la solución de proteína hasta el punto isoeléctrico de dicha proteína,
- tratar la solución de proteína a alta presión de 200 MPa a 800 MPa a una temperatura de 20 °C a 100 °C, durante un período de desde 10 segundos hasta 2 horas, a un pH de 5,8 a 8,0, hasta la gelificación de dicha proteína,

en el que la solución de proteína tiene una concentración de 1 a 10 % en peso de proteína.

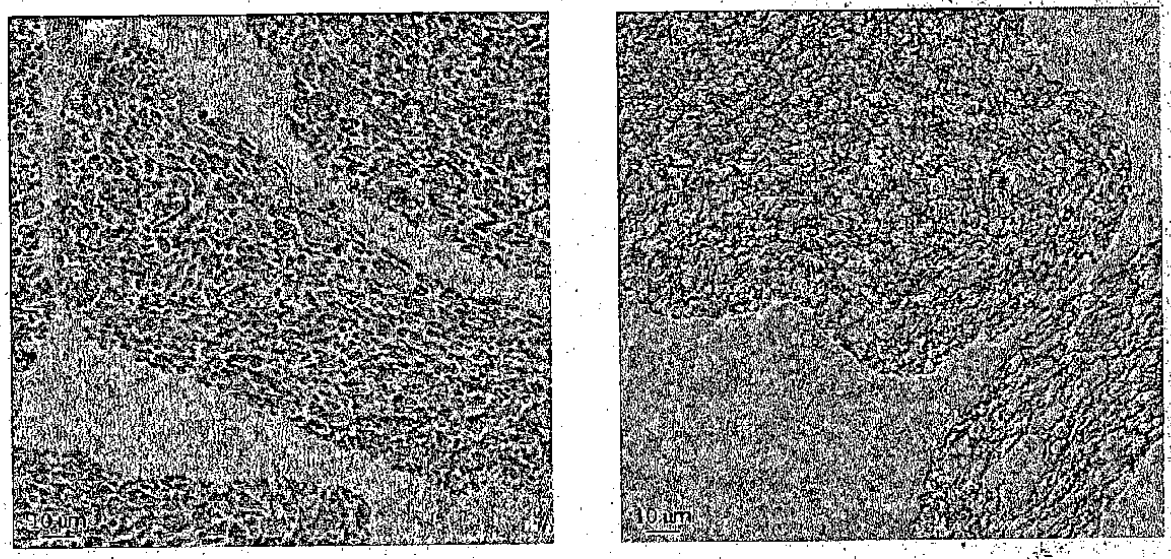
9. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 u 8, que comprende además una etapa de acidificación de la composición.

10. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, que comprende una etapa final de secado después de las etapas a), b) y c).

11. Un producto alimentario que comprende un encapsulado de calidad alimentaria de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o producido mediante un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10.

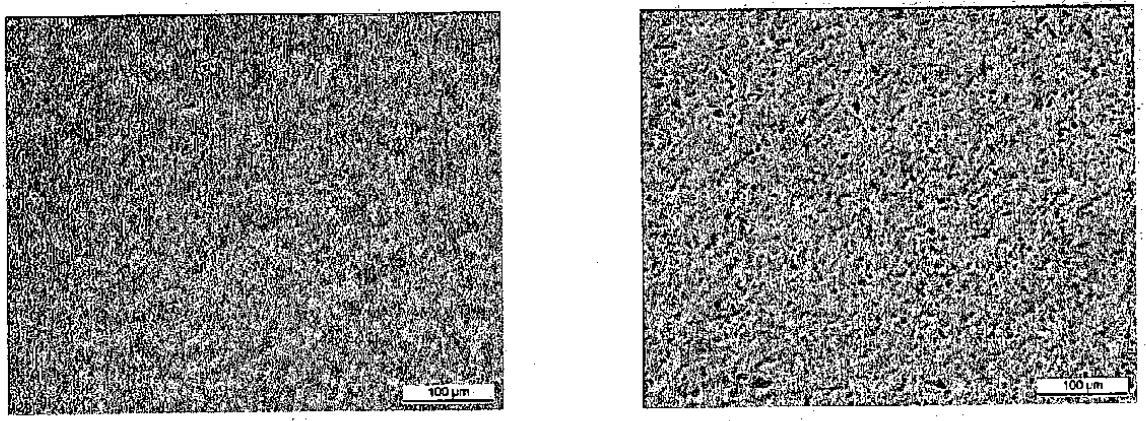
12. El encapsulado de calidad alimentaria de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que es en forma de un polvo.

FIGURA 1



A B

FIGURA 2



A B

FIGURA 3

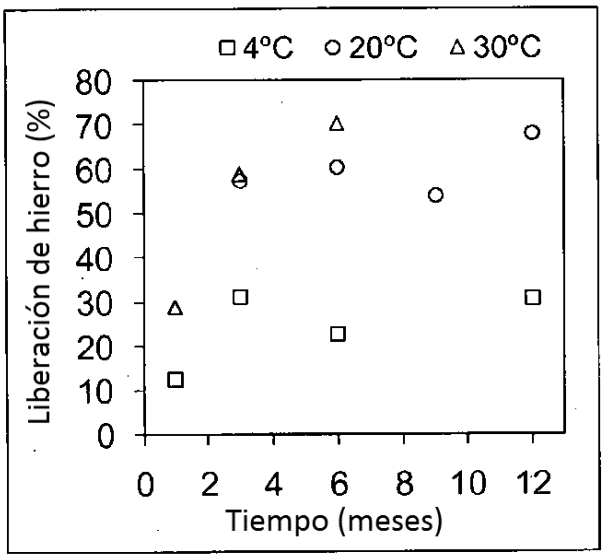


FIGURA 4

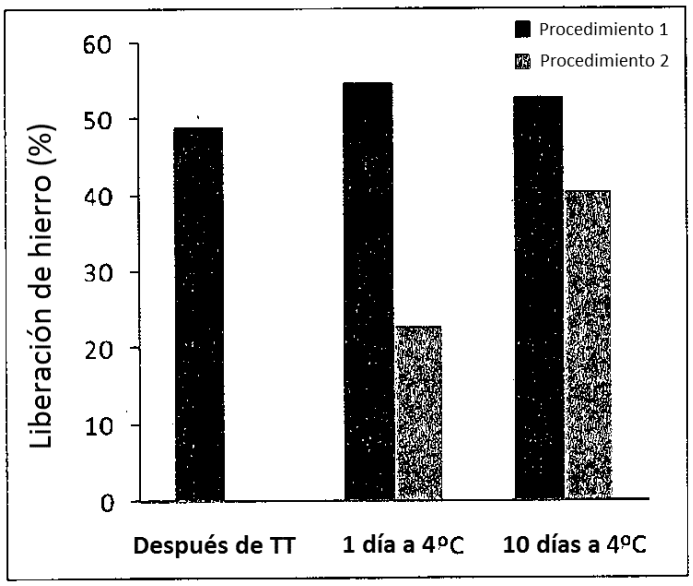


FIGURA 5

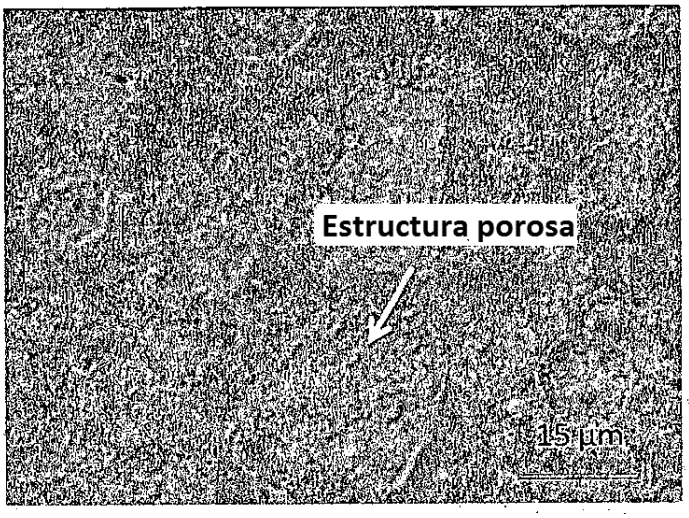


FIGURA 6

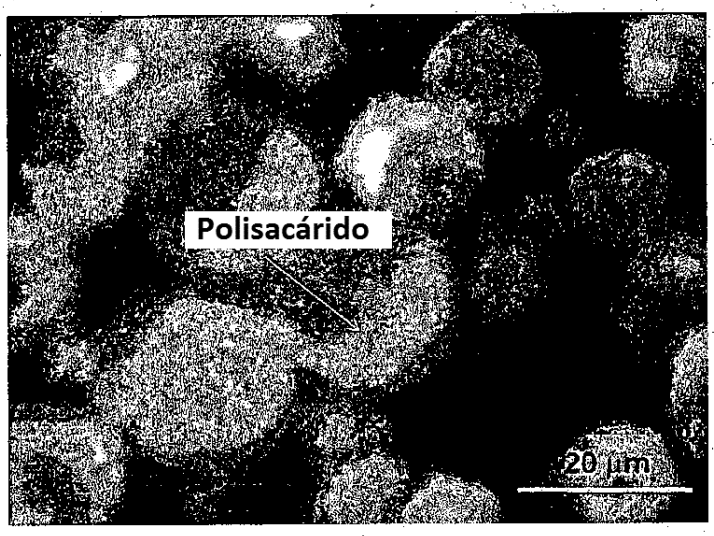


FIGURA 7

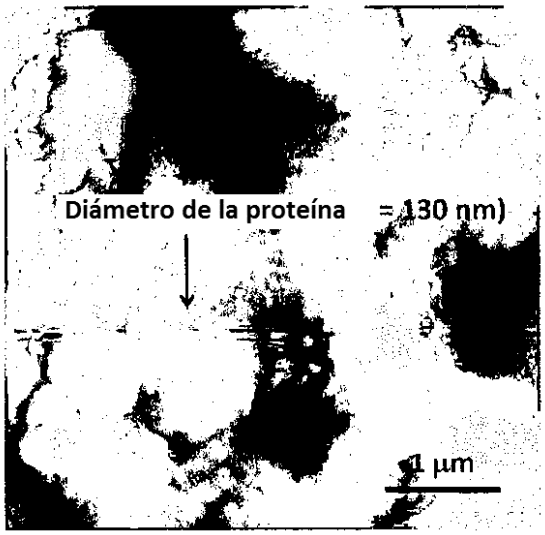
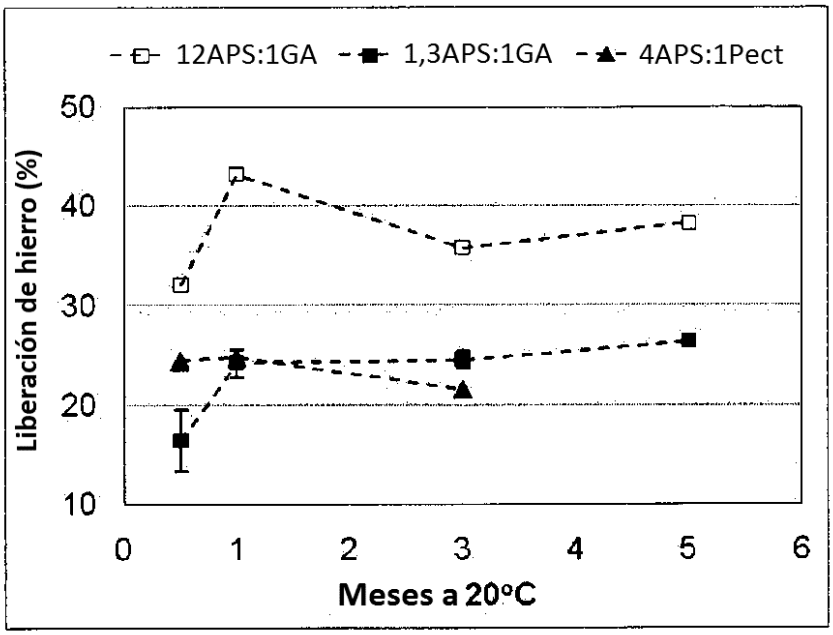



FIGURA 8