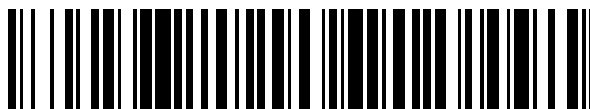


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 622 561**

51 Int. Cl.:

A23J 1/10 (2006.01)
A23L 29/281 (2006.01)
A61K 38/39 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A23L 33/00 (2006.01)
A23L 33/18 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
C07K 14/78 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.05.2011** **PCT/NL2011/050381**
87 Fecha y número de publicación internacional: **01.12.2011** **WO11149356**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.05.2011** **E 11725209 (8)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.01.2017** **EP 2575496**

54 Título: **Polvo de colágeno**

30 Prioridad:

28.05.2010 EP 10164379

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.07.2017

73 Titular/es:

HFP INGREDIËNTS B.V. (100.0%)
Laan Corpus den Hoorn 300
9728 JT Groningen, NL

72 Inventor/es:

TEN KATE, JAN GERT y
VISSER, PETRUS RIMKE

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 622 561 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

Polvo de colágeno

- 5 Esta invención se dirige a un método para preparar un polvo de colágeno y a un polvo de colágeno que pueda usarse para la preparación de productos alimenticios inductores de saciedad. El polvo de colágeno de la invención es adecuado como aditivo en productos alimenticios para reducir el hambre y como un posible tratamiento de la obesidad, la cual es el principal factor de riesgo para el desarrollo del síndrome metabólico.
- 10 El colágeno es la principal proteína fibrosa de los animales. Es probablemente la proteína animal más abundante en la naturaleza. El colágeno tiene un peso molecular de aproximadamente 300 000 Dalton, y es una combinación de tres cadenas polipeptídicas de triple hélice, en donde cada una de las cadenas está enrollada en estructura helicoidal. El colágeno comprende un gran número de fibras, las cuales, a su vez, contienen un número mucho mayor de fibrillas de tamaño submicroscópico. Las fibrillas tienen un diámetro del orden de 1-5 nm y sus longitudes varían entre varios
- 15 cientos y varios miles de nm.
- Si el colágeno se hidroliza parcialmente, las tres cadenas polipeptídicas de las moléculas del colágeno (cadenas de tropocolágeno) se separan como arrollamientos globulares aleatorios, produciendo la gelatina que se usa en muchos alimentos, incluyendo los postres de gelatina. Además de en los alimentos, la gelatina se usa en las industrias
- 20 farmacéutica, cosmética y fotográfica.
- Debido al aumento sostenido de la obesidad en todo el mundo y a las enfermedades asociadas, se dedica mucha atención a las estrategias para combatir este problema. Tales estrategias para el manejo del peso se dirigen a intensificar el metabolismo, inhibir la digestión y/o reducir la ingestión de calorías y de alimentos.
- 25 Un tipo de producto alimenticio aplicable en la reducción del consumo de calorías son los aditivos alimenticios que inducen un efecto de saciedad más rápidamente y reducen el apetito. Este efecto de saciedad surge debido al consumo de alimento y persiste hasta que el estómago se vacía. Debido a este efecto, la persona deja de tener apetito y es menos probable que consuma más alimentos. Por consiguiente, los productos alimenticios que permanecen más tiempo en el estómago y que se digieren lentamente, tienen un efecto de saciedad que dura más.
- 30 Recientemente se ha enfocado el interés en el material del colágeno debido a sus propiedades como inductor de saciedad y como un aditivo adecuado para los productos alimenticios destinados a bajar de peso.
- 35 El documento núm. WO-A-2009/008714 describe que el hidrolizado de colágeno puede usarse para preparar una composición comestible para limitar la ingestión voluntaria de alimento. Se describe que el peso molecular promedio preferido del hidrolizado de colágeno está entre 2 y 10 kDalton. Se describe que el hidrolizado de colágeno se obtiene por hidrólisis controlada de la gelatina, la cual se obtiene de colágeno animal. No se describen específicamente posibles fuentes de colágeno animal.
- 40 El documento núm. WO-A-2005/023017 describe una composición de alimento que comprende de 5 a 30 % en peso de gelatina hidrolizada y una fuente de triptófano que es adecuada para usar en productos que reemplazan las comidas. Se describe que el peso molecular promedio preferido para la gelatina hidrolizada está entre 2 y 10 kDalton. Se dice que la gelatina hidrolizada puede prepararse por tratamiento enzimático (proteolítico) y que tiene propiedades diferentes en su fuente y método de producción.
- 45 El documento núm. EP-A-1 471 802 describe un producto alimenticio inductor de saciedad que consiste en una proteína reticulada en polvo, que se somete a una velocidad de digestión reducida en el estómago. Se describe que la proteína reticulada en polvo se obtiene mediante la reticulación de una proteína en un gel, en donde dicho gel se seca. Se describe que la proteína preferida es gelatina.
- 50 Puede recuperarse colágeno a partir de cuero o piel animal, en particular a partir de las capas internas del cuero a las cuales se le quitaron los pelos, tal como cuero bovino, o a partir de pieles, tales como porcinas y de aves de corral. Una capa interna se refiere a un estrato que está por debajo del cuero o de la piel.
- 55 Se han descrito diversos métodos para la recuperación de colágeno a partir de piel animal en la técnica anterior. El documento núm. EP-A-1 270 672 describe un proceso para recuperar colágeno nativo en donde el cuero o la piel se desmenuzó en una suspensión acuosa, la grasa liberada se separó, se alcalinizó el pH de la suspensión, se añadió una proteasa que no degrada al colágeno nativo, se acidificó la suspensión, se separó el colágeno nativo y se resuspendió en agua para su desinfección y purificación posterior, y finalmente el colágeno nativo purificado y desinfectado se separa como una fase sólida. No se describe colágeno en forma de polvo.
- 60 El documento núm. US-A-3 932 677 describe un proceso para preparar colágeno comestible a partir de cuero calcificado como fuente de colágeno, en donde la fuente de colágeno del cuero se descalcifica mediante el tratamiento con un ácido diluido, comestible, a un pH de aproximadamente 4.0 a 5.5, se lavan con agua las sales solubles de calcio del colágeno del cuero, se forma una especie de lechada que puede extrudirse a partir del colágeno del cuero
- 65

neutralizado y lavado, dicha lechada se extrude a través de un troquel anular para formar una cubierta de colágeno tubular comestible.

El documento núm. WO-A-92/10944 describe un método en el cual las capas internas del cuero crudo se lavan en ácido diluido y se lavan con agua una o más veces para neutralizar y eliminar los álcalis tales como el sulfuro de sodio y cal, los cuales se usan convencionalmente para eliminar el pelo y la grasa residual. Antes o después de enjuagar las capas internas de cuero, estas se cortan en piezas con dimensiones típicas de aproximadamente 5-10 mm por 3-5 mm. A partir de entonces estas piezas se someten a un proceso de secado de dos etapas, en donde la primera etapa consiste en una primera corriente de gas calentado que se mantiene a una temperatura de menos de aproximadamente 60 °C, y la segunda etapa consiste en un secado en una segunda corriente de gas calentado a una temperatura mayor que la primera corriente de gas, en donde las temperaturas y los tiempos de tratamiento durante el secado se controlan para minimizar la decoloración y la hidrólisis del producto seco. Finalmente, el colágeno seco se muele para formar un producto fibroso. Las desventajas de este producto incluyen que el colágeno es difícil de humedecer, el colágeno tiene un bajo poder gelificante, y la densidad aparente del colágeno es baja.

Se conocen otros procesos para producir productos de colágeno como por ejemplo el documento núm. US-A-5 411 887, el documento núm. US-A-2005/267292 y el documento núm. US-A-5 484 888.

El objetivo de la invención es proporcionar un proceso para preparar un polvo seco de colágeno.

Otro objetivo de esta invención es proporcionar un polvo de colágeno que tenga mejores propiedades como inductor de saciedad para usar en la preparación de productos alimenticios.

Otro objetivo de esta invención es proporcionar un polvo de colágeno con mejor poder gelificante.

Un objetivo adicional de esta invención es proporcionar un polvo de colágeno que sirva para usarse adecuadamente como emulsificador.

Aún otro objetivo de esta invención es proporcionar un polvo de colágeno que pueda reemplazar adecuadamente los llamados "ingredientes funcionales" que se usan en productos alimenticios, tales como la proteína de soya, aislados de soya, caseinato, fostatos, alginatos y similares. El inventor encontró sorprendentemente que este objetivo puede cumplirse con un polvo de colágeno que tiene un poder gelificante específico.

Un objetivo adicional de esta invención es proporcionar un polvo de colágeno, *a saber* un producto seco que no se degrade, o que se degrade sustancialmente menos que los polvos de colágeno conocidos. De acuerdo con la invención, la triple hélice que forma la molécula de colágeno se desenrolla, lo cual da lugar a moléculas individuales de tropocolágeno, que constituyen el polvo de la invención. Se encontró que tal polvo de colágeno tiene propiedades superiores en comparación con los polvos de colágeno conocidos, lo que se expresa, por ejemplo, por su alto poder gelificante.

La invención es como se define por las reivindicaciones adjuntas.

Se encontró que las propiedades deseadas del polvo de colágeno se pueden obtener al convertir primero los cueros o las pieles en una masa fibrosa húmeda a una temperatura moderada de 50 °C o menos, seguido de un secado de esa masa fibrosa húmeda a alta temperatura, lo cual se lleva a cabo por contacto de esa masa fibrosa húmeda con un secador de rodillo que tiene una temperatura superficial de preferentemente 150 °C o más, por un período de 2 minutos o menos.

La baja temperatura de la primera etapa húmeda se mantiene baja para minimizar la hidrólisis de las proteínas del colágeno. En esta etapa tampoco se requieren aditivos enzimáticos. Esto hace que el proceso de la presente invención sea esencialmente diferente de procesos conocidos tales como el documento núm. EP-A-1 270 672 y el documento núm. US-A-5 411 887. Posteriormente, la masa fibrosa se seca a una alta temperatura de 150 °C o más. Sorprendentemente, durante el secado no ocurre hidrólisis del material del colágeno, o solo ocurre limitadamente, de manera que el material de colágeno seco todavía está compuesto por moléculas relativamente grandes, lo cual explica la calidad superior del producto de la presente invención.

En consecuencia, en un primer aspecto la invención se dirige a un proceso para producir colágeno en forma de polvo, cuyo proceso consiste en producir primero un producto de colágeno húmedo (masa fibrosa) a partir de un cuero o piel a una temperatura de 50 °C o menos, seguido del secado de dicho producto de colágeno húmedo en un secador de rodillo, que tiene típicamente una temperatura superficial de 150 °C o más, por un periodo de tiempo de 2 minutos o menos, para obtener dicho polvo de colágeno. El producto de colágeno húmedo se obtiene típicamente al someter el cuero o la piel a las etapas del proceso, tales como una etapa de reducción de tamaño; una etapa de tratamiento alcalino y/o de oxidación; y una etapa de neutralización a continuación de dicho tratamiento alcalino y/u oxidante.

En un aspecto adicional, la presente invención se dirige a un polvo de colágeno que tiene un poder gelificante de 300 g o más determinado por métodos de prueba estándar, en particular por ISO 9665. El "poder gelificante" es una medida

de la capacidad de un material para formar un gel. El poder gelificante es el peso en gramos que se requiere para comprimir el gel una distancia de 4 mm con un pistón que tiene un área de sección transversal de 1 cm², previamente, el gel se enfrió durante un tiempo definido bajo condiciones definidas. De esta manera, mientras mayor sea el poder gelificante de un material, mayor será la capacidad de ese material para formar un gel. Para estas mediciones, el gel

5 tiene una concentración estándar de 6,67 % y se mantiene durante 17 horas a 10 °C, antes de la medición.

Se encontró que tal polvo de colágeno, de acuerdo con la invención, tiene cualidades higroscópicas ventajosas.

10 El polvo de colágeno de la presente invención se caracteriza por una distribución muy estrecha del peso molecular. Se encontró que 99 % en peso o más de las partículas de colágeno tienen la misma masa molecular. Esto puede medirse, por ejemplo, mediante el uso de cromatografía de permeación de gel (GPC). La Figura 6 muestra el resultado de una medición típica de GPC de un polvo de colágeno, de acuerdo con la presente invención, en la cual se ve un solo pico, que indica una distribución estrecha del peso molecular. Por lo tanto, de acuerdo con la presente invención, las

15 moléculas de colágeno tienen una distribución muy estrecha del peso molecular. Además, las moléculas de colágeno tienen un peso molecular que es considerablemente mayor que el colágeno que se obtiene de acuerdo con métodos de la técnica anterior.

El polvo de colágeno de la presente invención tiene una estabilidad al calor excelente, la cual lo hace adecuado para 20 adicionarlo a productos alimenticios que necesitan someterse a un tratamiento posterior con calor, por ejemplo, la pasteurización. Sorprendentemente, el polvo de colágeno de la presente invención mantiene su funcionalidad con respecto a las propiedades emulsionantes y de unión al agua cuando se somete a tales tratamientos con calor.

Sorprendentemente, se encontró que el polvo de colágeno de la invención tiene mejores propiedades para inducir 25 saciedad cuando se usa como suplemento alimenticio, en comparación con productos conocidos que se usan con este propósito.

Se cree que las excelentes propiedades del polvo de colágeno de la invención se deben a la alta conservación del colágeno nativo. Esto significa que las moléculas de proteína que constituyen el polvo de colágeno son relativamente grandes en comparación con el colágeno que se obtiene por procesos convencionales. En una modalidad preferida, el 30 polvo de colágeno de la invención es de origen bovino y comprende partículas que tienen una masa molecular de aproximadamente 80 kDa. Preferentemente, más del 99 % en peso de las partículas, más preferentemente, aproximadamente 100 % de las partículas tienen un peso molecular de aproximadamente 80 kDa, como puede medirse mediante el uso de GPC, por ejemplo, lo que resulta en el patrón de GPC que se representa en la Figura 6.

35 El polvo de colágeno de la invención es adecuado para usar como aditivo alimenticio en productos alimenticios para la reducción del hambre y el manejo del peso. Por lo tanto, puede usarse como un posible tratamiento de la obesidad.

Para unas buenas propiedades de inducir saciedad, es conveniente que los productos alimenticios comprendan por 40 dosis (*es decir* unidades a consumir) al menos 7 gramos de polvo de colágeno de la invención y, preferentemente, menos de 15 gramos de % en peso. Típicamente, una composición alimenticia de acuerdo con la presente invención comprende de 2 a 4 % en peso (basado en el peso seco) del colágeno de la invención.

Los ejemplos de productos alimenticios adecuados en los cuales el polvo de colágeno de la invención puede aplicarse 45 incluyen, pero no se limitan a los siguientes: tabletas, bocadillos, barras nutricionales, comidas listas para consumir, productos horneados, (*por ejemplo*, bollos), productos cárnicos, sopas instantáneas, polvos reconstituyentes de bebidas, sopas, bebidas, yogurts y batidos saludables.

Los ingredientes para tales productos alimenticios serían en dependencia del tipo de producto alimenticio. Sin embargo, 50 los ingredientes típicos pueden comprender componentes tales como vegetales, frutas, huevos, carne o productos lácteos, semillas, granos, legumbres, grasas o aceites y agua. El producto alimenticio puede contener, además, sustancias aromáticas, colorantes y saborizantes, sales alimenticias, agentes de carga, emulsionantes, sacáridos, edulcorantes artificiales y naturales tales como azúcares y fuentes de azúcar, carbohidratos, vitaminas, alginatos (*por ejemplo*, alginato de sodio) y minerales.

Además, se encontró que dicho polvo de colágeno tiene propiedades emulsionantes ventajosas. Además, se encontró 55 que el polvo de colágeno de la invención es capaz de mejorar la estructura de los productos alimenticios en los cuales se usa. Una adición relativamente pequeña, del orden de 1 %, aumentará significativamente la viscosidad de las emulsiones cárnicas. Otra opción es la sustitución de los fosfatos en los productos cárnicos por polvo de colágeno, sin pérdida de la estabilidad térmica.

60 Además, se encontró que el polvo de colágeno es un sustituto adecuado de la proteína de soya. Esto es ventajoso en vistas de la demanda creciente de productos alimenticios etiquetados como limpios.

El polvo de colágeno de la invención tiene un poder gelificante de al menos 300 g, preferentemente, al menos 350 g, 65 más preferentemente, al menos 400 g, e incluso con mayor preferencia al menos 450 g. Estos poderes gelificantes son

superiores que aquellos que se mencionan en la técnica anterior para otros productos de colágeno. El límite superior del poder gelificante del polvo de colágeno de la invención puede ser tan alto como 550 o incluso 600 g.

5 Preferentemente el polvo de colágeno de la invención es un polvo de colágeno bovino, en particular un polvo que comprende menos de 1 % en peso de grasa (base de materia seca) y al menos 95 % en peso de proteína (base de materia seca; determinado por el método N×5.52. Para el polvo de colágeno porcino o aviar de la presente invención el porcentaje de grasa es generalmente mayor, *por ejemplo* 5-20 % en peso. Los contenidos de proteína son típicamente de 80 % en peso o más.

10 A diferencia de la gelatina, el polvo de colágeno de la presente invención no da una solución clara en agua. Se prefiere que el polvo de colágeno de la invención tenga una estructura de polvo, en particular un polvo que fluya libremente.

15 Preferentemente, el colágeno de la invención tiene un peso molecular promedio en número alto, por ejemplo, aproximadamente 80 kDa para el colágeno bovino. Para colágeno de origen porcino o aviar, se obtienen valores similares de aproximadamente 80 kDa.

20 El polvo de colágeno de la presente invención tiene propiedades emulsionantes extraordinarias. Por ejemplo, mediante el uso de tan poco como 1 parte de polvo por 75 partes de agua y 75 partes de aceite o grasas animales se obtiene como resultado una emulsión caliente estable ($> 40^{\circ}\text{C}$). Mediante el uso de aceites vegetales puede obtenerse un sistema frío estable (*a saber* de menos de 10°C) con tan poco como 1 parte de polvo por 60 partes de agua y 60 de aceite vegetal.

25 El polvo de colágeno de la invención gelifica ya en una relación 1:15 (peso/peso) con agua fría ($< 10^{\circ}\text{C}$). La gelificación en agua fría puede lograrse en cantidades relativas tan bajas como 5 % en peso de colágeno o incluso menos. En agua caliente ($> 40^{\circ}\text{C}$) el gel de colágeno podrá formar ya un gel firme con cantidades relativas tan bajas como 3,5 % en peso o incluso menos, hasta 2,5 % en peso.

30 El colágeno de la invención es extraordinariamente estable al calor. Este se reformará como un gel incluso después de la pasteurización/esterilización, lo cual hace a la proteína muy adecuada para usar en productos alimenticios, en particular en productos alimenticios enlatados, esterilizados o pasteurizados.

35 En virtud de su poder gelificante excepcionalmente alto, el polvo de colágeno de la invención puede usarse ventajosamente como agente gelificante. Se encontró que el polvo de colágeno de la invención mantiene un conteo alto del poder gelificante (típicamente más de 225) incluso después de calentarse hasta 100°C .

Otro aspecto de la invención se dirige a un método para preparar un polvo de colágeno. Este método se usa para obtener el polvo de colágeno en la presente descripción.

40 En el método de la invención, se somete un cuero o piel de animal a una primera etapa de reducción de tamaño, por ejemplo, mediante el uso de una máquina corriente de moler carne, una cortadora de tazón, una trituradora, o similar. Esto puede continuarse por una segunda etapa de reducción de tamaño, en la cual el tamaño de las partículas del cuero o piel se reduce más. A esta etapa le sigue una etapa de dispersar el cuero o piel molidos en agua, preferentemente, en un tanque agitado, y después, someter el cuero o la piel molidos a un tratamiento alcalino y/u oxidante. Después de esta etapa, el pH de la dispersión se neutraliza, *a saber* se ajusta a aproximadamente 5-7.

45 Seguidamente, los sólidos pueden separarse de los líquidos, por ejemplo, por centrifugación y/o mediante el uso de un tamiz. Después, en una tercera etapa puede llevarse a cabo una etapa de reducción de tamaño, lo cual se continúa por una redispersión de la masa acuosa en agua. Esto puede continuarse por un aislamiento de los sólidos, por ejemplo por centrifugación y/o filtrado. De acuerdo con la presente invención esta etapa húmeda del proceso se lleva a cabo a temperatura baja de 50°C o menos, preferentemente, por debajo de 45°C , con mayor preferencia a $42 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

50 A la etapa húmeda le sigue la etapa del secado, la cual se lleva a cabo a una temperatura relativamente alta. De acuerdo con la invención esta temperatura alta se obtiene por medio de un secador de rodillo, que asegura que los tiempos de contacto sean relativamente cortos. En esta etapa de secado a temperatura alta, la temperatura superficial del rodillo se mantiene preferentemente a 150°C o más, preferentemente a 160°C o más, con mayor preferencia a $165 \pm 4^{\circ}\text{C}$. El secado debe continuarse por una molienda y un filtrado para obtener el producto pulverizado que tenga el tamaño de partícula requerido.

En una modalidad típica, el método de la invención comprende:

- 60
- proporcionar el cuero o la piel animal;
 - reducir el tamaño en una o más etapas;
 - dispersar las partículas en agua;
 - someter la dispersión a tratamiento alcalino y/o tratamiento oxidante, lo que resulta en la dispersión de las partículas del cuero o la piel, que se convierten en una masa fibrosa;
 - 65 – ajustar el pH de la masa fibrosa a un pH neutro (7) o ligeramente ácido;

- separar los sólidos y los líquidos contenidos en dicha masa fibrosa;
- someter los sólidos a otra etapa de reducción de tamaño;
- dispersar los sólidos en agua;
- ajustar de nuevo el pH a neutro o ligeramente ácido;
- 5 – separar de nuevo los sólidos y el líquido en dicha masa fibrosa; y
- reducir el tamaño y/o separación de partículas para obtener un producto que tenga la distribución del tamaño de partícula deseada.

10 Opcionalmente, se lleva a cabo una etapa de detección de metal antes o durante una de las primeras etapas de reducción de tamaño.

15 Durante toda la parte húmeda del método la temperatura se mantiene a un nivel de manera que el colágeno nativo no se degrade, no se desnaturalice ni se gelatinice, o solamente lo haga al mínimo. La temperatura depende hasta cierto punto del tipo de colágeno tratado, pero preferentemente no debe exceder los 50 °C. Más preferentemente, la temperatura no es mayor que 45 °C y con mayor preferencia no mayor que 40 °C. Sin embargo, en una o más de las siguientes etapas del secado, la temperatura puede aumentarse a temperaturas mucho más altas. Se pudiera esperar que la temperatura más alta podría resultar en una fragmentación de las moléculas de colágeno. Sin embargo, los presentes inventores encontraron que mediante el uso de un secador de rodillo, el tiempo de contacto puede mantenerse suficientemente corto: en el orden de los segundos a varios minutos, *por ejemplo*, de 10 segundos a 5 minutos, preferentemente de 15 segundos a 2 minutos.

20 Por lo tanto, el método de la presente invención permite sorprendentemente la preparación de un polvo de colágeno que tiene un poder gelificante excepcionalmente alto, así como propiedades emulsionantes y de estabilidad al calor excepcionales.

25 El cuero o la piel del animal que se usa es preferentemente la capa interna del cuero o piel fresca. Este puede provenir de varios animales, tales como bovino, porcino o ave de corral y preferentemente es de bovino. Las capas internas de cuero bovino descalcificadas son ventajosas porque tienen un contenido de grasa relativamente bajo, típicamente menos de 10 % en peso basado en los sólidos secos con un valor de pH de 10 a 12. Las pieles frescas porcinas y de aves de corral tienen mayor contenido de grasas, típicamente aproximadamente 20-40 % en peso basado en los materiales crudos y tienen un alto conteo de placas.

30 El cuero o piel animal se muele previamente en una primera etapa de reducción del tamaño mediante el uso de un molinillo comercial, tal como Wolfking™ o Meatwolf™. Preferentemente esto resulta en que los cueros o pieles molidos tienen un tamaño promedio de varios milímetros, por ejemplo, tienen un diámetro máximo de 2 a 20 mm, *por ejemplo*, las tiras miden de 3-4 por 10-15 mm.

35 El cuero o piel de animal molido puede someterse después a detección de metal, *por ejemplo*, basada en inducción o magnetismo. En una segunda etapa de reducción del tamaño, el cuero o piel de animal puede someterse a una molida fina, típicamente a tamaños de aproximadamente 2-5 mm, *por ejemplo* 1-2 × 3-5 mm, mediante el uso, de nuevo, por ejemplo, de molinillos Wolfking™ o Meatwolf™.

40 El cuero o piel de animal se somete a un tratamiento alcalino y/o un tratamiento oxidante. El tratamiento alcalino se aplica para eliminar los residuos grasos. Generalmente, el tratamiento alcalino comprende la aplicación de una solución acuosa que comprende un agente alcalino tal como hidróxido de sodio o hidróxido de calcio. Preferentemente, el agente alcalino es hidróxido de calcio. Típicamente, la concentración del hidróxido de calcio que se usa es de 1 a 2 % y preferentemente es 2 %. El pH durante el tratamiento alcalino puede ser al menos 10, preferentemente al menos 11, con mayor preferencia al menos 12. Preferentemente, el pH durante el tratamiento alcalino no es mayor que 12,5. Como las capas internas del cuero bovino ya están calcificadas, solamente se tratan las pieles porcinas y de aves de corral frescas. El tratamiento alcalino puede realizarse muy rápidamente, *por ejemplo*, en varios segundos o minutos, por ejemplo, típicamente en menos de 10 a 20 segundos.

45 El tratamiento oxidante se aplica para descontaminar el cuero o la piel de animal, particularmente las pieles porcinas o de aves de corral frescas. En las capas internas de los cueros bovinos calcificados, el tratamiento también oxida los sulfuros residuales del proceso de tinción a sulfito/sulfato. Esto impide la producción de sulfuro de hidrógeno tras la reducción del pH en el tratamiento de neutralización. El tratamiento oxidante es una solución acuosa que comprende un agente oxidante tal como peróxido de hidrógeno u ozono. El agente oxidante es preferentemente peróxido de hidrógeno. Típicamente, la concentración del peróxido de hidrógeno es aproximadamente 300 a 2500 ppm. El tratamiento oxidante puede realizarse por varios segundos a minutos, típicamente menos de 10 segundos. El tratamiento oxidante se aplica preferentemente junto con el tratamiento alcalino.

50 A continuación de esto, el producto resultante se somete a un ajuste de pH para llevar el pH a pH neutro o ligeramente ácido de 5-7. Esto puede hacerse por acidificación de la dispersión. Esto puede incluir un lavado del cuero o la piel en una solución acuosa de un ácido. El propósito de la neutralización es, entre otros, la descalcificación del cuero o la piel. Durante el tratamiento de neutralización las sales solubles de calcio se eliminan del cuero. Los ácidos preferidos para

neutralizar los cueros o pieles son: ácido láctico, ácido hidroclicóric, dióxido de carbono, ácido acético, ácido etilen diamino tetraacético, cloruro de amonio, ácido propiónico y ácido fumárico. Con mayor preferencia los ácidos preferidos son el dióxido de carbono o el ácido acético.

5 Preferentemente, el pH no debe ser menor de 4,2. Se encontró que se obtienen resultados óptimos si el pH se mantiene entre 5-6.El tratamiento de neutralización puede realizarse muy rápidamente y puede completarse *por ejemplo* en varios segundos a aproximadamente un minuto.

10 Después, el cuero o la piel del animal se somete a una etapa para separar los fragmentos del líquido, *por ejemplo*, decantar o decantar tres veces. A continuación de esto, el cuero o la piel del animal se decanta o se decanta tres veces para separar los sólidos. La materia seca de colágeno bovino de los sólidos está típicamente entre 10 y 30 %. La materia seca de colágeno de porcinos y aves de corral está típicamente entre 10 y 35 % y comprende además de 2 a 7 % de grasa.

15 El cuero o piel de animal neutralizado puede someterse después a una tercera etapa de reducción de tamaño donde se muele finamente. Como etapa opcional, la piel porcina o de ave de corral húmeda y molida se aísla como producto final. Es un producto microbiológicamente estable, con un contenido de proteína y grasa de aproximadamente 20 y aproximadamente 4 % en peso respectivamente.

20 A partir de entonces el producto molido debe secarse. El secado se realiza mediante el uso de un secador de rodillo. Otros secadores de contacto son los secadores de cinta o secadores de placas. Mediante el uso del secador de rodillo, además de que seca el cuero o la piel del animal después de molida, es ventajoso en vistas del transporte de humedad. Como estas medidas proporcionan un excelente transporte de humedad, generalmente es suficiente secar el cuero o la piel del animal molida en el secador de rodillo por un periodo de tiempo de 2 minutos o menos, o incluso 1 minuto o menos, *por ejemplo*. 10 a 60 segundos.

30 Como el secado se realiza a una temperatura relativamente alta, esta etapa puede realizarse rápidamente, lo cual se suma a la economía del proceso. Además, se cree que estos tiempos de contacto cortos contribuyen a mantener el peso molecular alto y la distribución estrecha del peso molecular del producto.

Si el colágeno se seca mediante secado por centrifugación o secado al aire, esto no resulta en un producto seco con las propiedades deseadas.

35 Como una etapa final, el producto de colágeno se muele o se tamiza (tamizado).El cuero o piel del animal molida y/o filtrada puede tener un tamaño de partícula promedio de 200 µm o menos, preferentemente 100 µm o menos.En una modalidad preferida, el tamaño de partícula promedio del cuero o piel de animal molida está en el intervalo de 10-100 µm.

40 Sorprendentemente se encontró que el almacenamiento del cuero o piel del animal molida antes del secado tiene un efecto negativo sobre el poder gelificante del polvo de colágeno resultante. Sin querer estar atado a la teoría, el inventor cree que los microorganismos juegan un papel en esta degradación del producto. Por lo tanto se prefiere que el cuero o piel del animal debe secarse dentro de 24 horas después de molida, preferentemente dentro de 12 horas, con mayor preferencia dentro de 6 horas y con la máxima preferencia directamente después de la molida.

45 Opcionalmente, el polvo de colágeno secado puede separarse por tamaño, por ejemplo mediante el uso de uno o más tamices adecuados.

50 El método de la invención proporciona un polvo de colágeno que tiene una estructura sustancialmente no fibrosa. Además, el polvo de colágeno tiene una densidad aparente relativamente alta de al menos 540 g/l, preferentemente al menos 550 g/l.

La invención ahora se aclara sobre la base de algunos ejemplos, los cuales no tienen el propósito de limitar el alcance de la invención

55 EJEMPLOS

Experimentos de viscosidad

60 Se preparó una solución de gelatina al 10 % de acuerdo con el documento núm. EP-A-1 471 802.La solución del gel se reticuló mediante el uso de transglutaminasa (Active EB de Ajinomoto) a pH 6 por 24 horas a 40 °C. Se formó una masa firme que permaneció firme a una temperatura de 40 °C. Por el contrario la solución no tratada de gelatina al 10 % es líquida a 40 °C.

65 Una pieza de 5 g de la gelatina reticulada se transfirió a una solución de 100 ml que comprende además una píldora de Betaína/Pepsina (de AOV Orthomolecular Food Supplement BV).El pH y la temperatura fueron de 2,5 and 37 °C, respectivamente, y se mantuvieron durante el tiempo del experimento. Después de cuatro horas, no hubo degradación

detectable de la gelatina. Sin embargo, esto no es una simulación real de lo que ocurre en un estómago, la gelatina reticulada estaría molida seca, y posiblemente añadida a un alimento como suplemento. No sería consumida como un trozo grande.

Se resuspendieron 100 g de la gelatina reticulada en 100 ml de agua que contenían una píldora de Betaína/Pepsina en una batidora, a pH 2,5 y temperatura 37 °C. Se midió la viscosidad de la suspensión con un viscosímetro Brookfield mediante el uso de un husillo 3 y a una velocidad de rotación de 50 rpm. A $t = 0$ min la viscosidad fue de 1,2 Pa.s (1200cp) después de 30 min la viscosidad fue < 0,04 Pa.s (40cp) y la gelatina estaba completamente líquida. A partir de este resultado no debemos esperar que el producto del documento núm. EP-A-1 471 802 sea muy efectivo como supresor del hambre.

Se realizó una prueba similar mediante el uso de Caseinato EM7 de DMV y el polvo de colágeno de la invención, Kapro 95. En dos soluciones separadas, donde cada una contenía una píldora de Betaína/Pepsina, se suspendieron 20 g de EM7 y 20 g de Kapro 95 respectivamente. Las soluciones tenían un valor de pH de 2,5 y una temperatura de 37 °C. Las mediciones de viscosidad se realizaron con un viscosímetro Brookfield mediante el uso de un husillo 3 y a una velocidad de rotación de 50 rpm. Los resultados se muestran más abajo (ver Tabla 1).

Tabla 1.

(Por favor, note que 100cp es igual a 1Pa.s)				
Muestra	Viscosidad ($t=0$ min)	Viscosidad ($t=60$ min)	Viscosidad ($t=120$ min)	Viscosidad ($t=180$ min)
EM7	1300 cp	600 cp	500 cp	400 cp
Kapro 95	8300 cp	6000 cp	4000 cp	4200 cp

Los resultados muestran que Kapro 95 permanece altamente viscoso por un periodo de tiempo más largo que EM7.

Ejemplo 1.Efecto a corto plazo del colágeno bovino

El Ejemplo se realizó mediante el uso de tres grupos de ratas, que comprendían ocho animales por grupo. Un grupo recibió la dieta normal para ratas (pienso de laboratorio) y sirvió como control general. Los grupos experimentales recibieron una combinación con 60 % de pienso de laboratorio y 40 % de colágeno bovino de acuerdo con la invención (Collagen Care, abreviado como CC).Hubo además un tercer grupo que recibió una combinación con 60 % de pienso de laboratorio suplementado con 40 % de caseína. Este tercer grupo sirvió de control para la dieta alta en proteína del grupo experimental CC. Durante los experimentos, los animales tuvieron los alimentos disponibles por 20 horas al día.

El Tiempo Circadiano, o CT, es una forma de comparar las actividades diurnas y nocturnas de los animales. En un régimen de 12 horas oscuridad/luz, el CT 0-12 se definió como el período inactivo (en humanos esto es la noche, en ratas esto es el periodo de luz).El CT 12-24, se definió a la inversa como el periodo activo (en humanos la luz, en ratas la oscuridad).Este fue el método experimental que se usó.

Los animales se alojaron individualmente durante tres días y se midió la ingestión de alimentos, la ingestión de agua, y los cambios en el peso corporal. El protocolo experimental exacto fue como sigue:

- Tiempo circadiano CT 8: el alimento se retira y se mide el peso corporal de los animales.
- El alimento se les retorna en el CT 12 y se mide la ingesta de alimento y agua desde CT 12 hasta CT 14 (comida 2 horas) y para CT 12 - CT 8 (se determina la ingestión de alimentos durante 24 horas.)

Proporcionar una dieta alta en proteína causa una reducción de aproximadamente 85 % en la ingestión de alimentos con respecto a la dieta control normal (ver Figura 1).Este efecto se observa frecuentemente en dietas con alto contenido proteico y es comparable con el efecto observado en la popular dieta Atkins de los Estados Unidos. El efecto de saciedad de la dieta alta en proteína durante tres días resultó en una ligera, pero significativa pérdida de peso (5 %) en comparación con la dieta control. Esto se aplicó tanto para la dieta CC como para la dieta de la caseína.

La adición de colágeno bovino llevó especialmente a una reducción muy aguda en la ingestión de alimentos en las primeras dos horas (CT 12-14) después de que se retornara el alimento (ver Figura 2). Este fue el efecto más impresionante de la dieta CC en comparación con la dieta de caseína (y, por supuesto, con la dieta control).

Además, la medición de la ingestión de agua en 24 horas aumentó en la dieta CC (ver Figura 3).La ingestión de agua en dos horas (CT 12-14) no fue significativamente diferente entre el grupo CC y el grupo control. Sin embargo, si uno mira a la llamada toma prandial (ingestión de agua por cantidad de alimento), entonces los animales de la dieta CC beben relativamente más.

Ejemplo 2.Efecto a largo plazo del colágeno bovino

El Ejemplo se realizó mediante el uso de cuatro grupos de ratas, que comprendían ocho animales por grupo. Todos los animales recibieron una dieta estándar de pienso de laboratorio enriquecido con 20 % o 40 % de proteína. Dos grupos recibieron colágeno bovino de acuerdo con la invención (CC), mientras que los otros dos grupos recibieron caseína. Los cuatro grupos consistieron en:

- CC 20: una combinación de 80 % de pienso de laboratorio y 20 % de colágeno bovino
- CC 40: una combinación de 60 % de pienso de laboratorio y 40 % de colágeno bovino
- 20 caseína: una combinación de 80 % de pienso de laboratorio y 20 % de caseína
- 40 caseína: una combinación de 60 % de pienso de laboratorio y 40 % de caseína

Los grupos de caseína sirvieron como controles para las dietas altas en proteína que contienen colágeno bovino. Durante los experimentos, los animales tuvieron los alimentos disponibles ad libitum.

Los animales se alojaron individualmente y durante un período de 14 días, se realizaron dos mediciones diarias a las CT-9 de ingestión de alimentos, ingestión de agua, y cambios del peso corporal en 24 horas.

Los resultados del experimento fueron que la adición de colágeno bovino redujo la ingestión de alimentos y aumentó la ingestión de agua. Los datos de la ingestión de agua y alimentos se calcularon acumulativamente durante 14 días, y fueron significativamente diferentes. La Figura 4 muestra los pesos corporales durante el primer periodo. A partir de la Figura 4 está claro que la adición de colágeno bovino resulta en una reducción significativa del peso corporal a largo plazo.

La ingestión de alimentos en ratas, tanto a corto como a largo plazo, se redujo mucho por el consumo de la dieta enriquecida con colágeno bovino de acuerdo con la invención (CC). Esto es posible debido a una combinación de dos propiedades de la dieta CC, específicamente: (a) el alto contenido proteico y (b) un alto número del poder gelificante. Finalmente, esto conlleva a un aumento en el llenado del estómago, inhibición del vaciamiento gástrico y demora en la absorción del alimento hacia la sangre. Esta combinación crea una reducción en la ingestión de alimentos a corto plazo, lo cual conlleva a una mejoría de los perfiles insulínicos en la sangre.

A largo plazo parece que el colágeno bovino de acuerdo con la invención tiene un efecto de reducción de la ingestión de alimentos, lo cual conlleva a una disminución significativa del peso corporal. La adición de colágeno bovino en la dieta normal tiene, por tanto, un efecto reductor de la ingestión de alimentos y del peso corporal, lo cual significa que esta dieta puede potencialmente contribuir a la lucha y a la prevención de la obesidad junto con sus consecuencias fisiopatológicas, tales como la diabetes tipo 2 en humanos y animales.

Finalmente, se debe señalar que tanto a corto como a largo plazo, los efectos son muy promisorios. El efecto de saciedad es similar al de una inyección con la reconocida hormona de la saciedad: la colecistoquinina. La adición de colágeno bovino de acuerdo con la invención a una dieta regular ofrece posibilidades para el tratamiento de la obesidad y sus consecuencias fisiopatológicas, como el síndrome metabólico.

Ejemplo 3. Mejores perfiles de insulina en la sangre y una prueba intravenosa de tolerancia a la glucosa (IVGTT)

Las ratas se dividieron en dos grupos. Los animales se alojaron individualmente durante un periodo de 21 días. Un grupo recibió una dieta con 70 % de pienso de laboratorio y 30 % de caseína ($N=4$) y el otro grupo ($N=4$) recibió una combinación con 70 % de pienso de laboratorio y 30 % de colágeno bovino de acuerdo con la invención (CC). Durante la IVGTT a las ratas se les infundieron 15 mg/min de glucosa durante un periodo de 30 minutos. Antes del inicio de la infusión, se tomaron dos muestras de valores de referencia en los puntos de tiempo $t = -11$ y -1 minutos. Después del inicio de la infusión a $t = 0$ min, se tomaron muestras de sangre en los mismos tiempos $t = 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40$ y 50 minutos.

La insulina plasmática se analizó por radioinmunoensayo.

La Figura 5 muestra los perfiles de insulina resultantes en la sangre de ambos grupos durante la IVGTT. En las ratas alimentadas con CC, la invención causó una reducción significativa ($p < 0,05$) de las áreas bajo la curva (AUC) de insulina durante la IVGTT.

Puede concluirse que la adición de colágeno bovino a la dieta normal resulta en un mejor perfil de insulina en sangre, lo cual significa que esto puede contribuir a prevenir la diabetes tipo 2 en humanos y animales.

Reivindicaciones

1. Método para preparar polvo de colágeno, que comprende las etapas de:
5 producir un producto de colágeno húmedo a una temperatura de 50 °C o menos, al someter un cuero o piel a una etapa de reducción de tamaño; una etapa de tratamiento alcalino y/u oxidante; y una etapa de neutralización; seguido del secado de dicho producto de colágeno húmedo durante un periodo de tiempo de 2 minutos o menos mediante el uso de un secador de rodillo para obtener dicho polvo de colágeno.
2. Método de conformidad con la reivindicación 1, en donde dicho secado se lleva a cabo mediante el uso de un
10 secador de rodillo que tiene una temperatura superficial de más de 150 °C.
3. Método de conformidad con la reivindicación anterior, en donde la temperatura de las etapas para producir el producto de colágeno húmedo se mantiene a 45 °C o menos y, preferentemente a 40 °C o menos.
4. Método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho secado de dicho
15 producto de colágeno húmedo se lleva a cabo a una temperatura superficial de dicho secador de rodillo de 155 °C o más alta, preferentemente a 160 °C o más alta, con mayor preferencia a 165 ± 4 °C.
5. Método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dichos cueros o pieles
20 animales se seleccionan de un grupo que consiste en bovino, porcino o ave de corral, preferentemente, bovino.
6. Método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho tratamiento alcalino y/u
25 oxidante se realiza a un valor de pH de 10 o más, preferentemente de 11 o más, con mayor preferencia de 12 o más.
7. Método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el tratamiento de
neutralización resulta en un valor de pH de 6 o menos, preferentemente de 5 a 6.
8. Método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el cuero o la piel de animal
30 molidos se seca dentro de 24 horas después de molidos, preferentemente, dentro de 12 horas, más preferentemente dentro de 6 horas, y con la máxima preferencia directamente después de molidos.
9. El polvo de colágeno, el cual es un producto de colágeno bovino, porcino o de ave de corral, que se obtiene por
35 un método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que tiene un poder gelificante de al menos 300, determinado por el método estándar ISO 9665 mediante el uso de un gel que tienen una concentración de 6,67 %, que se mantuvo por 17 horas a 10 °C antes de la medición.
10. El polvo de colágeno de conformidad con la reivindicación anterior, que es colágeno bovino y el cual comprende
40 menos de 1 % en peso de grasa, materia seca de base y al menos 95 % en peso de proteína, materia seca de base; determinado por el método N×5.52.
11. El polvo de colágeno de conformidad con las reivindicaciones 9 o 10, en donde más del 99 % en peso de colágeno de las moléculas de colágeno tienen la misma masa molecular.
- 45 12. El polvo de colágeno de conformidad con la reivindicación anterior, el cual es un producto de polvo de colágeno bovino, en donde el colágeno tiene una masa molecular de aproximadamente 80 kDa.
13. El polvo de colágeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 9-12, para usar en la reducción del
50 hambre y para el manejo del peso, en donde, preferentemente, el producto alimenticio es para el tratamiento de la obesidad y el síndrome metabólico, particularmente para tratar la resistencia a la insulina.
14. El producto alimenticio que tiene un efecto de saciedad fuerte, comprende hasta 5 % en peso de polvo de colágeno de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 9-12, preferentemente 2-4 % en peso, con
55 mayor preferencia 3± 0,5 % en peso basado en el peso seco.
15. El producto alimenticio de conformidad con la reivindicación 14, en donde dicho producto alimenticio comprende
60 ingredientes seleccionados de vegetales, frutas, huevos, carne o productos lácteos, semillas, granos, legumbres, grasas o aceites, agua, sustancias aromáticas, colorantes y saborizantes, sales alimenticias, agentes de carga, emulsionantes, sacáridos, edulcorantes artificiales y naturales tales como azúcares y fuentes de azúcar, carbohidratos, vitaminas, minerales y combinaciones de estos.

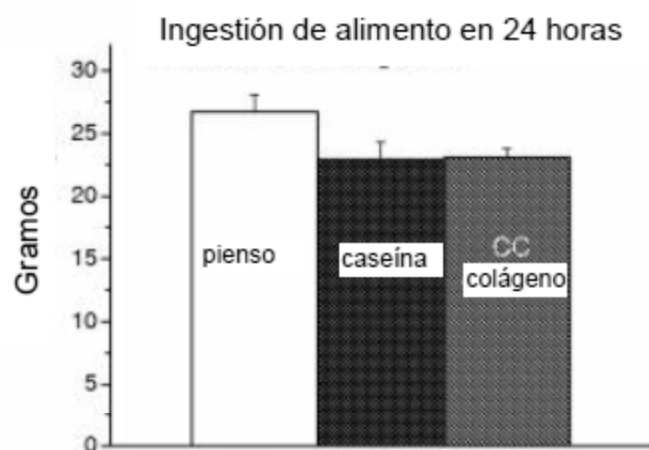


Fig. 1

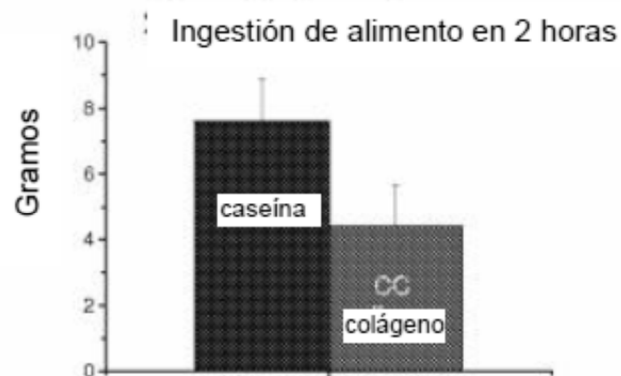


Fig. 2

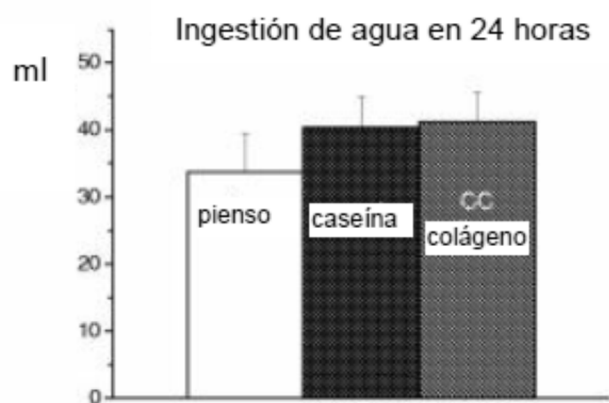


Fig. 3

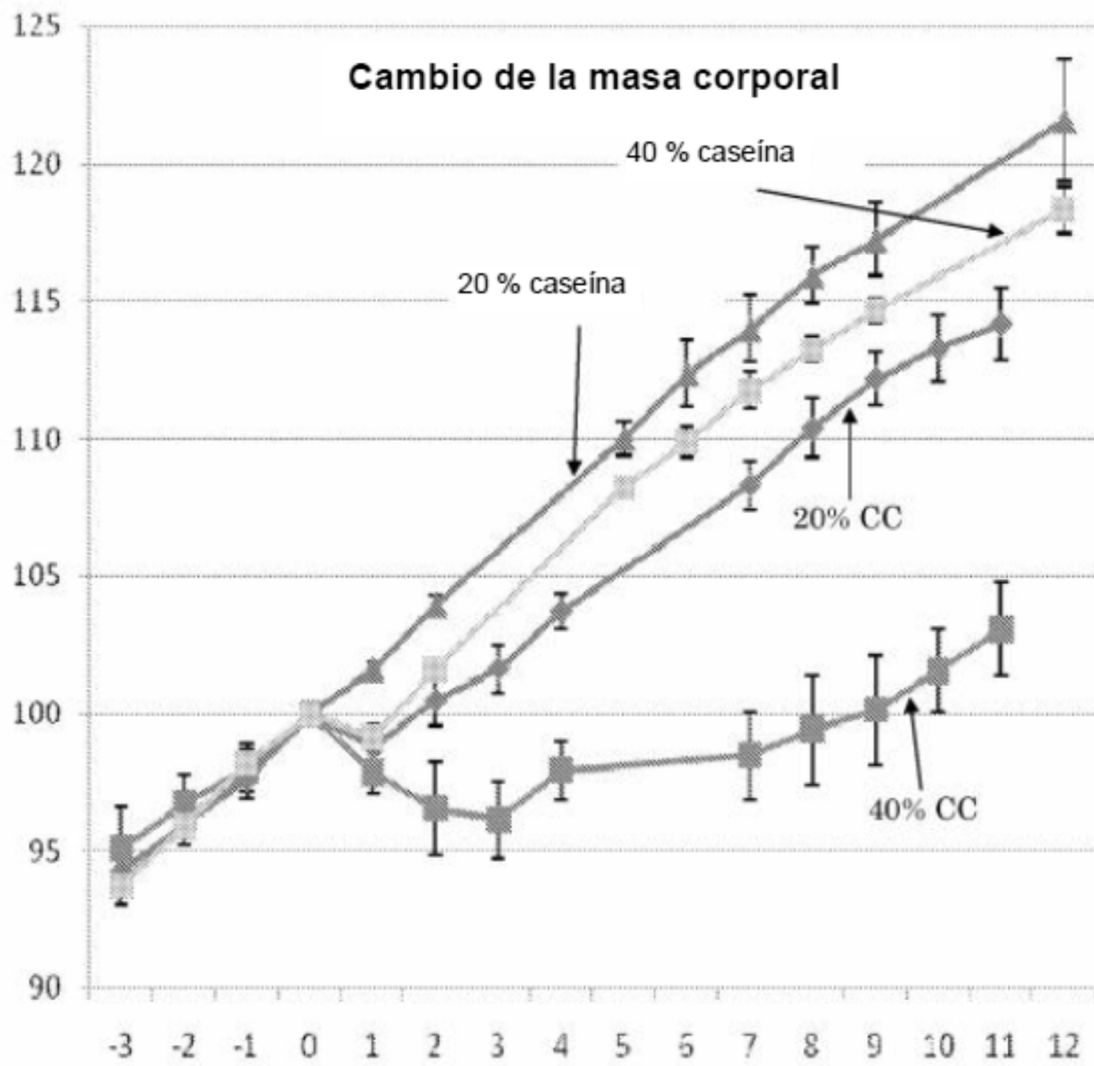


Fig. 4

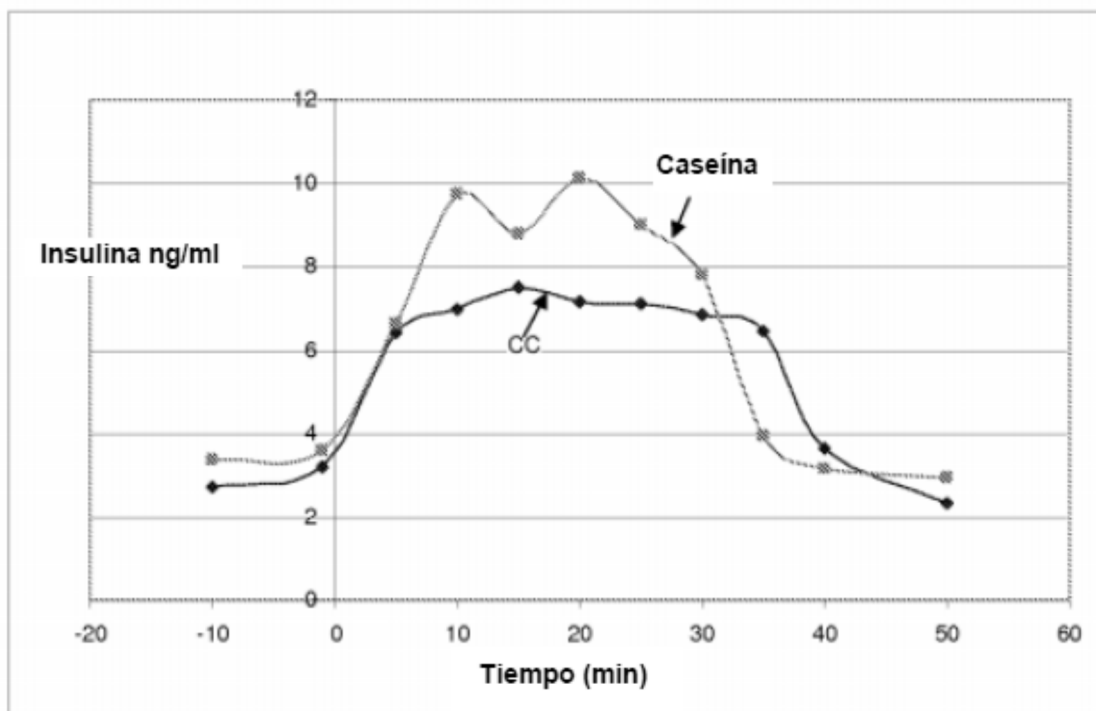


Fig. 5

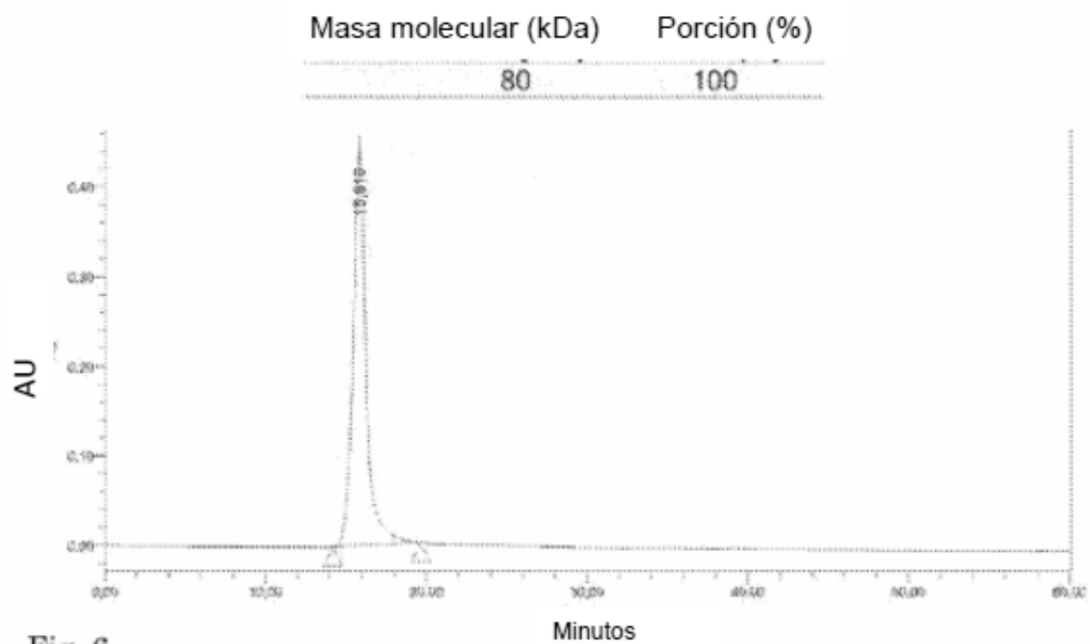


Fig. 6