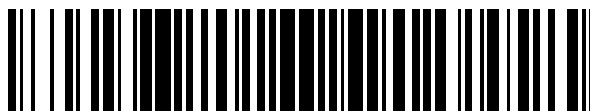


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 589 911**

51 Int. Cl.:

A23L 33/00	(2006.01)
A61K 31/19	(2006.01)
A61K 31/216	(2006.01)
A61K 36/74	(2006.01)
A23K 20/10	(2006.01)
A23K 50/40	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.09.2009 PCT/US2009/058702**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.05.2010 WO10051120**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.09.2009 E 09736731 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.06.2016 EP 2346357**

54 Título: **Composición de alimento para animales de compañía que comprende un componente antioxidante**

30 Prioridad:
30.10.2008 US 261468

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.11.2016

73 Titular/es:
**IAMS EUROPE B.V. (100.0%)
Vosmatenweg 4
7742 PB Coevorden, NL**

72 Inventor/es:
**WARD, SUSAN, RUTH y
TAYLOR, MATTHEW, JOEL**

74 Agente/Representante:
CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 589 911 T3

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

Composición de alimento para animales de compañía que comprende un componente antioxidante

Campo

5 La presente invención se refiere, en general, a una composición de alimento para animales de compañía que comprende un componente antioxidante. Más particularmente, pero no exclusivamente, la presente invención se refiere a una composición de alimento para animales de compañía que comprende antioxidantes polifenólicos recuperados de una corriente de descafeinización producida durante el procedimiento de descafeinización de granos de café.

Antecedentes

10 La oxidación lipídica es una fuente de deterioro en los alimentos. La oxidación lipídica puede causar efectos negativos sobre el olor, el sabor, la textura, el color y el valor nutritivo de los alimentos. Muchos productos alimenticios contienen tejido animal de alto contenido lipídico o grasa añadida con el fin de mejorar la textura del producto. Cuanto mayor es el contenido de grasa en el alimento, mayor es la preocupación de que los lípidos del alimento se oxiden. Los alimentos con bajo contenido de grasa, pero que contienen grasas altamente oxidables, 15 tales como los aceites de pescado, también son de gran preocupación con respecto a la oxidación. El enranciamiento oxidativo conduce al deterioro cualitativo y cuantitativo de los tejidos animales, grasas y aceites, lo que da lugar a olor y sabor desagradables, lo que da como resultado una vida útil más corta del producto alimenticio. Una manera de prevenir o disminuir la oxidación lipídica es añadir un antioxidante al producto alimenticio. Por ejemplo, el documento US 6.245.377 da a conocer un procedimiento de estabilización de un alimento para animales mediante la adición de un ácido orgánico, tal como ácido clorogénico. 20

Los antioxidantes (AOX) son sustancias que proporcionan un beneficio adicional de protección de las células frente a los daños causados por moléculas inestables, tales como los radicales libres y especies de oxígeno activo. Dicho daño puede producir cáncer y, por lo tanto, la protección de las células a través de antioxidantes se ha convertido en un interés principal en la lucha contra el cáncer, ya que actualmente los estudios indican que los antioxidantes pueden ralentizar, o posiblemente prevenir, el desarrollo del cáncer. 25

La oxidación o el estrés oxidativo puede ser una causa principal de muchas enfermedades crónicas, incluyendo el cáncer, así como del propio procedimiento de envejecimiento. Como resultado, existe mucha investigación y actual en relación con el papel que desempeñan los antioxidantes en la obstaculización de la oxidación, que retrasa o previene el estrés oxidativo. Tanto los antioxidantes endógenos como los exógenos pueden desempeñar un papel en el control de la oxidación y la prevención de la enfermedad. 30

En la práctica, los antioxidantes interaccionan con los radicales libres y los estabilizan, y pueden prevenir algunos de los daños que, de lo contrario, podrían producir los radicales libres. Los antioxidantes neutralizan los radicales libres como subproducto natural de los procedimientos celulares normales. Los antioxidantes a menudo se describen como "agentes de limpieza" de radicales libres, lo que significa que neutralizan los radicales libres y evitan que el radical libre capte electrones de otras moléculas. 35

Un tipo de antioxidante es el grupo de compuestos llamados polifenoles. Los polifenoles son componentes habituales de los alimentos de origen vegetal y contribuyen a los principales antioxidantes que se encuentran en las dietas. Las principales fuentes dietéticas de polifenoles son las frutas, las verduras y las bebidas. Por ejemplo, una taza típica de café puede contener 70-350 mg de ácidos clorogénicos (ACG), el compuesto polifenólico predominante en el café. 40

En los alimentos se han identificado varios miles de polifenoles diferentes. Los dos tipos principales de polifenoles son los flavonoides y los ácidos fenólicos. Algunos de los flavonoides más habituales son la quercetina (que se encuentra en la cebolla, el té, la manzana), la catequina (té, fruta), la hesperidina (cítricos), y la cianidina (frutos rojos). Uno de los ácidos fenólicos más frecuentes es el ácido cafeico, presente en muchas frutas y verduras. El ácido cafeico, más a menudo esterificado con ácido quínico como en el ácido clorogénico, es el compuesto fenólico más importante en el café. 45

Como antioxidantes, estos polifenoles pueden proteger a los componentes celulares contra el daño oxidativo y, por lo tanto, reducir el riesgo de diversas enfermedades degenerativas, tales como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, diabetes, etc. Estas enfermedades degenerativas están asociadas con el daño oxidativo a los componentes celulares, el ADN, las proteínas y los lípidos. Los antioxidantes presentes en los alimentos y bebidas pueden ayudar a limitar este daño actuando directamente sobre las especies reactivas de oxígeno o mediante la estimulación de sistemas de defensa celular endógenos. El grupo fenólico en los polifenoles puede donar hidrógeno a un radical, alterando de este modo las reacciones de oxidación en cadena en los componentes celulares. Los estudios epidemiológicos han demostrado claramente que las dietas ricas en alimentos vegetales protegen a los seres humanos contra las enfermedades degenerativas, tales como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares. Como se ha mencionado, los alimentos vegetales contienen diversos compuestos polifenólicos, que cada vez más se demuestra que son agentes protectores eficaces (véase: Manach y 50 55

col., 2005, Am. J. Clin. Nutri. 81: 230S-42S).

Cada vez más, la investigación científica está descubriendo que el café tiene un número sorprendentemente alto de efectos beneficiosos para la salud, entre los que se incluyen el ser fuente de antioxidantes. Los resultados de los estudios epidemiológicos sugieren que el consumo de café se asocia con una disminución del riesgo de diabetes tipo 2, enfermedad de Parkinson y enfermedad hepática. Por ejemplo, los hombres que bebían al menos 6 tazas de café al día tenían un riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 que era un 54 % menor que el de los hombres que no bebían café, y las mujeres que bebían al menos 6 tazas de café al día tenían un riesgo de sufrir diabetes tipo 2 que era un 29 % menor que las mujeres que no bebían café (véase: Salazar-Martinez y col., 2004, Ann Intern Med. 140: 1-8). En un estudio prospectivo de 47.000 hombres, aquellos que consumían regularmente por lo menos una taza de café al día tenían un riesgo un 40 % menor de desarrollar enfermedad de Parkinson en los próximos 10 años que los hombres que no bebían café (véase: Ascherio y col., 2001, Ann Neurol. 50: 56-63). Las pruebas también sugieren que el consumo de café reduce el riesgo de cáncer de colon, cirrosis y cáncer de hígado.

Como se ha mencionado anteriormente y como es bien conocido en las técnicas científicas y médicas, el café contiene un nivel elevado de ácidos clorogénicos, aproximadamente un 5 % sobre una base de peso seco. Los ácidos clorogénicos son antioxidantes polifenólicos, similares a los polifenoles sanos que están presentes en otros productos naturales tales como té, bayas y verduras. Por lo tanto, estos antioxidantes del café del ácido clorogénico, así como otros, proporcionan beneficios para la salud a través de la acción directa contra los radicales libres, como se ha mencionado anteriormente, así como acciones indirectas mediante la modificación del metabolismo, incluida la activación de las defensas celulares. Dado el creciente énfasis existente sobre la salud y el bienestar en la sociedad, estos beneficios son importantes y cada vez son más reconocidos. Los AOX del café también son eficaces como conservantes para alimentos y bebidas, ya que disminuyen el deterioro del sabor y la oxidación de las grasas, al igual que los AOX más tradicionales, tales como BHA (hidroxianisol butilado, un antioxidante sintético) o la vitamina E. Entre otros beneficios conocidos se incluyen el uso de ácidos clorogénicos y polifenoles como precursores del sabor.

Por otra parte, el cada vez mayor conocimiento acerca de los efectos estimulantes de la salud de los antioxidantes en los alimentos diarios, en combinación con la imagen negativa que los consumidores tienen de los antioxidantes sintéticos (tales como, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), y terc-butil hidroquinona (TBHQ)) y los posibles problemas de seguridad con los antioxidantes sintéticos, han llevado a una explosión del deseo de utilizar antioxidantes naturales en los alimentos. Sin embargo, muchos antioxidantes naturales son caros, ya que se extraen de productos básicos agrícolas de mayor valor, tales como frutas, especias, e incluso café. Una fuente potencialmente mucho menos costosa de antioxidantes naturales sería una corriente de un procedimiento (por ejemplo, residuos) de procedimientos actuales de alimentos y bebidas. Un ejemplo de una fuente de este tipo lo constituyen los granos de café.

Debido a la conservación de los alimentos y los beneficios para la salud que se asocian con los AOX descritos anteriormente y la creciente conciencia de los beneficios para la salud del café, que incluye AOX, se necesitan usos adicionales del café. Por otra parte, se desea una fuente de AOX rentable que sea eficaz y natural, especialmente una que se utilice a partir de un procedimiento actual.

Sumario

La presente invención se define en las reivindicaciones. La presente invención se refiere a los siguientes aspectos:

Una composición alimentaria para animales de compañía que comprende un componente antioxidante derivado de una corriente de descafeinización producida durante el procedimiento de descafeinización de granos de café. La composición de alimento para animales de compañía comprende de aproximadamente 0,002 % a aproximadamente 0,2 % del componente antioxidante, en peso de la composición alimentaria para animales de compañía. La composición alimentaria para animales de compañía es capaz de autoregular por aumento las enzimas antioxidantes dirigidas desde un elemento de transcripción común conocido como el elemento de respuesta antioxidante.

Una composición alimentaria para animales de compañía que comprende un componente antioxidante derivado de granos de café por un procedimiento que comprende las etapas de: proporcionar granos de café; descafeinar los granos de café para producir una corriente de descafeinización y granos de café descafeinados; y procesar la corriente de descafeinización para extraer el componente antioxidante. La composición de alimento para animales de compañía comprende de aproximadamente 0,002 % a aproximadamente 0,2 % del componente antioxidante, en peso de la composición alimentaria para animales de compañía.

Un ingrediente de alimentos para animales de compañía que comprende un componente antioxidante derivado de una corriente de descafeinización producida durante el procedimiento de descafeinización de granos de café. El ingrediente de alimentos para animales de compañía se selecciona del grupo que consiste en harinas de carne, grasas animales, digestivos animales, sabores para animales, aceites de pescado, premezclas de vitaminas y combinaciones de los mismos.

Un procedimiento de conservación de un ingrediente de composición alimentaria para animales de compañía,

comprendiendo el procedimiento las etapas de: proporcionar un ingrediente de alimentos para animales de compañía; proporcionar un componente antioxidante derivado de una corriente de descafeinización producida durante el procedimiento de descafeinización de granos de café; combinar el ingrediente de alimentos para animales de compañía y el componente antioxidante. La composición de alimento para animales de compañía comprende de aproximadamente 0,002 % a aproximadamente 0,2 % de dicho componente antioxidante, en peso de la composición alimentaria para animales de compañía.

Un procedimiento de fabricación de un ingrediente de composición alimentaria para animales de compañía, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de: proporcionar al menos un ingrediente proteico; proporcionar al menos un ingrediente graso; proporcionar al menos un componente antioxidante derivado de una corriente de descafeinización producido durante el procedimiento de descafeinización de granos de café; y combinar la proteína, la grasa y el antioxidante en la fabricación de la composición alimentaria para animales de compañía.

Una composición alimentaria para animales de compañía que comprende un componente antioxidante en el que el componente antioxidante comprende Di-CQA y Mono-CQA, y en el que los Di-CQA están presentes a un nivel mayor que los Mono-CQA.

Un sistema conservante que comprende un componente antioxidante que comprende Di-CQA y Mono-CQA, en el que los Di-CQA están presentes a un nivel mayor que los Mono-CQA.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 representa un diagrama de flujo de un procedimiento de descafeinización de granos de café.
 La figura 2 representa un diagrama de flujo de una corriente de descafeinización de granos de café después de la descafeinización.
 La figura 3 representa un diagrama de flujo de procedimientos de descafeinización de granos de café y posteriores a la descafeinización.
 La figura 4 representa un diagrama de flujo de un procedimiento posterior a la descafeinización de granos de café.

Descripción detallada

Para los fines de estimular una comprensión de los principios de la invención, a continuación se hará referencia a las realizaciones ilustradas en los dibujos y se utilizará un lenguaje específico para describir la misma. No obstante, se entenderá que con ello no se pretende limitación alguna del alcance de la invención. Se contempla que tales alteraciones y modificaciones adicionales en el dispositivo ilustrado y tales aplicaciones adicionales de los principios de la invención ilustrada en el documento como normalmente pensaría un experto en la técnica a la que pertenece la invención están dentro del alcance de la invención.

En el presente documento se puede hacer referencia a nombres comerciales para componentes utilizados en algunas realizaciones de la presente invención. No se pretende que las realizaciones de la invención en el presente documento estén limitadas por materiales con un determinado nombre comercial. En las descripciones del presente documento, pueden utilizarse materiales equivalentes (por ejemplo, los obtenidos de una fuente diferente con un nombre o número de referencia diferente) a los que se hace referencia por su nombre comercial en el presente documento y sustituirlos. Adicionalmente, en el presente documento se puede hacer referencia a determinadas marcas de diferentes partes de equipos utilizados en procedimientos o etapas de procesamiento. Las piezas equivalentes de equipos también pueden sustituirse y utilizarse en las descripciones en el presente documento.

Se debe entender que cada limitación numérica máxima dada a lo largo de esta memoria descriptiva incluye cada limitación numérica inferior, como si dichas limitaciones numéricas inferiores estuvieran expresamente escritas en el presente documento. Cada limitación numérica mínima dada a lo largo de esta memoria descriptiva incluirá cada limitación numérica superior, como si dichas limitaciones numéricas superiores estuvieran expresamente escritas en el presente documento. Cada intervalo numérico dado a lo largo de esta memoria descriptiva incluirá cada intervalo numérico más estrecho que cae dentro de dicho intervalo numérico más amplio, como si dichos intervalos numéricos más estrechos estuvieran todos ellos escritos expresamente en el presente documento.

Todos los porcentajes y proporciones se calculan en peso a menos que se indique lo contrario. Todos los porcentajes y proporciones se calculan en base a la composición total, a menos que se indique lo contrario.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "que comprende" significa varios componentes usados de forma conjunta en la preparación de las composiciones de la presente descripción. En consecuencia, las expresiones "que consiste esencialmente en" y "que consiste en" están incluidas en la expresión "que comprende".

Tal como se usa en el presente documento, los artículos que incluyen "el/la", "un/uno" y "un/una" cuando se utilizan en una reivindicación o en la memoria descriptiva se entiende que significa uno o más de lo que se reivindica o describe.

Tal como se utiliza en el presente documento, se entiende que los términos "incluyen", "incluye" y "que incluye" no

son limitantes.

Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "animal de compañía" se refiere a un animal seleccionado del grupo que consiste en perro, gato, conejo, hurón y gerbo.

5 Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "composición alimentaria para animales de compañía" se refiere a una composición que puede ser ingerida por un animal de compañía. Ejemplos no limitantes de composiciones alimentarias para animales de compañía incluyen comida para perros, comida para gatos, golosinas, galletas, cuero crudo, productos para masticar, cargas, jugos, salsas, bebidas, agua suplementaria y combinaciones de los mismos. La composición para animales de compañía puede estar mojada, húmeda y/o seca.

10 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "completa y nutricionalmente equilibrada", a menos que se especifique lo contrario, se refiere a una composición alimentaria para animales de compañía que tiene todos los nutrientes requeridos conocidos en cantidades y proporciones adecuadas en base a la recomendación de las autoridades reconocidas en el campo de la alimentación animal.

15 Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "un componente antioxidante," o "antioxidante" significa una sustancia que puede retrasar la aparición o disminuir la velocidad de oxidación de materiales oxidables. Componente antioxidante y antioxidante se usan en el presente documento de manera intercambiable. Generalmente, un antioxidante es una sustancia que participa en los procedimientos químicos, fisiológicos, bioquímicos o celulares que inactivan los radicales libres y/o activan las especies de oxígeno activo (singlete de oxígeno, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo, etc.), o impiden las reacciones químicas iniciadas por radicales libres. Los antioxidantes pueden ejercer sus efectos de dos maneras: 1) como antioxidantes de acción directa que inactivan agentes oxidantes tales como radicales libres, y 2) como agentes indirectos que pueden modular la función, la actividad o el nivel de otros antioxidantes o mecanismos antioxidantes. Los antioxidantes dietéticos normalmente son agentes reductores que pueden funcionar como conservante de alimentos (BHT, por ejemplo) o para proteger los tejidos y fluidos del cuerpo contra el estrés oxidativo. Los antioxidantes se pueden dividir en dos amplias funciones. Una, como conservante de alimentos, los antioxidantes son sustancias que reducen la oxidación de los lípidos en los alimentos, con lo que se prolonga la vida útil, la palatabilidad, la funcionalidad y la calidad nutricional de los alimentos. Dos, como un antioxidante biológico, los antioxidantes son compuestos que protegen los sistemas biológicos contra los efectos potencialmente nocivos de los procedimientos o reacciones que causan estrés oxidativo o daños. Ejemplos no limitantes de antioxidantes son compuestos polifenólicos, ácidos clorogénicos, flavonoides, tocoferoles, ácidos di- o tri-carboxílicos (tales como ácido cítrico), EDTA (diaminatetracetato de etileno), ácido ascórbico (vitamina C), antocianinas, catequinas, quercetina, resveratrol, ácido rosmarínico, carnosol, productos de la reacción de Maillard, enzimas tales como la superóxido dismutasa, ciertas proteínas, aminoácidos e hidrolizados de proteínas y, etc. Varios miles de polifenoles diferentes se han identificado en los alimentos. Los dos tipos principales de polifenoles son los flavonoides y los ácidos fenólicos. Algunos de los flavonoides más habituales son la quercetina (que se encuentra en la cebolla, el té, la manzana), la catequina (té, fruta), la hesperidina (cítricos), y la cianidina (frutos rojos). Uno de los ácidos fenólicos más frecuentes es el ácido cafeico, presente en muchas frutas y verduras. El ácido cafeico, más a menudo esterificado con ácido quínico como en el ácido clorogénico, es el compuesto fenólico más importante en el café. Los AOX de café, incluyendo los ácidos clorogénico y los ácidos cafeico y ferúlico, son derivados polifenólicos del ácido hidroxicinámico que se encuentran de forma natural en los granos de café. Es bien reconocido que los granos de café verdes (en bruto) tienen mayores cantidades de ACG que el café tostado, ya que el tostado reduce el nivel de los ACG intactos. Sin embargo, otros compuestos antioxidantes, tales como las melanoidinas, se generan durante el tostado del café.

45 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "descafeinización" significa la extracción de la cafeína de los granos de café con un disolvente. En países de la Unión Europea, el café descafeinado tiene una concentración máxima de cafeína de 0,1 % de la masa seca. En Estados Unidos, el café descafeinado significa menos de 3 % de la cantidad inicialmente presente en los granos. La descafeinización puede incluir la extracción de cualquier cantidad de cafeína de los granos de café, a partir de una cantidad muy pequeña, insignificante, hasta 100 % de la cafeína, y todos los intervalos entre 0 % y 100 %.

50 Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "forma utilizable" significa que, después de la descafeinización de los granos de café, los granos de café se mantienen en una forma que puede ser tostados, molidos y preparados en una bebida de café que todavía tiene las características deseables de una bebida de café consumible y deseada por el consumidor. Los procedimientos de descafeinización están diseñados para eliminar la cafeína, pero minimizando la eliminación de cualquier otro material que contribuye al sabor, color, nutrición, etc. típicos de la bebida de café. Por ejemplo, la mayor parte de la descafeinización comercial se lleva a cabo con granos de café verde antes de tostar a fin de minimizar las pérdidas de sabor y aroma. El procedimiento de preparación de café para café tostado y molido para elaboración convencional comienza cuando los granos de café verde se tuestan para desarrollar el sabor característico y esperado del café. Los granos se tuestan hasta un grado (claro a oscuro, por ejemplo) que cumpla con las expectativas del gusto del consumidor. Los granos de café tostado se muelen y después se elaboran para producir una bebida de café bebible líquida. Aunque existe una serie de procedimientos para elaborar café, un procedimiento típico la infusión por goteo, en la que se añade agua caliente, que puede estar a aproximadamente 82 °C, a una cesta que contiene el café molido (y típicamente un filtro). El agua caliente extrae sabores, colores, diversos sólidos, etc. del café molido, produciendo la bebida de café. Los

procedimientos de preparación conocidos se describen en las patentes de Estados Unidos n.º 6.808.731; 5.721.005; 6.808.731 y 6.783.791.

5 Como es bien sabido, los AOX del café, incluidos los ácidos clorogénicos, los ácidos cafeico y ferúlico, entre otros, están presentes en el café verde, el café tostado, el café elaborado, y las corrientes de procesamiento del café. Al menos uno de las corrientes del procesamiento del café incluye una corriente que es un producto del procedimiento de descafeinización de granos de café verde. Esta corriente, que generalmente es una corriente de disolvente cargado de cafeína que es un producto de los granos de café verde descafeinados, contiene AOX que se pueden recuperar. Típicamente, después de recuperar la cafeína de esta corriente de disolvente cargado de cafeína, la corriente restante se desecha.

10 Los ácidos clorogénicos son derivados polifenólicos del ácido hidroxicinámico que se pueden encontrar de forma natural en los granos de café. Los ACG son un éster de ácido cafeico o ferúlico y ácido quínico, y son los principales ácidos fenólicos presentes en el café. Es bien reconocido que los granos de café verdes (en bruto) tienen mayores cantidades de ACG que el café tostado, ya que el tostado reduce el nivel de los ACG intactos. Entre los ejemplos no limitantes de los principales ácidos clorogénicos se incluyen: (1) ácidos cafeoilquínicos (CQA), tales como 3-CQA, 4-CQA y 5-CQA; (2) ácidos feruloilquínicos (FQA), tales como 5-FQA; y (3) ácidos dicafeoilquínico (diCQA), tales como 3,4-diCQA, 3,5-diCQA y 4,5-diCQA.

15 El ácido clorogénico es un antioxidante tanto *in vivo* como *in vitro*, pero no es el único antioxidante en el café. Los ácidos clorogénicos también pueden utilizarse como antioxidantes alimentarios, para ayudar a conservar los sabores, vitaminas, lípidos, etc. contra la oxidación. Lo hacen de una manera similar a los antioxidantes químicos clásicos, tales como BHT y BHA.

20 También se ha demostrado que otros compuestos de café tienen propiedades antioxidantes. Por ejemplo, se ha demostrado que las melanoidinas, una clase de polímeros de color marrón de peso molecular más alto formados durante el tostado, tienen actividad secuestrante de radicales. En otros estudios se ha descubierto que los productos de la reacción de Maillard, también formados durante el tostado, también tienen actividad antioxidante.

25 Además de la caracterización de los antioxidantes en el café por su identidad química (ácidos clorogénicos, por ejemplo), los antioxidantes en el café (o en otros alimentos o bebidas) también determinarse mediante la medición de la actividad antioxidante. Mediante el uso de este enfoque, ahora es bien conocido que el café ofrece un alto nivel de actividad antioxidante. Por ejemplo, los antioxidantes en el café se pueden medir usando un ensayo ORAC (capacidad de absorción de radicales de oxígeno), una medida ampliamente utilizada de la actividad antioxidante en alimentos y bebidas, de la que se describe un procedimiento detallado más adelante. En una forma de la prueba ORAC, un sustrato (generalmente fluoresceína) se oxida mediante la adición de un iniciador de radicales libres. Por ejemplo, se puede evaluar la actividad antioxidante del café midiendo la disminución de la reacción de oxidación mediante la adición de café. En ORAC y en pruebas similares, tales como FRAP (parámetro antioxidante reductor férrico), TEAC (capacidad antioxidante equivalente de Trolox), TRAP (ensayo antioxidante de captura de radicales totales), DPPH (un ensayo de captura de radicales libres), polifenoles totales (capacidad reductora total medida con el ensayo Folin -Ciocalteu), y oxidación de las LDL (ensayo de oxidación de proteínas de baja densidad), se ha demostrado que el café tiene un alto grado de actividad antioxidante.

30 Por lo tanto, es deseable, de acuerdo con realizaciones de la presente invención, recuperar los antioxidantes del procedimiento de descafeinización del café. También es deseable que la cantidad de antioxidantes recuperados se pueda utilizar en otros productos, que se describen en lo sucesivo en el presente documento en solo algunas realizaciones. Adicionalmente, es deseable que el procedimiento de descafeinización del café está diseñado para eliminar la cafeína del grano de café, pero minimizando la eliminación de cualquier otro material que contribuya al sabor, color, nutrición, etc. típicos de cualquiera de los productos de café derivados del mismo.

35 En una realización de la presente invención, un componente antioxidante se produce o se recupera durante el procedimiento de descafeinización de los granos de café. La cafeína es un componente fisiológicamente activo en el café y los granos de café contienen entre 0,8 y 2,8 % de cafeína, dependiendo de su especie y origen. La descafeinización del grano de café se lleva a cabo, al menos en parte, para eliminar parte de la cafeína de los granos de café. Puede ser deseable producir granos de café con una menor cantidad de cafeína que después se tuestan y muelen debido a que el café tostado y molido con menores cantidades de cafeína es un producto deseable que el público consumidor compra.

40 Durante el procedimiento de tostado solo se producen pérdidas insignificantes. Con el fin de minimizar los efectos fisiológicos 'negativos' de la cafeína, y aun así mantener las características deseables de una bebida de café, se han desarrollado muchos procedimientos de descafeinización. Para minimizar las pérdidas de sabor y de aroma, se puede realizar la descafeinización comercial del café en los granos de café verde antes de tostar.

45 Sin embargo, antes de describir los detalles relacionados con los granos de café verde, se debe entender que el procedimiento para recuperar un antioxidante descrito en el presente documento no se limita a la recuperación a partir de los granos de café. En el presente documento se divulgan otras fuentes de antioxidantes. Entre las fuentes se incluyen productos con cafeína de forma natural o productos naturales que contienen cafeína. Tales productos

pueden incluir granos de café, hojas de té, granos de cacao, productos de chocolate, guaraná y mezclas y combinaciones de los mismos. Estos productos naturales que contienen cafeína pueden descafeinizarse mediante procedimientos de descafeinización que son bien conocidos en la técnica. Después de la descafeinización, el producto natural que contiene cafeína ya descafeinado puede permanecer en una forma utilizable para la fabricación de un producto de consumo. Los productos de consumo pueden incluir infusiones de café tostado y molido, té, té negro, té verde, chocolate y mezclas y combinaciones de los mismos. Por lo tanto, se debe entender que aunque la descripción y los ejemplos expuestos más adelante en el presente documento tratan sobre los granos de café, también se incluyen estos otros productos naturales que contienen cafeína.

Generalmente, la descafeinización de los granos de café implica varios etapas siguientes, que se han descrito al menos parcialmente en las siguientes patentes de Estados Unidos: 3.671.262; 3.671.263; 3.700.464; 4.256.774; 4.279.937; 4.474.821, todas ellas asignadas a The Procter & Gamble Company of Cincinnati, Ohio. La figura 1 ilustra solo un solo conjunto de etapas de un procedimiento de descafeinización típico, que se muestran como diagrama de flujo 100. Estas etapas incluyen comenzar con el suministro de granos de café, tales como granos de café verde en bruto. Los granos de café verde en bruto 101 pueden humedecerse con agua para que los granos se hinchen en la etapa 102. La humidificación se puede producir con vapor. Esta humidificación también hace que la cafeína esté más disponible para la extracción. Después de la humidificación, la cafeína puede extraerse de los granos de café con un disolvente, que se muestra en la etapa 103, de los cuales un ejemplo no limitante incluye acetato de etilo. Entre los ejemplos no limitantes de otros disolventes pueden incluir agua y dióxido de carbono supercrítico. Algunos disolventes pueden incluir disolventes que se clasifican como disolventes "naturales". Tal como se usa en el presente documento, una definición de "natural" puede ser la definición utilizada por los reguladores de alimentos para animales de compañía, tales como la Asociación Americana de Oficiales Controladores de Alimentos (AAFCO). La definición de la AAFCO de "natural" es: "Un alimento o ingrediente derivado exclusivamente de fuentes vegetales, animales o minas, ya sea en su estado sin procesar o después de haber sido objeto de procesamiento físico, procesamiento térmico, transformación, purificación, extracción, hidrólisis, enzimolisis o fermentación, pero que no se ha producido mediante un procedimiento químico sintético, ni ha sido objeto del mismo, y que no contiene ningún aditivo ni coadyuvante del procesamiento que sean químicamente sintéticos, excepto en las cantidades en las que podría producirse de forma inevitable en las buenas prácticas de fabricación." Como se ha mencionado, los granos de café pueden descafeinizarse primero con un disolvente, tal como acetato de etilo, y este disolvente cargado de cafeína se puede denominar "disolvente gastado." Sin pretender quedar ligado a teoría alguna, se cree que el uso de acetato de etilo como disolvente de descafeinización dará lugar a una corriente de descafeinización con un pH de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 debido a los productos de degradación del acetato de etilo, que son ácido acético y etanol. Típicamente, a continuación se puede recuperar el "disolvente" y reutilizarlo en el procedimiento de descafeinización, y la corriente principalmente acuosa resultante puede procesarse adicionalmente para recuperar la cafeína.

Los granos de café pueden tratarse con vapor en la etapa 104 para eliminar los residuos que hayan quedado del disolvente. A continuación, se puede secar los granos de café en la etapa 105. Después del secado, en este momento los granos de café generalmente están en una forma adecuada para tostado, molido, y elaborado en una bebida de café convencional, como se representa en la etapa 106.

La corriente de disolvente para descafeinización, que se muestra en la etapa 107 de la figura. 1, pueden contener cafeína y una pequeña cantidad de otros sólidos de café disueltos, ejemplos no limitantes de los cuales incluyen antioxidantes tales como polifenoles como ácido clorogénico, hidratos de carbono y precursores del sabor, que se eliminan de forma inadvertida durante el procedimiento de descafeinización. Existen diversos procedimientos y son bien conocidos en la técnica de manejar esta corriente de disolvente de descafeinización 107, un ejemplo no limitante del cual se ilustra en la figura. 2. El propio disolvente puede recuperarse/reciclarse y utilizarse para su posterior procesamiento por descafeinización, como se muestra en la figura 2. La corriente de disolvente y extractos 107 se puede dividir en una corriente de residuos 201 y una corriente de disolvente/sólidos 202. A menudo, el procedimiento de descafeinización también incluye el reciclado de cualquier sólido (distintos de la cafeína) de nuevo en el procedimiento de descafeinización, que puede estar representado por las etapas 203, 204, y 205 de la figura 2. Este reciclado puede incluir los antioxidantes tales como polifenoles como los ácidos clorogénicos, por ejemplo. El disolvente de 204 se puede separar de los sólidos de 205. A continuación, el disolvente 204 puede reciclarse de nuevo en el procedimiento de descafeinización para su uso para la extracción adicional de la cafeína de los granos de café. A continuación, los sólidos restantes en 205 se pueden reciclar de nuevo en el café ya descafeinado. Típicamente, la cafeína y otros sólidos y productos residuales del de café se retiran de la corriente del disolvente, ilustrado por 201. La cafeína de esta corriente puede recuperarse y venderse para uso en alimentación, farmacéutico u otros, como se muestra en 206. El material, líquido y/o sólido, que queda después de la extracción de la cafeína, el disolvente y la recuperación de cualquier otro sólido, que todavía contienen algo de cafeína y otros sólidos de café generalmente se desecha, mostrado por 207, que los expertos en la técnica generalmente denominan "corrientes de residuos", "corriente de residuos descafeinados" o "material residual". Por otra parte, como se ha mencionado anteriormente, cada una de las corrientes procedentes de la corriente 107 contiene al menos una cierta cantidad de sólidos y antioxidantes del café, tales como polifenoles como ácido clorogénico.

La corriente 107 puede procesarse usando varias etapas para recuperar la cafeína, el disolvente, y/u otros materiales a partir del disolvente de descafeinización. Entre los ejemplos no limitantes de procedimientos utilizados para la recuperación se incluyen evaporación, separación, extracción líquido-líquido, retirada de agua, cristalización,

centrifugación, etc., y otros procedimientos conocidos por los expertos en la técnica.

Se debe entender que el propósito principal de la descafeinización del café es retirar la cafeína de los granos de café, pero dejando los granos lo menos alterados posible. En otras palabras, la descafeinización está diseñada para retirar la mayor cantidad de cafeína como sea posible pero lo menos posible de los otros sólidos del café (véase: W. Heilmann. 2001. "Technology II: Decaffeination of Coffee." Capítulo 5 en Coffee: Recent Developments, editado por R.J. Clarke y O.G. Vitzthum, Blackwell Science, London). Estos otros sólidos del café incluyen hidratos de carbono, precursores de sabor, aminoácidos y antioxidantes tales como polifenoles como los ácidos clorogénicos. Por ejemplo, la descafeinización está diseñada para eliminar la menor cantidad de ácidos clorogénicos como sea posible porque los ácidos clorogénicos son cruciales para el sabor del café. Además, los intereses económicos desempeñan un papel cuando los sólidos se retiran del grano de café porque el volumen y el peso han disminuido. Como resultado de la reducción al mínimo la retirada de los sólidos del café distintos de la cafeína en sí, los granos descafeinados se pueden tostar y usar para hacer una taza de café (descafeinado) de buen sabor, aceptable para el consumidor. La reducción al mínimo de la pérdida de sólidos del café (distintos de la cafeína) en el café descafeinado normalmente se hace reduciendo al mínimo la extracción de tales sólidos durante la descafeinización en sí misma y/o mediante "la reintroducción" de tales sólidos en el procedimiento de descafeinización y los granos, que se ha demostrado en la figura 2.

Sin embargo, durante la descafeinización, como se ha reconocido y señalado anteriormente, accidentalmente también se han retirado de los granos del café otros sólidos del café, incluyendo una pequeña porción de los antioxidantes, tales como polifenoles, como los ácidos clorogénicos. El disolvente de la descafeinización y los sólidos del café disueltos, normalmente se recuperan y se reciclan de nuevo en el procedimiento de descafeinización, habitualmente la cafeína se recupera y usa en otras aplicaciones. En muchos procedimientos de descafeinización, los sólidos del café retirados accidentalmente durante la descafeinización también se reciclan de nuevo en el procedimiento de descafeinización para minimizar la pérdida de tales sólidos de los granos descafeinados. Por ejemplo, el procedimiento más selectivo para retirar solo la cafeína y no otros sólidos del café es mediante el uso de dióxido de carbono supercrítico. La descafeinización con dióxido de carbono proporciona un producto de alta calidad debido a la pérdida de sólidos del café (distintos de la cafeína) es bastante baja. Otros procedimientos de la descafeinización que minimizan la pérdida de sólidos del café que no son cafeína durante la descafeinización también son bien conocidos. Por lo tanto, la descafeinización, tal como se utiliza hoy, se entiende que maximiza la extracción de la cafeína, al tiempo que deja los sólidos del café en los granos de café descafeinados.

Los procedimientos actuales conocidos en la técnica que retiran los antioxidantes de los granos de café hacen que el grano de café resultante no se pueda utilizar para la elaboración. Sin embargo, después de los procedimientos de descafeinización descritos anteriormente, que dan lugar a una cantidad recuperable de antioxidantes, tales como polifenoles como el ácido clorogénico, y de acuerdo con las realizaciones de la presente invención, los granos de café verde descafeinados pueden estar en una forma utilizable y se puede utilizar después. Entre los ejemplos no limitantes de algunos usos se incluyen el tostado y la molienda para la elaboración convencional, la conversión en café instantáneo de la misma manera que los granos de café no descafeinados y la preparación de un extracto para su uso en bebidas listas para beber y otros usos del extracto. La composición del café descafeinado, además del contenido en cafeína, es muy similar al café con cafeína (normal). Por supuesto, existen ligeras diferencias en la composición y el sabor en función del procedimiento de descafeinización particular empleado. Una comparación de la composición aproximada del café con cafeína (normal) con el café descafeinado muestra que, aparte del contenido en cafeína, el café descafeinado es bastante similar al café normal en cuando a la composición. La cantidad de cafeína en el café verde es de aproximadamente 1-2 % (en peso seco), dependiendo de la especie (véase: K. Ramalakshmi y B. Raghavan, 1999, Caffeine in coffee: Its removal. Why and How? CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 39 (5): 441-56). En los países de la Unión Europea (UE), por definición, un café descafeinado significa una concentración máxima de cafeína del 0,1 % (en peso seco). En Estados Unidos (EE.UU.), por definición, un café descafeinado significa menos del 3 % de la cantidad de cafeína inicialmente presente en los granos está presente en el café descafeinado resultante. Por lo tanto, en la UE, un mínimo de 90 a 95 % de la cafeína se ha extraído del café durante la descafeinización (suponiendo 1-2 % de cafeína en el café verde). En EE.UU., un mínimo de 97 % de la cafeína se ha extraído durante la descafeinización.

Tabla A. Composición aproximada del café descafeinado y normal*

Materiales (% , composición aproximada)	Café sin tratar, normal (con cafeína)	Café descafeinado (extraído con cloruro de metileno)	Café descafeinado (extraído con dióxido de carbono supercrítico)
Proteína bruta	14,2	14,5	14,8
Taninos	10,3	10,1	11,0
Extracto de éter de petróleo	9,7	4,5	6,0
Cenizas totales	4,5	4,3	4,4

(continuación)

Materiales (% composición aproximada)	Café sin tratar, normal (con cafeína)	Café descafeinado (extraído con cloruro de metileno)	Café descafeinado (extraído con dióxido de carbono supercrítico)
Nitrógeno total	2,6	2,2	2,3
Cafeína	2,1	0,05	0,06
Fuente: Ramalakshmi y Raghavan, 1999, Caffeine in Coffee: Its Removal, Why and How? Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 39: 441-56.			

5 Además de las composiciones aproximadas similares, los cafés descafeinado y normal (con cafeína) son similares en cuanto a los hidratos de carbono, ácidos, lípidos, proteínas, aminoácidos, ácidos clorogénicos, colores y volátiles como los compuestos de sabor. Tabla B muestra que los granos de café descafeinados contienen esencialmente los mismos niveles y tipos de ácidos clorogénicos que los granos con cafeína. De nuevo, este resultado de niveles no es sorprendente, ya que el procedimiento de descafeinización está diseñado para minimizar la retirada de los sólidos del café que no son cafeína.

Tabla B. Ácidos clorogénicos en el café verde antes y después de la descafeinización

Muestras de café	----- g/kg de materia seca-----			
	mono-CQA	mono-FQA	di-CQA	ACG totales
Café A, antes de la descafeinización	60,4	9,8	13,6	83,8
Café A, después de la descafeinización	59,1	7,6	11,4	78,1 (-6,8 %)
Café B, antes de la descafeinización	68,7	11,2	15,5	95,4
Café B, después de la descafeinización	68,7	8,8	13,3	90,8 (-4,8 %)
	----- % de ACG totales -----			
Café A, antes de la descafeinización	72,1 %	11,7 %	16,2 %	
Café A, después de la descafeinización	75,7 %	9,7 %	14,6 %	
Café B, antes de la descafeinización	72,0 %	11,7 %	16,2 %	
Café B, después de la descafeinización	75,7 %	9,7 %	14,6 %	

Las muestras de café A y B son dos muestras separadas de una operación de descafeinización comercial.

10

15 En la tabla B se muestra que la diferencia entre los ácidos clorogénicos totales en un café A descafeinado y un café A con cafeína es de aproximadamente 5,7 g/kg, lo que equivale a una disminución de aproximadamente un 6,8 % en los ácidos clorogénicos totales después de la descafeinización. En la tabla B también se muestra la diferencia en los ácidos clorogénicos totales entre un café B descafeinado y un café b con cafeína es de aproximadamente 4,6 g/kg, lo que equivale a una disminución de aproximadamente un 4,8 % en los ácidos clorogénicos totales después de la descafeinización. En tres publicaciones científicas, se produjo una pérdida de 4,8 a 11 % de los ácidos clorogénicos totales durante la descafeinización cuando se mide el grano de café (véase: A. Farah y CM Donangelo, 2006, Phenolic compounds in coffee, Brazilian J. Plant Physiol., 18(1): 23-26; MN Clifford, capítulo 5 "Chlorogenic Acids" en RJ Clarke y R Macrae, editors, 1985, Coffee, Volumen 1, Chemistry, Elsevier Applied Science, NY; y Moreira y col., 2005, Contribution of chlorogenic acids to the iron-reducing activity of coffee beverages, J. Agric. Fd. Chem. 53: 1399-1402).

20

Volviendo a la figura 2, dos corrientes de descafeinización pueden contener antioxidantes recuperables: la corriente de disolvente 107 de descafeinización resultado directo de la descafeinización de los granos de café verde, y la corriente de residuos 207 que queda después de la recuperación del disolvente y la cafeína.. Como se describió anteriormente, la corriente de disolvente de descafeinización 107 puede contener materiales recuperables, incluyendo la cafeína y el disolvente. La corriente de residuos 207 también puede incluir otros materiales de recuperación, tales como sólidos del café, ejemplos no limitativos de los cuales incluyen antioxidantes tales como polifenoles como el ácido clorogénico. Por lo tanto, un diagrama de flujo del procedimiento 300 de la figura 3 se puede utilizar para ilustrar los aspectos combinados de las figuras 1 y 2. De nuevo, la cafeína de los granos de café 301 se extrae con el disolvente 302 en el procedimiento de descafeinización 303. El resultado puede incluir granos utilizables 304, que después se pueden procesar adicionalmente en 305 y enviar para hacer café tostado y molido para elaborar café, café instantáneo o un extracto de café, aceptables para el consumidor. La corriente de disolvente de descafeinización 306, similar al 107 del procedimiento 100, se puede retirar de los granos de café y se puede enviar a un procedimiento de separación del disolvente 307. La separación se puede realizar de tal manera que una corriente de disolvente 308, que puede ser una primera corriente de disolvente, y una corriente de cafeína 309, que puede ser una segunda corriente de la cafeína, resultado, similar a 201 y 202 del procedimiento 200. Esta corriente de cafeína 309 puede procesarse adicionalmente, como se describe más adelante, para eliminar la cafeína en la corriente 310, o una tercera corriente, y dejar una corriente de residuos 311, o cuarta corriente, que puede ser una fuente de antioxidantes, tales como polifenoles como ácido clorogénico.

En una muestra que se ha analizado desde la corriente de disolvente de descafeinización 30 y como se muestra en la Tabla C, se demostró que la muestra contenía predominantemente cafeína, junto con una proporción mucho menor de otros sólidos del café que incluían ácidos clorogénicos. La proporción entre cafeína y los sólidos sin cafeína en esta muestra particular de la corriente de disolvente de descafeinización era aproximadamente 3:1, lo que significa que la proporción entre la cafeína y los ácidos clorogénicos sería de al menos 3:1, ya que también se podrían incluir otros componentes sólidos del café distintos a los ácidos clorogénicos.

Tabla C. Composición de la corriente de disolvente de descafeinización

Composición	Corriente de disolvente de descafeinización
Sólidos totales (%)	0,771
Cafeína (%)	,576
Sólidos sin cafeína (%)*	0,195

Muestra de la corriente de disolvente de descafeinización recuperada del procedimiento de descafeinización comercial usando acetato de etilo como disolvente. *Diferencia entre sólidos totales y cafeína.

El nivel o la cantidad de ácidos clorogénicos en la corriente de disolvente de descafeinización se muestran en la Tabla D para las muestras A y B. Los resultados mostrados en la tabla D, expresados en gramos por litro, muestran que se midió menos de un (1) gramo por litro de ácidos clorogénicos por litro de disolvente. Estos resultados no conducirían a la conclusión de que un nivel alto de ácidos clorogénicos está disponible para la recuperación y el uso. Se tomaron dos muestras separadas, A y B, de la corriente de disolvente de descafeinización de un ejemplo.

Tabla D. Ácidos clorogénicos en el la corriente de disolvente de descafeinización

Ácidos clorogénico	Disolvente A gastado	Disolvente B gastado
	----- g/l -----	
mono-CQA	0,0924	0,145
Mono-FQA	0,078	0,207
Di-CQA	0,129	0,451
ACG totales	0,299	0,803
	----- % de ACG totales -----	
mono-CQA	30,9 %	18,1 %
Mono-FQA	26,1 %	25,8 %
Di-CQA	43,1 %	56,2 %

Muestras de los disolventes A y B recuperadas de un procedimiento de descafeinización comercial usando acetato de etilo como disolvente.

- 5 De la comparación de la Tabla B y la Tabla D se muestra que de los ácidos clorogénicos, la cantidad de Di-CQA (de los ACG totales) ha aumentado, o se ha enriquecido, como se muestra por un aumento de 16,2 % a 43,1 % y de 16,2 % a 56,2 %, en el café A/disolvente A y café B/disolvente B, respectivamente. Por lo tanto, un experto en la técnica puede concluir que los Di-CQA, en comparación con los ACG totales, se han enriquecido o concentrado desde el grano de café a la corriente de disolvente de descafeinización. En una realización, los Di-CQA están presentes en una cantidad mayor que los Mono-CQA. En una realización, la relación de Di-CQA y Mono-CQA es de aproximadamente 3:1 a aproximadamente 1,3:1.
- 10 En una muestra de la corriente de residuos que se ha analizado y evaluado, se determinó que la composición incluía una alta proporción de ácidos clorogénicos y cafeína, como se muestra en la tabla E. La corriente de residuos también contenía un nivel significativo de actividad antioxidante medida mediante la prueba ORAC. El nivel de compuestos polifenólicos totales en la corriente de residuos, aproximadamente el 20 %, coincidió estrechamente con el nivel de ácidos clorogénicos en la corriente de residuos, aproximadamente el 24 %, lo que era esperable debido a
- 15 que los ácidos clorogénicos representan esencialmente todos los polifenoles del café verde.

Tabla E. Composición de la corriente de residuos

Medición	Corriente de residuos*
Sólidos totales	11,0 %
Cafeína	47,1 % de sólidos
Ácidos clorogénicos	23,8 % de sólidos
Polifenoles totales	201 de polifenoles/gramo de peso seco
Actividad antioxidante en ORAC	4,4 mmoles equivalentes/gramo de peso seco de Trolox

*Muestra A de la corriente de residuos recuperada del procedimiento comercial de descafeinización en acetato de etilo después de la recuperación del disolvente y la cafeína de la corriente de disolvente de descafeinización.

Se analizaron dos muestras de la corriente de residuos para determinar los ácidos clorogénicos y se encontró que contenían 14-26 gramos de ácidos clorogénicos/litro de la corriente de residuos, como se muestra en la Tabla F.

20 Tabla F. Ácidos clorogénicos en la corriente de residuos

Composición	Corriente de residuos A	Corriente de residuos B
Sólidos	11,02 %	---
Mono-CQA (g/l)	11,6	3,94
Mono-FQA (g/l)	8,38	4,03
Di-CQA (g/l)	5,57	6,26
Total ACG (g/l)	25,6	14,2
Cafeína (g/l)	51,8	50,0
Mono-CQA (% de ACG totales)	45,3 %	27,7 %
Mono-FQA ((% de ACG totales)	32,7 %	28,4 %
Di-CQA (% de ACG totales)	21,8 %	44,1 %

Las muestras de corriente de residuos A y B se recuperaron del procedimiento comercial de descafeinización en acetato de etilo, después de la recuperación del disolvente y la cafeína de la corriente de disolvente gastado.

- 25 En relación con el nivel de cafeína, la cantidad total de ácidos clorogénicos en la corriente de residuos es menor que en una bebida de café (Tabla G). Por ejemplo, la corriente de residuos tenía aproximadamente 7 veces la concentración de cafeína del café normal, pero solo aproximadamente 3 veces la concentración de ACG totales

5 (Tabla G). La comparación de las cantidades relativas de los ácidos clorogénicos individuales en la corriente de residuos con las de una bebida de café (descafeinado o normal), la corriente de residuos está especialmente enriquecida en los FQA y los di-CQA, como se muestra en la tabla G. Esto puede explicar en parte de la potencia antioxidante de la corriente de residuos debido a que se ha notificado que los di-CQA tienen mayor actividad antioxidante que los CQA (K. Iwai y col., 2004, In vitro Antioxidative Effects and Tyrosinase Inhibitory Activities of Seven Hydroxycinnamoyl Derivatives in Green Coffee Beans, J. Agric. Food Chem. 52: 4893-8). La menor cantidad de CQA en la corriente de residuos puede reflejar una mayor formación de complejos del CQA con la cafeína y la posterior retirada cuando se recupera la cafeína.

Tabla G. Ácidos clorogénicos en la corriente de residuos relativa con respecto al café

Material ppm -----					Relación ACG/Cafeína
	CQA	FQA	di-CQA	ACG totales	Cafeína	
Corriente de residuos A	1048	760	506	2314	4703	0,49
Café normal	622	98	69	789	692	1,14
Café descafeinado	668	103	69	839	65	12,9
% de ACG totales						
Material	CQA	FQA	di-CQA	ACG totales		
Corriente de residuos A	45,3	22,9	21,8	100		
Café normal	78,8	12,4	8,7	100		
Café descafeinado	79,6	12,3	8,2	100		
Corriente de residuos A recuperada del procedimiento comercial de descafeinización en acetato de etilo. Café normal = muestra comercial de Folgers Classic. Café descafeinado = muestra comercial de Decaf Folgers Classic.						

10 Otra forma de evaluar los antioxidantes, o la actividad antioxidante, en un material tal como la corriente de residuos, además de la cuantificación de los niveles de los antioxidantes polifenólicos (la cantidad de CQA, por ejemplo), y además de medir la actividad antioxidante en un ensayo químico (por ejemplo, la prueba ORAC), es medir un efecto biológico/fisiológico del material antioxidante. En un ejemplo, el uso de la corriente de residuos auto-reguló los genes responsables de las enzimas antioxidantes en la célula. Las células son muy sensibles a un desequilibrio en la capacidad antioxidante y responden a este desequilibrio mediante auto-regulación de una familia de proteínas antioxidantes que se regulan de forma coordinada mediante la transcripción del elemento de respuesta antioxidante (ARE). Algunas de estas proteínas aumentan la capacidad antioxidante de la célula y otras detectan el daño y facilitan la reparación del daño oxidativo. Este mecanismo de aumentar el potencial antioxidativo de las células es, por lo tanto, claramente diferente de la capacidad de la corriente de residuos para reducir directamente los oxidantes químicos, tal como se mide mediante el ensayo ORAC químicamente. Se usó una línea celular indicadora del elemento de respuesta antioxidante (ARE) (células epiteliales de mama humano) de CXR Biosciences para analizar el aumento de la transcripción del ARE. Una auto-regulación de las enzimas antioxidantes, como se demuestra mediante el aumento de la transcripción del ARE, puede proporcionar una defensa inmune celular, aumentar la capacidad antioxidante de la célula, detectar daños y facilitar la reparación del daño oxidativo. Las células se trataron durante la noche con una solución diluida de la corriente de residuos y después se analizaron para detectar el aumento de la activación del ARE (véase el procedimiento específico más adelante). La corriente de residuos indujo fuertemente el ARE (enzimas antioxidantes endógenas), similar al café elaborado, como se muestra en la Tabla H. Cuando se añadió una pequeña cantidad de la corriente de residuos a los granos de café, se produjo un aumento de la actividad del ARE de la bebida de café elaborado a partir de dichos granos. Estos datos ilustran que la corriente de residuos es capaz de regular la transcripción de los genes responsables del aumento de la capacidad antioxidante de la célula, esencialmente activando el propio sistema de defensa antioxidante de las células.

Tabla H. Inducción de las defensas celulares endógenas (ARE) por la corriente de residuos

Material (% de sólidos)	Respuesta ARE (% del incremento con respecto al control)
Corriente de residuos (1,0 %)	587
Café elaborado (0,76 %)	686
Café elaborado + 20 ml de la corriente de residuos (0,92 %)	737

5 Las células en la prueba ARE (elemento de respuesta antioxidante) se trataron con una solución al 1 % de la corriente de residuos o el café, en un nivel de tratamiento del 5 % de las células. Muestra de la corriente de residuos A. "Café elaborado" era una muestra de café comercial tostado y molido con cafeína que se elaboró como se describe a continuación en la Tabla J.

10 Como se ha mencionado anteriormente, la corriente de residuos 311 puede procesarse adicionalmente para recuperar y aumentar la concentración y pureza de los antioxidantes. Este procesamiento adicional para recuperar antioxidantes se puede elegir de entre varios procedimientos conocidos en la técnica (o están incluidos). Entre los ejemplos no limitantes se incluyen refrigeración, evaporación, evaporación rotatoria, evaporación de película rotatoria, secado, secado al vacío, secado por pulverización, secado por congelación, extracción con un disolvente, extracción con éter, acidificación, destilación, centrifugación, concentración, filtración, ultrafiltración, separación cromatográfica, separación en columna, y mezclas y combinaciones. Un ejemplo de tal procesamiento se indica en la figura 4 y está representado por el diagrama de flujo del procedimiento 400. En primer lugar, la corriente de residuos 311 puede procesarse a 401 mediante refrigeración y se pueden formar sólidos y precipitar y recuperar mediante filtración en la etapa 402. A continuación, el filtrado 403 que se separa de los sólidos, que puede contener la mayor parte de los sólidos totales de la corriente de residuos, puede procesarse todavía más. En un ejemplo, los sólidos estaban ligeramente enriquecidos en ácidos clorogénicos, polifenoles y actividad antioxidante ORAC en comparación con la corriente de residuos, como se muestra en la Tabla I. En este único ejemplo, la relación entre el ácido clorogénico y la cafeína aumentó a 0,66 en los sólidos en comparación con 0,51 en la corriente de residuos.

Tabla I. Contenido de antioxidantes en la corriente de residuos procesada

Etapas del procedimiento	ACG totales	PP totales	ORAC	Cafeína	Relación ACG/Cafeína
1. Corriente de residuos	23,8	201	4,4	47,1	0,51
2. Sólidos	28,2	293	5,8	42,6	0,66
3. Filtrado	16,4	172	4,6	49,7	0,33
4. Desechado al vacío	4,9	44	3,6	32,8	0,15
5. Concentrado en evaporador rotatorio	17,1	178	4,6	49,6	0,34
6. Desechado por pulverización	--	--	4,6	--	--
7. Extracto etéreo	3,4	159	7,2	27,9	0,12
8. Extracto de éter acidificado	5,7	264	9,3	5,8	0,98

ACG = ácidos clorogénicos (% en peso seco). PP = polifenoles (mg/gramo). ORAC = capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (mmoles de Trolox equivalentes/gramo). Cafeína (% en peso seco).

25 Un procesamiento adicional más puede incluir la concentración del filtrado 403 mediante evaporación rotatoria 404 o la desecación en un horno de vacío 405 o mediante desecación por congelación 406. Las condiciones para estos procedimientos son las conocidas por los expertos en la técnica. En un ejemplo, la muestra se secó en el horno de vacío tenía una menor actividad de ACG, PPS y ORAC, posiblemente debido a la degradación de los antioxidantes durante esta etapa de tratamiento. La muestra de evaporación rotatoria tenía una composición esencialmente igual al filtrado, lo que indica ausencia de degradación durante esta etapa. La muestra desecada por congelación tenía la misma actividad antioxidante ORAC que el filtrado, lo que indica ausencia de degradación antioxidante durante la desecación por congelación. Se debe entender que se puede realizar una cualquiera de estas etapas de

procesamiento ya sea sola o en combinación con las demás. Como otro ejemplo, se puede producir concentración mediante el uso de evaporadores de placas. Por ejemplo, un evaporador de placas de cinco efectos (es decir, tal como la disponible en GEA Niro Inc.) se calienta directamente, de modo que produce la evaporación y la condensación del filtrado 403. Como otro ejemplo, la concentración se puede producir mediante el uso de un evaporador de vacío.

Alternativamente, el filtrado 403 se puede extraer con éter, ya sea antes o después de la acidificación del filtrado, representado por las corrientes 407 y 408, respectivamente. En un ejemplo, el extracto de éter del filtrado acidificado tenía la mayor proporción de ácido clorogénico y cafeína en todas las muestras, 0,98, y la actividad ORAC más alta, lo que indica una ruta prometedora para la purificación.

El material antioxidante recuperado del procedimiento de descafeinización se puede utilizar para muchos propósitos, ejemplos no limitantes de los cuales incluyen como conservante de alimentos o para aumentar la actividad antioxidante en un alimento o bebida. Los expertos en la técnica reconocerán que los antioxidantes derivados de la descafeinización de café son ampliamente aplicables a alimentos y bebidas.

En un ejemplo de café, la corriente de residuos, añadida al café antes o después de la elaboración, aumentó los antioxidantes y la actividad de AOX en el café, tal como se muestra en la tabla J. Se elaboró una muestra de café con cafeína normal comercial tostado y molido (40 g de café, 1.420 ml de agua, en un colador por goteo convencional) y se evaluó la actividad de los antioxidantes y AOX. Cuando se añadieron 20 ml de la corriente de residuos al café, ya sea al café molido antes de la elaboración o al café de bebida después de la elaboración, se produjo un aumento de la actividad antioxidante ORAC de aproximadamente 28 % (de 7,1 a 9,1 o 9,2, como en la Tabla J). También existieron aumentos en los ácidos clorogénicos totales y los polifenoles totales, como se muestra en la tabla J.

También se muestra en una nota al pie de la tabla J un intervalo de ORAC de aproximadamente 3 a aproximadamente 8 para el café normal, elaborado de la misma manera (40 g de café y 1.420 ml de agua en un colador por goteo convencional). Por lo tanto, el café normal puede tener un valor ORAC en el intervalo de aproximadamente 3-8. Por lo tanto, como se muestra en la tabla J, al añadir una cantidad de corriente de residuos al café normal, la ORAC puede aumentar en al menos aproximadamente un 28 %. Por supuesto, los expertos en la técnica deben entender que el nivel de AOX y, por lo tanto, la actividad AOX pueden verse afectados por la adición de más o menos de la corriente de residuos a un producto de café o a cualquier otro producto.

Tabla J. La corriente de residuos aumenta los antioxidantes en el café elaborado

Material	ORAC	ACG totales	PP totales	ARE
Café normal	7,1	732	1383	686
Café normal + 20 ml CR *	9,1	779	1604	737
Café normal + 20 ml CR **	9,2	885	1651	---

ORAC = capacidad de absorción de radicales de oxígeno (mmoles/226 g). ACG (ácidos clorogénicos) totales y PP (polifenoles) totales están en ppm. El "café normal" era una muestra de café con cafeína comercial, tostado y molido que se elaboró de la siguiente manera: 40 g de café y 1.420 ml de agua en un colador por goteo convencional. * Se añadieron 20 ml de la corriente de residuos (muestra A) al café molido antes de la elaboración. ** Se añadieron 20 ml de la corriente de residuos (muestra A) a la bebida de café elaborada después de la elaboración. ARE = % de aumento del elemento de respuesta de antioxidante con relación al control. Contenido de sólidos (g/100 ml) de café normal (0,76), café + CR * (0,92), y café + CR ** (0,94). Nota: Los inventores descubrieron un intervalo de ORAC de 3,2-7,9 mmoles Trolox/8 onzas (promedio 5,6) para 30 muestras diferentes de café con cafeína comercial tostado y molido que se elaboraron como se ha descrito anteriormente (40 g de café y 1.420 ml de agua en un colador por goteo convencional). Las 30 muestras de café representaron una gama de marcas, de calidad de tostado y de tipo de grano.

La composición alimentaria para animales de compañía puede seleccionarse para el consumo por un animal, tal como un animal de compañía, pero no está destinada al consumo por un ser humano. Ejemplos no limitantes de composiciones alimentarias para animales incluyen comida para perros, comida para gatos, golosinas, galletas, cuero crudo, productos para masticar, cargas, jugos, salsas, bebidas, agua suplementaria y combinaciones de los mismos. La composición alimentaria para animales de compañía en el presente documento puede ser completa y nutricionalmente equilibrada. Una composición de alimento para animales de compañía completa y equilibrada nutricionalmente puede componerse para administrarse como la única ración y es capaz de mantener la vida y/o estimular la reproducción sin consumir ninguna sustancia adicional, a excepción de agua.

El componente antioxidante puede ser un sistema conservante. El componente antioxidante se puede usar para conservar al menos un ingrediente en una composición alimentaria para animales de compañía (es decir, las

composiciones alimentarias para animales de compañía que tienen un contenido total de humedad de aproximadamente 16 % a aproximadamente 50 %, en peso del producto) y/o una composición alimentaria para animales de compañía húmeda (es decir, las que tienen un contenido total de humedad de más del 50 %, en peso del producto), y/o una composición alimentaria para animales de compañía seca (es decir, las que tienen un contenido total de humedad de aproximadamente 0 % a aproximadamente 16 %, en peso del producto). A menos que se describa lo contrario en el presente documento, la alimentaria para animales de compañía mojada, la composición alimentaria para animales de compañía húmeda y/o la composición alimentaria para animales de compañía seca no están limitadas por su composición o procedimiento de preparación.

De acuerdo con la invención, el componente antioxidante deriva de una corriente de descafeinización producida durante el procedimiento de descafeinización de granos de café. En una realización, el antioxidante deriva de los granos de café gastados. En una realización, el componente antioxidante deriva de residuos líquidos de café que quedan después de que se han recogido los compuestos de sabor y aroma, los residuos de agua de la formación de pulpa con agua y combinaciones de los mismos. En una realización, el componente antioxidante es un componente antioxidante natural añadido a una composición alimentaria para animales de compañía. En una realización, el componente antioxidante se combina con antioxidantes adicionales y se añade a una composición alimentaria para animales de compañía. En una realización, el componente antioxidante se añade a una composición alimentaria para animales de compañía completa y nutricionalmente equilibrada.

El componente antioxidante se utiliza para conservar al menos un ingrediente en una composición alimentaria para animales de compañía. Generalmente, el componente antioxidante se utiliza para conservar al menos un ingrediente en una composición alimentaria para animales de compañía que puede clasificarse como al menos uno de los siguientes: harinas de carne, grasas animales, digestivos animales, sabores animales, aceites de pescado, premezclas de vitaminas y combinaciones de los mismos. Entre los ejemplos no limitantes de ingredientes de la composición alimentaria para animales de compañía que pueden conservarse mediante un componente antioxidante recuperado de una corriente descafeinada producida durante el procedimiento de descafeinización de granos de café se incluyen pollo, harinas de pollo, harinas de subproductos de pollo, digestivos de pollo, cordero, harinas de cordero, pavo, harinas de pavo, carne de vacuno, subproductos de carne de vacuno, harinas de carne de vacuno, cerdo, subproductos de cerdo, harinas de cerdo, subproductos de origen animal, carne de venado, subproductos de carne de venado, digestivos de pescado, vísceras, entrañas, grasa de pollo, grasa de pavo, grasa de vaca, manteca de ave de corral, sebo, aceite de pescado, aceite de menhaden, aceite de anchoa, carne fresca, premezclas de vitaminas, sabores a base de grasa, y combinaciones de los mismos.

Una composición alimentaria para animales de compañía que comprende un componente antioxidante tal como se describe en el presente documento puede comprender de aproximadamente 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,1, 0,15, 0,18, 0,2 o 0,25 gramos de componente antioxidante por kilogramo de composición alimentaria para animales de compañía a aproximadamente 3,0,35, 0,37, 0,4, 0,5, 0,7, 0,9, 1,0, 1,2, 1,4, 1,6, 1,8, 2,0 o 2,5 gramos de componente antioxidante por kilogramo de composición de alimentaria para animales de compañía. Las harinas de carne de una composición alimentaria para animales de compañía pueden comprender de aproximadamente 30, 60, 150, o 300 ppm a aproximadamente 500, 600, 1500, o 3000 ppm de componente antioxidante por kilogramo de harina de carne. Una realización, una composición alimentaria para animales de compañía puede comprender aproximadamente 300, 750, o 1500 ppm de componente antioxidante por kilogramo de harina de carne. Las grasas animales de una composición alimentaria para animales de compañía pueden comprender de aproximadamente 90, 180, 450 o 900 ppm a aproximadamente 1500, 1800, 4500, o 9000 ppm de componente antioxidante por kilogramo de grasa animal. Una realización, una composición alimentaria para animales de compañía puede comprender aproximadamente 900, 1800 o 4500 ppm de componente antioxidante por kilogramo de grasa animal. Los digestivos animales y los sabores animales de una composición alimentaria para animales de compañía pueden comprender de aproximadamente 5, 10, 25 o 50 ppm a aproximadamente 75, 100, 500, o 1000 ppm de componente antioxidante por kilogramo de digestivos animales y de sabores animales. Una realización, una composición alimentaria para animales de compañía puede comprender aproximadamente 50, 250, o 500 ppm de componente antioxidante por kilogramo de digestivo animal y sabor animal. Los aceites de pescado de una composición de alimentaria para animales de compañía pueden comprender de aproximadamente 120, 240, 600 o 1200 ppm a aproximadamente 2000, 2400, 6000, o 12000 ppm de componente antioxidante por kilogramo de aceites de pescado. Una realización, una composición alimentaria para animales de compañía puede comprender aproximadamente 1200, 3000 o 6000 ppm de componente antioxidante por kilogramo de aceites de pescado. Las premezclas de vitaminas de una composición alimentaria para animales de compañía pueden comprender de aproximadamente 2.400, 4.800, 12.000, o 24.000 ppm a aproximadamente 48.000, 120.000, o 240.000 ppm de componente antioxidante por kilogramo de premezcla de vitaminas. Una realización, una composición alimentaria para animales de compañía puede comprender aproximadamente 24.000, 60.000 o 120.000 ppm de componente antioxidante por kilogramo de premezcla de vitaminas.

<E> En una realización, una composición alimentaria para animales de compañía puede comprender de aproximadamente 0,002, 0,004, 0,008 o 0,01 % a aproximadamente 0,04, 0,08, 0,1, 0,12, 0,14, 0,16, 0,18 o 0,2 % de componente antioxidante en peso de la composición alimentaria para animales de compañía. En una realización en la que la composición alimentaria para animales de compañía es una galleta, la composición alimentaria para animales de compañía puede comprender de aproximadamente 0,002, 0,004, o 0,01 a aproximadamente 0,04, 0,1, o 0,2 % del componente antioxidante en peso de la composición alimentaria para animales de compañía.

Además de materiales proteicos y harináceos, la composición alimentaria para animales de compañía generalmente puede incluir vitaminas, minerales y otros aditivos tales como saborizantes, conservantes, emulsionantes y humectantes. El equilibrio nutricional, incluyendo las proporciones relativas de vitaminas, minerales, proteínas, grasas y carbohidratos, se determina de acuerdo con las normas dietéticas conocidas en el campo veterinario y nutricional.

Los ejemplos no limitantes de composiciones alimentarias para animales de compañía secas comprenden, sobre una base de materia seca, de aproximadamente 1,5 o 10 % a aproximadamente 25, 35 o 50 %, de la proteína bruta, de aproximadamente 0,5, 5 o 10 % a aproximadamente 20 o 25 % de la grasa bruta, de aproximadamente 1, 2 o 3 % a aproximadamente 6, 8 o 10 % de fibra complementaria, de aproximadamente 1, 2 o 5 % a aproximadamente 15, 20 o 30 % de humedad, todo en peso de la composición alimentaria para animales de compañía. En una realización, la composición alimentaria para animales de compañía seca comprende, sobre una base de materia seca, un nivel mínimo de proteína de aproximadamente 9 % a aproximadamente 22 %, un nivel mínimo de grasa de aproximadamente 8 % a aproximadamente 13 %, un nivel mínimo de humedad de aproximadamente 3 % a aproximadamente 8 %, un nivel mínimo de fibra complementaria de aproximadamente 3 % a aproximadamente 7 %, todos ellos en peso de la composición alimentaria para animales de compañía.

Los ejemplos no limitantes de composiciones alimentarias para animales de compañía mojadas comprenden, sobre una base de materia seca, de aproximadamente 0,5, 5 o 10 % a aproximadamente 25, 35 o 50 %, de la proteína bruta, de aproximadamente 0,5, 5 o 10 % a aproximadamente 20 o 25 % de la grasa bruta, de aproximadamente 0,01, 0,05, 1 o 2 % a aproximadamente 5, 10 o 15 % de fibra complementaria, de aproximadamente 50 o 60 % a aproximadamente 80, 85 o 90 % de humedad, todo en peso de la composición alimentaria para animales de compañía. En una realización, la composición alimentaria para animales de compañía mojada comprende, sobre una base de materia seca, un nivel mínimo de proteína de aproximadamente 9,5 % a aproximadamente 22 %, un nivel mínimo de grasa de aproximadamente 8 % a aproximadamente 13 %, un nivel mínimo de humedad de aproximadamente 65 % a aproximadamente 80 %, un nivel mínimo de fibra complementaria de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 3 %, todos ellos en peso de la composición alimentaria para animales de compañía.

En una realización, la composición alimentaria para animales de compañía comprende, sobre una base de materia seca, de aproximadamente 5, 10 o 20 % a aproximadamente 30, 40 o 50 % de ingredientes de origen animal, en peso de la composición alimentaria para animales de compañía. Entre los ejemplos no limitantes de ingredientes de origen animal se incluyen proteínas o grasas de pollo, carne de vacuno, cerdo, cordero, pavo (u otro animal), huevos, harina de pescado, y combinaciones de los mismos.

Cuando la composición para animales de compañía está en forma de un jugo, la composición para animales de compañía comprende al menos 10 % de un caldo, o reserva, ejemplos no limitantes de los cuales incluyen caldo vegetal de carne, pollo o jamón. Composiciones de jugo típicas pueden comprender sobre una base de materia seca, de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 5 % de proteína cruda y de aproximadamente 2 % a aproximadamente 5 % de grasa cruda.

Cuando la composición para animales de compañía está en forma de galletas, productos masticables y otras golosinas, la composición alimentaria para animales de compañía comprende, sobre la base de materia seca, de aproximadamente 20 o 22 % a aproximadamente 40 o 60 % de proteína bruta, en peso de la composición alimentaria. En una realización, la composición alimentaria para animales de compañía comprende, sobre una base de materia seca, de aproximadamente 5 o 10 % a aproximadamente 30 o 35 % de grasas, en peso de la composición alimentaria para animales de compañía.

La composición alimentaria para animales de compañía puede comprender, además, una amplia gama de otros ingredientes opcionales. Ejemplos no limitantes de componentes adicionales incluyen proteína animal, proteína vegetal, materia harinosa, vegetales, frutas, materiales a base de huevo, proteínas desnaturalizadas, adhesivos poliméricos de calidad alimentaria, geles, polioles, almidones, gomas, aromatizantes, condimentos, sales, colorantes, compuestos de liberación en el tiempo, minerales, vitaminas, antioxidantes, prebióticos, probióticos, modificadores de aroma, proteína de trigo texturizada, proteína de soja texturizada, proteína de altramuz texturizada, proteína vegetal texturizada, masa de pan, carne picada, harina, pasta triturada, agua y combinaciones de los mismos.

Ejemplos no limitantes de ingredientes opcionales pueden incluir al menos un vegetal. Ejemplos no limitantes de vegetales incluyen zanahorias, guisantes, patatas, repollo, apio, judías, maíz, tomates, brécol, coliflor, puerros y combinaciones de los mismos.

También útil en el presente documento, como un ingrediente opcional, es una carga. La carga puede ser un sólido, un líquido o aire empaquetado. La carga puede ser reversible (por ejemplo, termorreversible, incluyendo gelatina) y/o irreversible (por ejemplo termoirreversible, incluida la clara de huevo). Ejemplos no limitantes de la carga incluyen jugo, gel, gel, gelatina, aspic, salsa, agua, aire (por ejemplo, incluyendo nitrógeno, dióxido de carbono, y aire atmosférico), caldo, y combinaciones de los mismos.

Ejemplos no limitantes de colorantes incluyen, pero no se limitan a, colorantes sintéticos o naturales, y cualquier combinación de los mismos. Cuando están presentes, los colorantes son de aproximadamente 0,0001 %, 0,001 % o 0,005 % a aproximadamente 0,1 %, 1 % o 5 %, sobre una base de materia seca, de dicha composición alimentaria para animales de compañía.

- 5 Adicionalmente, los microorganismos probióticos, tales como especies de *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*, por ejemplo, se pueden añadir a la composición alimentaria para animales de compañía.

También útil en el presente documento, como un ingrediente opcional, es al menos una fruta. Ejemplos no limitantes incluyen tomates, manzanas, aguacates, peras, melocotones, cerezas, albaricoques, ciruelas, uvas, naranjas, pomelos, limones, limas, arándanos, frambuesas, arándanos azules, sandía, melón cantalupo, melón de almizcle, melón dulce, fresas, plátanos, y combinaciones de los mismos.

La composición alimentaria para animales de compañía puede contener otros agentes activos tales como ácidos grasos de cadena larga y cinc. Ácidos grasos de cadena larga adecuados incluyen ácido alfa-linoleico, ácido gamma linolénico, ácido linoleico, ácido eicosapentanoico y ácido docosahexanoico. Los aceites de pescado son una fuente adecuada de ácidos eicosapentanoico (EPA) y ácido docosahexanoico (DHA). El nivel de DHA es al menos aproximadamente 0,05 %, 0,1 % o 0,15 % de la composición alimentaria para animales de compañía, todo en una base de materia seca. El nivel de EPA es al menos aproximadamente 0,05 %, 0,1 % o 0,15 % de la composición alimentaria para animales de compañía, todo en una base de materia seca.

La composición alimentaria para animales de compañía puede comprender además una fuente de hidratos de carbono. Granos o cereales tales como el arroz, maíz, milo, sorgo, cebada, trigo, y similares son fuentes ilustrativas.

- 20 La composición alimentaria para animales de compañía puede contener también otros materiales tales como suero desecado y otros subproductos lácteos.

La composición alimentaria para animales de compañía puede fabricarse de acuerdo con cualquier técnica conocida o de otra manera eficaz adecuada para la elaboración y formulación de la alimentaria para animales de compañía deseada. En una realización, la composición alimentaria para animales de compañía puede fabricarse mediante el suministro de al menos un ingrediente proteico, el suministro de al menos un ingrediente de grasa, el suministro de al menos un componente antioxidante y la combinación de la proteína, la grasa y el componente antioxidante.

En una realización, el componente antioxidante puede combinarse con un emulsionante. La combinación del emulsionante y el componente antioxidante puede mejorar la estabilidad del ingrediente de composición alimentaria para animales de compañía. Entre los ejemplos no limitantes de emulsionantes se incluyen los siguientes: sales de colina, ácido tánico, lecitina, citratos de sodio, fosfatos de sodio, fosfatos de potasio, fosfatos de calcio, alginato de propilenglicol, sorbitol, polietileno, polisorbato 80, polisorbato 60, sales de amonio de ácido fosfatídico, isobutirato de acetato de sacarosa, ésteres de glicerol de colofonia de madera, pirofosfato de potasio, polimetafosfato de potasio, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metiletilcelulosa, sales de aluminio, calcio, sodio, magnesio, potasio y amonio de ácidos grasos, monoglicéridos y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres acéticos y de ácidos grasos de glicerol, ésteres de glicerol de ácido cítrico y ácidos grasos, ésteres de glicerol diacetiltartáricos y de ácidos grasos, ésteres de glicerol de ácido tartárico mixto y de ácidos grasos, ésteres de sacarosa de ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos de poliglicerol, ésteres de poliglicerol de ácido ricinoleico interesterificado, monoésteres y diésteres de propilenglicol, sulfosuccinato de dioctilsodio, lactilato de sodio, lactilato de calcio, monoestearato de sorbitán, triestearato de sorbitán, fosfato de sodio y aluminio, fosfato de hueso, polidimetilsiloxano, maltitol y jarabe de maltitol, y combinaciones de los mismos. El emulsionante puede combinarse con el componente antioxidante y después se añadió al ingrediente de la composición alimentaria para animales de compañía para su conservación, que después se incorpora en la composición alimentaria para animales de compañía. Se puede usar un aparato de ultrasonidos para formar una emulsión de un componente antioxidante y un emulsionante de modo que la emulsión pueda incorporarse en el ingrediente de la composición alimentaria para animales de compañía para su conservación, que después se incorpora luego en la composición alimentaria para animales de compañía.

En una realización, el componente antioxidante puede combinarse con un agente quelante. La combinación del agente quelante y el componente antioxidante puede mejorar la estabilidad del ingrediente de composición alimentaria para animales de compañía. Entre los ejemplos no limitantes de un agente quelante se incluyen los siguientes: ácido cítrico, ácido ascórbico, vitamina-B12, clorofila, ácido tánico, ácido málico, sorbitol, ácido glucónico, gluconato, y combinaciones de los mismos. El agente quelante puede combinarse con el componente antioxidante y después se añadió al ingrediente de la composición alimentaria para animales de compañía para su conservación, que después se incorpora en la composición alimentaria para animales de compañía.

El componente antioxidante se añade a un ingrediente de la composición alimentaria para animales de compañía para aumentar la estabilidad oxidativa de la composición alimentaria para animales de compañía en la composición alimentaria para animales de compañía. Por ejemplo, la corriente de residuos se añadió a la grasa de ave, un ingrediente habitual en las composiciones alimentarias para animales de compañía. Esta adición de la corriente de residuos aumentó la estabilidad oxidativa de la grasa, como se muestra en la tabla K. La corriente de residuos se

añadió a la grasa de ave en 2, 5 %, 5 %, 10 %, y 12,5 % de la grasa. La estabilidad oxidativa de la grasa se analizó en un instrumento Omnion OSI (índice de estabilidad oxidativa) a 108 °C. El instrumento OSI acelera el desarrollo del enranciamiento oxidativo de manera que la vida útil de un aceite, o un material que contiene aceite, se puede determinar y comparar con otros materiales. Incluso al nivel más bajo (2,5 %), la corriente de residuos aumentó la estabilidad oxidativa de la grasa de aves casi cinco veces en la prueba de OSI. La corriente de residuos conservó la grasa de aves frente a la oxidación, similar a la marca de antioxidante Naturox®, que es una preparación de antioxidante comercial estándar que se utiliza en alimentos para animales de compañía. La corriente de residuos fue más eficaz en la conservación de la grasa de ave que el estándar de ácido clorogénico purificado, cuando se ajusta para la concentración de ácido clorogénico real en la corriente de residuos, como se muestra en la tabla L. Otros antioxidantes y polifenoles en la corriente de residuos también contribuyen a la eficacia de la conservación.

Tabla K. Conservación de la grasa de ave mediante la corriente de residuos

<u>AOX añadido a la grasa de ave*</u>	<u>OSI (horas)*</u>
Ninguno	3,4
Naturox®* (0,3 %)	18,3
ACG estándar* (0,09 %)	12,3
Corriente de residuos (2,5 %)	15,5
Corriente de residuos (5 %)	21,3
Corriente de residuos (10 %)	22,4
Corriente de residuos (12,5 %)	27,3

* Grasa de ave = grasa de pollo (Peacock™ de George Pfau & Sons Co., Jeffersonville, IN). OSI = índice de estabilidad oxidativa. Naturox® = antioxidante comercial utilizado habitualmente en los alimentos para animales de compañía (una mezcla de aceite vegetal, tocoferoles naturales, ácido cítrico y extracto de romero, de Kemin Industries, Ames, IA). Ácido clorogénico estándar, ACG, C3878, de Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, n.º CAS 327-97-9, > 95 % de pureza. Corriente de residuos = muestra A.

Tabla L. Conservación de la grasa de ave basada en el contenido de ACG

AOX añadido a la grasa de ave	ACG	OSI (horas)
Ninguno	0,0	3,4
Corriente de residuos (2,5 %)	0,063 %	15,5
ACG estándar (0,09 %)	0,090 %	12,3
Corriente de residuos (5 %)	0,124 %	21,3

Véase la Tabla K anterior para más detalles.

15 Procedimientos

El procedimiento ORAC es la medida más ampliamente utilizada y aceptada de la actividad antioxidante de los alimentos y bebidas. Los valores ORAC de numerosos alimentos y bebidas que se han recopilado en bases de datos sobre la actividad antioxidante (véase, por ejemplo, Wu y col., 2004, Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States, J. Agric. Food Chem., 52: 4026-37). ORAC se basa en la oxidación de un colorante fluorescente (fluoresceína) por un oxidante [AAPH: 2,2'-azobis(2-amidino-propano) dihidrocloruro] que se puede controlar con un lector de placas fluorescente. La adición de un material antioxidante (tal como la corriente de residuos descrita en el presente documento) ralentiza la oxidación de la fluoresceína. La eficacia del material antioxidante se cuantificó a continuación mediante la comparación con un material antioxidante estándar [Trolox: ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetra-metilcroman-2-carboxílico].

25 Las mediciones ORAC se realizaron con un lector de placas fluorescente BMG Labtech Fluostar Optima (Durham, NC) con inyectores y software Optima (versión 2.10 R2). Las mediciones de ORAC se realizaron a 37 °C, y se usaron placas de ensayo de fondo plano negro de 96 pocillos. Se siguieron los procedimientos en gran medida como se ha descrito anteriormente en Ou y col., (2001, Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe, J. Agric. Food Chem., 49: 4619-26) y Prior y

col., (2003, Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity [oxygen radical absorbance capacity (ORACFL) of plasma and other biological and food samples, J. Agric. Food Chem., 51: 3273-79].

Los ácidos clorogénicos (ACG) y la cafeína se cuantificaron mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) con detección UV (324 nm para los ácidos clorogénicos; 280 nm para la cafeína). Se utilizó un sistema Waters Alliance HPLC, con una columna Atlantis C18 y elución por gradiente de 16 min) utilizando una mezcla de 2 % de ácido acético (AcOH/agua) y acetonitrilo (ACN) comenzando con 90 % de AcOH/agua y 10 % de ACN. A partir de la aplicación de las curvas de calibración estándar de 5-CQA y cafeína se calcularon las concentraciones de los ácidos clorogénicos y la cafeína y se cuantificaron mediante absorbancia conocida obtenida con ácidos clorogénicos a 324 nm (UH Engelhardt y col., 1996, Determination of chlorogenic acids with lactones in roasted coffee, J. Sci. Food Agric. 71: 392-8) y cafeína a 280 nm. Los ACG individuales medidos incluyen: 3-CQA (ácido cafeoilquinico), 4-CQA, 5-CQA, 4-FQA (ácido feruloilquinico), 5-FQA, 3,4-diCQA (ácido dicafeoilquinico), 3,5-diCQA y 4,5-diCQA.

La cantidad total de los compuestos polifenólicos se midió usando el procedimiento de Folin (véase, por ejemplo, VA Singleton y col., 1999, Methods Enzymol. 299:152). El procedimiento se basa en la formación de un color azul de la reacción de los polifenoles con el reactivo de Folin-Ciocalteu, que se mide con un espectrofotómetro. Los resultados se expresan como equivalentes de un material estándar, a partir de una curva estándar. Para el análisis de Folin, se utilizó una solución de 600 mg/l de ácido gálico (Acros Organics, Geel, Bélgica) como patrón. Se añadió una parte alícuota de patrón, blanco o muestra (hasta 1 ml) a 5 ml de agua desionizada, 1 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu (VWR International, Inc., West Chester, PA). Después de 5-8 minutos, se añadieron 10 ml de carbonato de sodio al 7 % en peso/volumen y el volumen total llegó hasta 25 ml. Después de 2 horas, la absorbancia se midió a 760 nm.

El porcentaje en sólidos se midió mediante evaporación hasta sequedad (mínimo 12 horas a 60 °C en horno de aire forzado), o por índice de refracción. El índice de refracción (IR) se convirtió en el porcentaje de sólidos mediante el uso de una correlación establecida entre el IR y los sólidos tal como se determina mediante evaporación hasta sequedad. El índice de refracción se midió con un refractómetro Bellingham & Stanley RFM 340 (Norcross, GA) a 29 °C.

Elemento de respuesta antioxidante (ARE): una línea celular indicadora del elemento de respuesta antioxidante (ARE) (ARE32) se obtuvo en CXR Biosciences, Dundee, Escocia. Las células ARE32 se mantuvieron en medio 'D-10', que consistía en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM; n.º de catálogo 11054, Invitrogen Co., Grand Island, NY) que contiene 10 % suero bovino fetal inactivado con calor (FBS; n.º de catálogo 10082-147, Invitrogen Co.), Glutamax 2 mM (n.º de catálogo 35050, Invitrogen Co.) y 0,8 mg/ml de sulfato de Genetin G418 (G418; n.º de catálogo 10131-027, Invitrogen Co.). Las células se subcultivaron cada 3-4 días. El ensayo ARE se realizó del siguiente modo:

1. En una placa de 96 pocillos (n.º de catálogo 3610; Coming Co., Corning, NY), cada pocillo se sembró con 1×10^4 células en 100 µl de medio D-10.
2. Las células se incubaron a 37 °C durante 24 horas en un incubador con 5 % de CO₂.
3. El medio se reemplazó con 100 µl de D-10 recién preparado. Las células se trataron con el material de ensayo en respuesta a la dosis a 10 %, después diluciones 1:2 para 8 pocillos en total por duplicado. Se incluyeron un control (sin material de ensayo) y un control positivo (TBHQ 10 µM; terc-butilhidroquinona, Aldrich Co., St. Louis, MO).
4. Después del tratamiento, se añadieron 100 µl de medio D-10, para un volumen de ensayo final de 200 µl.
5. Las células se incubaron a 37 °C durante 24 horas en un incubador con 5 % de CO₂.
6. El medio (100 µl) se retiró y se añadió Steady Glo Assay System (100 µl; n.º de catálogo E2510, Promega Co., Madison, WI).
7. Después de agitar durante 10 minutos, el ensayo se leyó usando un lector EnVision 2101 Multilabel Reader (Perkin Elmer Co., Turku, Finlandia), utilizando el protocolo de luciferasa Promega.

Los resultados se calcularon como el porcentaje de incremento de la respuesta ARE frente al control.

Índice de estabilidad oxidativa (OSI). La estabilidad oxidativa se determinó en un Instrumento de Estabilidad oxidativa (OSI, Omnion, Inc., Rockland, MA) a 108 °C. Se usó un mezclador Ross de alto cizallamiento para mezclar a fondo la grasa de ave y un antioxidante antes de la prueba en el instrumento OSI. Cinco gramos (5 g) de material de ensayo se introdujeron en un tubo de ensayo de 50 ml y se hizo pasar aire a través de la cámara de ensayo a 0,035 MPa. El índice de estabilidad del aceite (OSI) es el tiempo, en horas, hasta que la muestra comienza a oxidarse rápidamente.

Las dimensiones y valores divulgados en el presente documento no deben entenderse como estrictamente limitados a los valores numéricos exactos citados. En su lugar, a menos que se especifique lo contrario, con cada una de estas dimensiones se pretende que signifique tanto el valor citado como el intervalo funcionalmente equivalente que rodea a dicho valor. Por ejemplo, una dimensión divulgada como "40 mm" quiere decir "aproximadamente 40 mm".

Todos los documentos citados en el presente documento, incluyendo cualquier referencia cruzada o patente o solicitud relacionada, se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad, a menos que estén

5 expresamente excluidos o limitados de otra manera. La mención de cualquier documento no es una admisión de que es técnica anterior con respecto a cualquier invención divulgada o reivindicada en el presente documento o que por sí solo o en cualquier combinación con cualquier otra referencia o referencias, enseña, sugiere o divulga dicha invención. Adicionalmente, en la medida en que cualquier significado o definición de un término en el presente documento entre en conflicto con cualquier significado o definición del mismo término en un documento incorporado por referencia, regirá el significado o definición asignado a dicho término en el presente documento.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de conservación de un ingrediente de composición alimentaria para animales de compañía, comprendiendo el procedimiento las etapas de
- 5 a. proporcionar dicho ingrediente alimentario para animales de compañía;
b. proporcionar un componente antioxidante derivado de una corriente de descafeinización producida durante el procedimiento de descafeinización de granos de café;
c. combinar dicho ingrediente alimentario para animales de compañía y dicho componente antioxidante;
- en el que el nivel de dicho componente antioxidante es de 0,002 % a 0,2 % de dicho componente antioxidante, en peso de la composición.
- 10 2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicho componente antioxidante se selecciona del grupo que consiste en polifenoles, ácido clorogénico y combinaciones de los mismos.
3. El procedimiento de la reivindicación 2, en el que dicho componente antioxidante comprende ácido clorogénico.
4. Un procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicho ingrediente de la composición alimentaria para animales de compañía se selecciona del grupo que consiste en harinas de carne, grasas animales, digestivos animales, sabores para animales, aceites de pescado, premezclas de vitaminas y combinaciones de los mismos.
- 15 5. Un procedimiento de fabricación de una composición alimentaria para animales de compañía, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:
- 20 a. proporcionar al menos un ingrediente proteico;
b. proporcionar al menos un ingrediente graso;
c. proporcionar al menos un componente antioxidante derivado de una corriente de descafeinización producida durante el procedimiento de descafeinización de granos de café;
d. combinar dicha proteína, dicha grasa y dicho antioxidante en la fabricación de dicho alimento para animales de compañía.
- 25 6. Una composición alimentaria para animales de compañía que comprende un componente antioxidante derivado de una corriente de descafeinización producida durante el procedimiento de descafeinización de granos de café, en el que el componente antioxidante comprende ácido clorogénico, y en el que dicho ácido clorogénico comprende Di-CQA y Mono-CQA, y en el que dichos Di-CQA están presentes en una cantidad mayor que los Mono-CQA, y en el que la composición comprende de 0,002 % a 0,2 % en peso de la composición de dicho componente antioxidante.
- 30 7. La composición alimentaria para animales de compañía de la reivindicación 6, en la que dichos Di-CQA están enriquecidos.
8. La composición alimentaria para animales de compañía de la reivindicación 6, en la que una relación de Di-CQA a Mono-CQA es de aproximadamente 3:1 a aproximadamente 1,3:1.
9. La composición alimentaria para animales de compañía de la reivindicación 6, en la que dicho componente antioxidante es capaz de autoregular las enzimas antioxidantes dirigidas desde un elemento de transcripción común conocido como el elemento de respuesta antioxidante.
- 35 10. La composición alimentaria para animales de compañía de la reivindicación 6, en el que dicha composición alimentaria para animales de compañía es completa y nutricionalmente equilibrada.

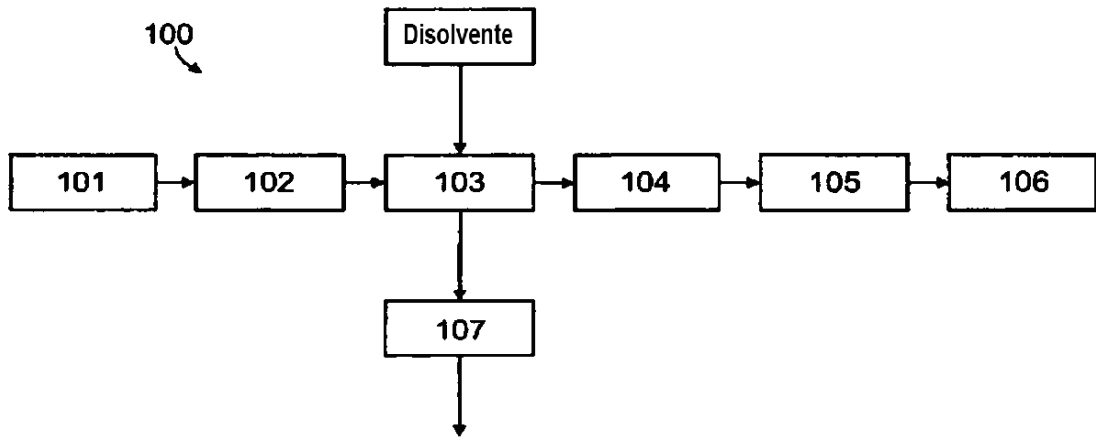


Fig. 1

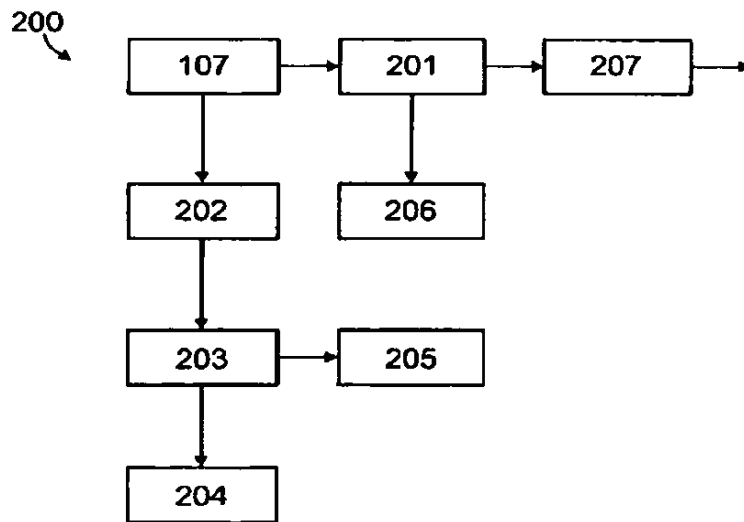


Fig. 2

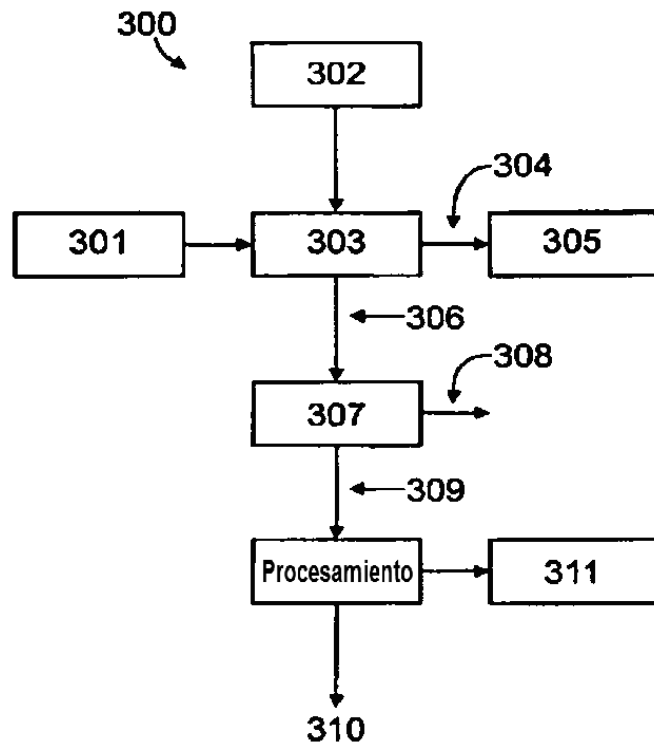


Fig. 3

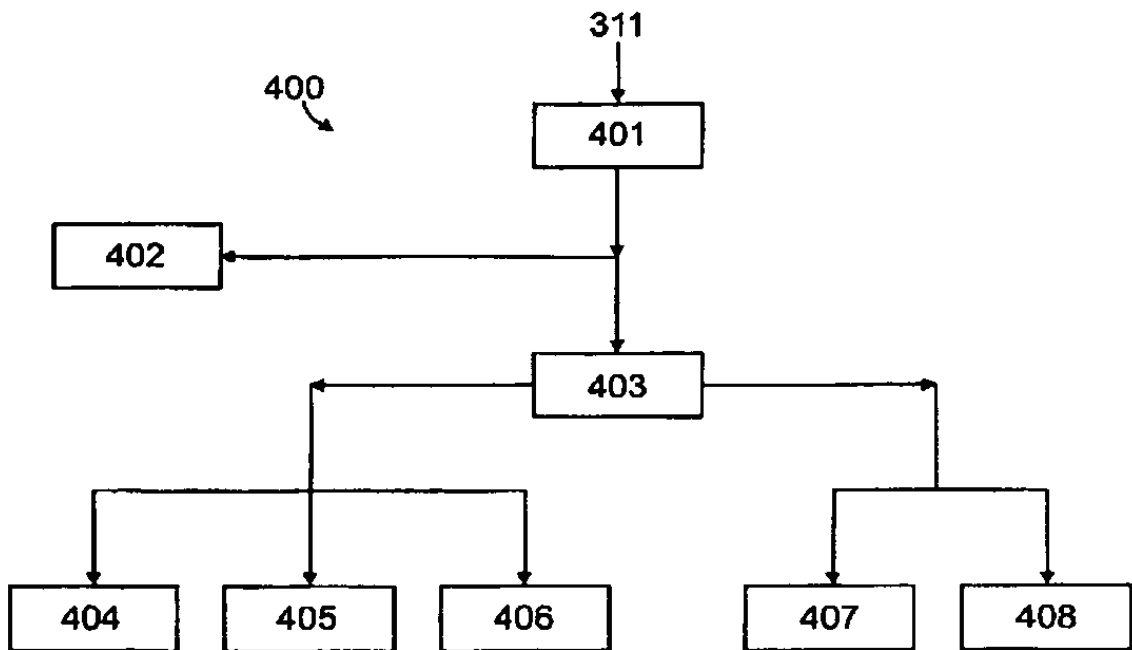


Fig. 4