

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 657 826**

51 Int. Cl.:

A23L 33/00 (2006.01)

A23L 33/13 (2006.01)

A23L 33/19 (2006.01)

A23L 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.07.2012 PCT/NL2012/050509**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.01.2013 WO13012324**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.07.2012 E 12744136 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.11.2017 EP 2734060**

54 Título: **Uso de un nucleótido para mejorar la estabilidad térmica de una composición de caseína micelar acuosa**

30 Prioridad:
18.07.2011 WO PCT/NL2011/050521

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.03.2018

73 Titular/es:
**N.V. NUTRICIA (100.0%)
Eerste Stationsstraat 186
2712 HM Zoetermeer, NL**

72 Inventor/es:
**DE KORT, ESTHER JACQUELINE PETRA y
MINOR, MARCEL**

74 Agente/Representante:
TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 657 826 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).

DESCRIPCION

Uso de un nucleótido para mejorar la estabilidad térmica de una composición de caseína micelar acuosa

5 Campo de la invención

10 [0001] La presente invención se sitúa en el campo de las composiciones nutricionales enterales líquidas. Más en particular, se refiere a una composición de caseína micelar acuosa que comprende de 6 a 20 g de caseína micelar por 100 ml de composición y con un pH de 6 a 8, y también a una composición nutricional enteral líquida que comprende una cantidad alta de caseína micelar, y al problema de mejorar la estabilidad térmica durante un proceso de tratamiento térmico, tal como un proceso de esterilización o pasteurización, de dicha composición de caseína micelar acuosa y de dicha composición nutricional enteral líquida que comprende una cantidad alta de caseína micelar.

15 Antecedentes de la invención

20 [0002] Preferiblemente, los productos lácteos médicos tienen una alta concentración de nutrientes, en particular de proteínas y minerales, para cubrir la toma diaria de nutrientes en pacientes desnutridos. Estos pacientes pueden ser pacientes caquéuticos o personas que padecen SIDA en fase final o cáncer, o que están en tratamiento contra el cáncer, padecen enfermedades pulmonares severas como EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica), tuberculosis y otras enfermedades de infección, o personas que han experimentado cirugía o traumatismo graves, tales como quemaduras. Además, las personas que padecen trastornos en la garganta o la boca tales como cáncer de esófago o estomatitis y las personas que tienen problemas con la deglución como las personas disfágicas, requieren nutrición especial líquida, líquida concentrada de bajo volumen o semilíquida. También, las personas que solo padecen apetito reducido o pérdida del sabor se beneficiarán de comida, preferiblemente líquida, de bajo volumen. Estos pacientes también pueden ser personas mayores, en particular personas mayores débiles y personas mayores en riesgo de volverse débiles. A este respecto, aunque las necesidades de energía de una persona mayor pueden ser reducidas, su capacidad para consumir productos también puede disminuirse. Por ejemplo, pueden tener dificultad para consumir un producto debido a, por ejemplo, dificultades de deglución, o debido a que necesitan consumir una cantidad de producto demasiado grande para cubrir la toma diaria de nutrientes. Por lo tanto, el cumplimiento no es óptimo y, frecuentemente, la toma es subóptima, lo que lleva a nutrición subóptima, y al final, a desnutrición. Otras personas que se pueden interesar en el consumo de tales composiciones nutricionales pueden ser personas sanas tales como un o una deportista o unas personas mayores activas, que estén en necesidad de una nutrición concentrada en un volumen pequeño, tal como la composición nutricional enteral líquida de bajo volumen según la invención con un elevado contenido de nutrientes, en particular de proteínas.

40 [0003] Todos los grupos de pacientes anteriormente mencionados pueden ser extremadamente sensibles a la consistencia alimenticia y a las propiedades organolépticas del producto tales como, por ejemplo, la viscosidad, la sensación en la boca, el sabor, el olor y el color. También, los pacientes tales como los pacientes caquéuticos padecen típicamente debilidad extrema que les impide frecuentemente sentarse en una posición vertical y beber alimento de un cartón o incluso succionarlo con una pajita. Estos pacientes se benefician mucho de las composiciones nutricionales enterales líquidas de bajo volumen con un elevado contenido de nutrientes, en particular de proteínas.

45 [0004] Sin embargo, cantidades altas de proteína y minerales aumentan la viscosidad global del producto durante el tratamiento, en particular durante un tratamiento térmico tal como la esterilización a temperatura muy alta, para que permanezca estable durante al menos nueve meses a temperatura ambiente, o la pasteurización, y el almacenamiento debido a cambios en el equilibrio de proteína-mineral. Los productos líquidos de baja viscosidad, sin embargo, son en su mayoría apreciados por los pacientes, lo que hace que sea un desafío formular tales productos. También, una viscosidad baja se requiere para que una composición nutricional sea adecuada para la administración por sonda.

50 [0005] Por lo tanto, el problema subyacente de la presente invención es proporcionar una composición nutricional enteral líquida, bien como un suplemento o bien como una nutrición completa, que comprenda una elevada cantidad de una proteína intacta, en particular de caseína micelar, como fuente de proteína principal, en el volumen más pequeño de líquido, con una viscosidad baja después del tratamiento térmico y que respalde la nutrición y el bienestar en los diferentes grupos de pacientes mencionados anteriormente, en particular una persona mayor, una persona que esté en un estado de enfermedad, una persona que se esté recuperando de un estado de enfermedad, una persona que esté desnutrida o una persona sana tal como un o una deportista o unas personas mayores activas.

55 [0006] Un problema adicional es proporcionar un proceso para el tratamiento térmico de una composición nutricional enteral líquida que comprende una elevada cantidad de una proteína intacta, en particular de caseína micelar, tratamiento durante el que la viscosidad de dicha composición no aumente, o no aumente significativamente, de manera que un proceso de tratamiento térmico se pueda usar en una ventana de

tiempo/de temperatura mayor, es decir durante un tiempo más largo y/o a una temperatura más alta que los actualmente disponibles en la técnica.

5 [0007] Un problema adicional es proporcionar una composición nutricional enteral líquida que comprenda una elevada cantidad de una proteína intacta, en particular de caseína micelar, con una estabilidad térmica alta, en particular medida como tiempo de coagulación térmica.

10 [0008] Las micelas de caseína, como se pueden encontrar en la caseína micelar, son notablemente estables ante el calor. Su estabilidad se mantiene mediante interacciones hidrofóbicas y electroestáticas, fosfato cálcico coloidal (CCP) y efectos estéricos de cadenas salientes de κ -caseína. Sin embargo, cambios físicos y químicos ocurren en las micelas de caseína durante el calentamiento de la leche debido a cambios en el equilibrio salino. El calentamiento induce la agregación, que es el primer paso para la inestabilidad. Esto es frecuentemente reversible. Sin embargo, posteriormente los agregados pueden coagular, formando así agregados irreversibles, llamados también coágulos. Los cambios en el equilibrio salino se vuelven parcialmente irreversibles con calentamiento por encima de 120 °C, tal como con esterilización a temperatura muy alta; estos incluyen alteraciones en la estructura y composición del fosfato cálcico micelar original a una forma más insoluble. Otros cambios irreversibles que ocurren durante el calentamiento son la hidrólisis de residuos de fosfoserina, degradación de lactosa y liberación de κ -caseína de la micela.

20 [0009] Tras el calentamiento, la coagulación se vuelve visible cuando han emergido agregados grandes o cuando se forma un gel. En la técnica, la resistencia de la leche, en particular la proteína láctea, contra la coagulación durante el calentamiento se llama estabilidad térmica. El tiempo necesitado para la coagulación se llama "tiempo de coagulación térmica", abreviado HCT (Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2006) Dairy science and technology Boc Raton, EE.UU.: CRC press.). El HCT de la leche es altamente dependiente del pH, dado que el pH afecta a la carga de proteína, la cantidad de CCP en la micela y la concentración de iones de calcio libres en la fase sérica. Además, el HCT está influido por el tipo de leche, debido a que el HCT como función del pH es considerablemente diferente para leche de tipo A y B. El HCT de la leche concentrada (7,0 - 9,0 % en peso de proteína) es mucho más inferior que para la leche no concentrada.

30 [0010] La estabilidad térmica de la leche (concentrada) puede manipularse mediante adición de quelantes de calcio, ya que se sabe que afectan a la concentración de iones de calcio libres y así a la integridad de la estructura micelar. Los fosfatos y citratos se usan comúnmente en la industria láctea como estabilizadores de calor. El ortofosfato y el citrato producen un aumento ligeramente diferente de la estabilidad térmica debido a la precipitación de complejos de ortofosfato de calcio en las micelas y la precipitación de complejos de citrato de calcio en la fase sérica. Los polifosfatos, tales como hexametáfosfato de sodio y fitato de sodio, aumentan la estabilidad térmica de la leche mediante la unión a aminoácidos positivamente cargados de la micela de caseína. Los quelantes de calcio pueden también, en una concentración elevada de quelantes, reducir la estabilidad térmica de un sistema lácteo, ya que pueden producir la quelación de un nivel crítico de CCP a partir de la micela de caseína en la que se pierde la integridad de la estructura micelar.

40 [0011] Se ha estudiado ampliamente la estabilidad térmica de la leche normal, leche concentrada, leche evaporada y sistemas micelares de caseína artificiales. Sin embargo, según nuestro conocimiento, ningún estudio ha evaluado de forma sistemática la estabilidad térmica de las soluciones de caseína micelar concentrada (MCI) comerciales en condiciones de pasteurización o de esterilización, por ejemplo, para una esterilización de retorta durante 20 minutos a 270 °C, y para un número de estabilizadores de calor basados en fosfato. Una ventaja de usar soluciones de caseína micelar, tales como preparadas a partir de polvo de MCI, en vez de leche concentrada es que contienen una cantidad pequeña o insignificante de proteína de suero de leche. Además, aunque hay el consenso general de que los fosfatos y el citrato mejoran la estabilidad térmica de los sistemas lácteos, se conoce que la eficacia con la que lo hacen difiere considerablemente dependiendo de la fuente de proteína aplicada.

50 [0012] El documento sin publicar PCT/NL2011/050168 divulga el uso de uno o más agentes quelantes seleccionados del grupo que consiste en un ácido fosfórico, ácido cítrico, una sal de fosfato soluble, una sal de citrato soluble, o una mezcla de los mismos, para controlar independientemente la viscosidad y la transparencia de una composición de caseína micelar acuosa que comprende de 6 a 20 g/100 ml de caseína micelar y con un pH de 6 a 8. No se trata la estabilidad térmica.

Estado de la técnica anterior

60 [0013] El efecto de los fosfatos y el citrato en los cambios físicos de las soluciones lácteas se estudia principalmente en los sistemas lácteos desnatados, donde aproximadamente el 20 % de la proteína es suero de leche, con factores de baja concentración (como máximo ~6,5 % p/v de proteína), y niveles de fosfato o citrato relativamente bajos. Varios de estos estudios se centraron en los geles lácteos o en la gelificación por envejecimiento.

65

[0014] US 5,683,984 divulga una composición de alimentación enteral por sonda con un componente de proteína de caseína micelar nativa. Los problemas de viscosidad se identifican y se tratan en WO 2009/072885, que divulga una composición nutricional enteral líquida de alto contenido en proteínas y energético que contiene caseína y caseinato micelar, y opcionalmente una pequeña cantidad de suero de leche.

[0015] Liang et al. (Nippon Nogei Kagaku Kaishi (1974); 48(1), 49-56) describe los efectos del glicerofosfato en la gelificación de micelas de caseína y en la turbidez en la leche desnatada (que contiene aproximadamente 3 g/100 ml de micelas de caseína).

[0016] WO 01/72135 A1 (Australian Food Industry Science Center) y US 6.455.082 B1 (Nestec) tratan la adición de fosfatos a la leche para estabilizar la leche (con aproximadamente 3 g/100 ml de micelas de caseína). Aunque revelan un efecto en la viscosidad, no enseñan un efecto en un sistema con alto contenido de proteínas, que es mucho más crítico que un sistema con bajo contenido en proteínas tal como la leche con respecto a la viscosidad.

[0017] WO2009/082203 divulga una composición líquida que comprende nucleósidos y/o nucleótidos, proteína y espesante, donde se observa sedimentación reducida de la composición con los espesantes descritos.

Descripción detallada de la invención

[0018] Sorprendentemente, los inventores han identificado ahora los nucleótidos como un nuevo tipo de estabilizadores de calor basados en fosfato con comportamiento de estabilización de calor superior en una composición de caseína micelar que comprende de 9 a 20 g de proteína por 100 ml, donde toda o una gran parte de dicha proteína es caseína micelar, y dicha composición tiene un pH de 6 a 8, en comparación con los estabilizadores de calor comúnmente usados. Los efectos sorprendentes se demuestran en la sección y figuras experimentales anexas. Por lo tanto, la invención se refiere al uso de uno o más nucleótidos para mejorar (es decir, aumentar) la estabilidad térmica durante un tratamiento térmico de una composición de caseína micelar acuosa que comprende de 9 a 20 g de proteína por 100 ml, donde toda o una gran parte de dicha proteína es caseína micelar, y dicha composición tiene un pH de 6 a 8.

[0019] Por "mejora de la estabilidad térmica" en el contexto de la invención se entiende preferiblemente que la composición permanece con baja viscosidad más tiempo y/o carece de formación de agregados durante el calentamiento prolongado. Se guía a la persona experta para determinar la estabilidad térmica utilizando el parámetro HCT introducido con este fin en la técnica.

[0020] Un método para determinar el tiempo de coagulación térmica es la viscosimetría de caída de bola, por ejemplo, utilizando el Klaro-Graph. Este método se describe con más detalle por ejemplo en Van Mil et al (1992). Netherlands Milk and Dairy Journal, 40, 351-368, que describe el Klaro-Graph como un método objetivo para la evaluación continua de la viscosidad aparente aumentada de la leche coagulante. El aumento en la viscosidad aparente se relaciona con la aparición de los primeros flóculos y así con la estabilidad térmica indicada por el HCT.

[0021] Sin embargo, existen otros métodos para determinar el HCT, en su mayoría basados en observación visual, tales como los denominados "Australian Standar Method" ("método estándar australiano") y "Irish Dairy Board method" ("método de la Agencia Irlandesa de Productos Lácteos"), donde muestras se calientan en botellas o tubos de vidrio en un baño de aceite hasta que aparece coagulación visual (Lehmann y Buckin, "Determination of the heat stability profiles of concentrated milk and milk ingredients using high resolution ultrasonic spectroscopy", Journal of Dairy Science, vol 99, p3121-3129 (2005)).

[0022] Otros métodos se basan en cambios en la cantidad de nitrógeno o en la resistencia de un cuerpo en un cilindro a agregados de leche coagulada, tal como el método Klarograph. Estos métodos se consideran de forma intercambiable, lo que significa que el parámetro HCT hallado con un método puede ser fácilmente convertido en el parámetro HCT determinado con otro método.

[0023] En una forma de realización, se prefiere que la mejora implique un aumento en el valor HCT de al menos 10 %, preferiblemente de al menos 20 %, más preferiblemente de al menos 40 %, aún más preferiblemente de al menos 60 %, de la forma más preferible de al menos 80 %, en particular de al menos 100 %, en comparación con la referencia (sin incluir ningún quelante, particularmente sin incluir el uno o más nucleótidos de la invención).

[0024] Un nucleótido está compuesto por una nucleobase (base nitrogenada), un azúcar de cinco carbonos (o ribosa o 2'-desoxirribosa), y de uno a tres grupos fosfato. Juntos, la nucleobase y el azúcar constituyen un nucleósido. Los grupos fosfato forman enlaces con el carbono 2, 3, o 5 del azúcar, más frecuentemente con el sitio del carbono 5. Los ribonucleótidos son nucleótidos donde el azúcar es ribosa y los desoxirribonucleótidos contienen el azúcar 2'-desoxirribosa (tal como en la timidina). En el contexto de la invención, los nucleótidos pueden contener una base de purina, de pirimidina o de hipoxantina. Las bases de purina son adenina y guanina, bases de pirimidina son timina, citosina o uracilo. Un gran beneficio de los nucleótidos según la invención es que

están disponibles comercialmente en el grado de calidad alimentaria, bien como compuestos separados o como una mezcla. El grupo fosfato del nucleótido determina en una medida muy grande la estabilidad de los complejos formados con cationes.

5 [0025] Según una forma de realización, el nucleótido es un ribonucleótido. El ribonucleótido puede ser un ribonucleótido basado en purina, de la forma más preferible un ribonucleótido de monofosfato basado en purina.

[0026] Según una forma de realización preferida, el ribonucleótido es un ribonucleótido basado en pirimidina, preferiblemente basado en uracilo o citosina, más preferiblemente basado en uracilo.

10 [0027] Según otra forma de realización, el nucleótido se selecciona del grupo de monofosfato de uridina (UMP), monofosfato de citidina (CMP), monofosfato de timidina (TMP), monofosfato de guanosina, (GMP) monofosfato de adenosina (AMP) y monofosfato de inosina (IMP). El nucleótido es preferiblemente monofosfato de uridina (UMP) o monofosfato de citidina (CMP), de la forma más preferible UMP.

15 [0028] Según otra forma de realización, el nucleótido se selecciona del grupo de difosfato de uridina (UDP), difosfato de citidina (CDP), difosfato de timidina (TDP), difosfato de guanosina (GDP), difosfato de adenosina (ADP), y difosfato de inosina (IDP). El nucleótido es preferiblemente difosfato de uridina (UDP) o difosfato de citidina (CDP), de la forma más preferible UDP.

20 [0029] Según otra forma de realización, el nucleótido se selecciona del grupo de trifosfato de uridina (UTP), trifosfato de citidina (CTP), trifosfato de timidina (TTP), trifosfato de guanosina (GTP), trifosfato de adenosina (ATP) y trifosfato de inosina (ITP). El nucleótido es preferiblemente trifosfato de uridina (UTP) o trifosfato de citidina (CTP), de la forma más preferible CTP.

25 [0030] En las formas de realización anteriores, la sal de fosfato es preferiblemente una sal de sodio, una sal de potasio, o una mezcla de las mismas, preferiblemente una sal de sodio. Estas sales se prefieren para el desarrollo de composiciones nutricionales, ya que introducen metales como contraiones (por ejemplo, sodio o potasio) que son esenciales en una dieta normal. Se entiende que, en la práctica, un producto no siempre contiene una cantidad equimolar de contraiones metálicos, relativa al ácido fosfórico, aunque el producto se designe como tal. Tales productos también se comprenden en la definición de las sales de fosfato según la invención.

30 [0031] Según una forma de realización, el contraión (por ejemplo, sodio o potasio) está presente en una cantidad inferior o igual a una cantidad equimolar, relativa al ácido. Por ejemplo, una molécula de hexafosfato de inositol puede contener de 1 a 12 contraiones y el producto hexafosfato de inositol puede, por lo tanto, contener moléculas con un número diferente de contraiones, de manera que el equivalente total de contraiones en el producto es menor o igual al equivalente total del hexafosfato de inositol.

35 [0032] Según una forma de realización preferida, el nucleótido es monofosfato de uridina disódica, difosfato de uridina tetrasódica, trifosfato de uridina hexasódica, más preferiblemente monofosfato de uridina disódica.

[0033] Los nucleótidos se disuelven fácilmente en la composición de caseína micelar acuosa a pH de 6 a 8.

40 [0034] El(los) nucleótido(s) se adiciona(n) preferiblemente en una cantidad que varía de 1 a 120 mEq.L⁻¹ de dicho nucleótido, preferiblemente de 5 a 100 mEq.L⁻¹, más preferiblemente de 10 a 80 mEq.L⁻¹, de la forma más preferible de 20 a 60 mEq.L⁻¹, para proporcionar los efectos reivindicados. Por lo tanto, la composición de caseína micelar acuosa termotratada comprende una cantidad de 1 a 120 mEq.L⁻¹, preferiblemente de 5 a 100 mEq.L⁻¹, más preferiblemente de 10 a 80 mEq.L⁻¹, de la forma más preferible de 20 a 60 mEq.L⁻¹ de uno o más nucleótidos.

45 [0035] Preferiblemente, la composición de caseína micelar acuosa termotratada según la invención comprende al menos 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19 g y como mucho 20 g de caseína micelar por 100 ml de composición, preferiblemente de 11 a 18 g/100 ml, más preferiblemente de 12 a 18 g/100 ml, y de la forma más preferible de 14 a 18 g/100 ml.

50 [0036] Preferiblemente, la proteína de caseína micelar es una proteína intacta. En el contexto de esta invención, proteínas "no hidrolizadas" es equivalente a proteínas "intactas", lo que significa que las proteínas no se han sometido, o no se han sometido sustancialmente, a un proceso de hidrólisis. Sin embargo, cantidades menores de proteínas hidrolizadas pueden estar presentes en la fuente de proteínas no hidrolizadas, o se pueden adicionar a la formulación, tales como aminoácidos adicionales, tales como por ejemplo aminoácidos de cadena ramificada, por ejemplo, leucina, isoleucina, valina y similares. En este contexto, "menores" debería entenderse como una cantidad de aproximadamente 10 % en peso o menos, preferiblemente menos del 5 % en peso, basado en proteína total.

55

[0037] En el contexto de esta invención, se entiende que "líquida" o "acuosa" se refiere a una composición a base de agua, tal como una solución o una suspensión, que tiene una viscosidad de 200 mPa.s o menos, como determinado a 20 °C en un reómetro rotacional a una velocidad de cizalladura de 50 s⁻¹. Un valor de aproximadamente 200 mPa.s se define aquí como un límite de viscosidad superior empírico, por encima del cual un sistema líquido tiene una viscosidad inaceptablemente alta para ser bebida fácilmente. Se prefiere proporcionar una composición con una viscosidad inferior a 200 mPa.s, más preferiblemente de 150 mPa.s o menos, más preferiblemente de 120 mPa.s o menos, más preferiblemente de 100 mPa.s o menos, más preferiblemente de 80 mPa.s o menos, de la forma más preferible de 50 mPa.s o menos.

[0038] Preferiblemente, toda o una gran parte de la proteína de la composición de caseína micelar acuosa termotratada comprende caseína micelar, preferiblemente al menos 80 % en peso, con fuentes de proteína que proporcionan la proporción de caseína:suero de leche 80:20. En una forma de realización preferida la composición de caseína micelar acuosa termotratada comprende caseína micelar en una cantidad de al menos 85 % en peso, aún más preferiblemente de al menos 90 % en peso, de la forma más preferible de al menos 95 % en peso de caseína micelar. La aportación de peso de la proteína hidrolizada y los aminoácidos opcionales se tiene en cuenta en el peso de la proteína total. En una forma de realización preferida, la caseína micelar está presente en una cantidad de 85 - 100 % en peso de toda la materia proteínica.

[0039] En el contexto de la presente invención, el término "tratamiento térmico" se entiende que comprende cualquier método que utilice calor (preferiblemente esterilización, pasteurización) para reducir el número de posibles patógenos o eliminarlos. Preferiblemente, un tratamiento térmico incluye un tratamiento térmico a una alta temperatura durante un corto periodo, tal como un tratamiento UHT (temperatura ultra elevada).

[0040] En una forma de realización, las condiciones de calentamiento se seleccionan de acuerdo con aquellas presentadas en WO-A-03/-11040, cuyo contenido se incorpora aquí por referencia. El tratamiento térmico es preferiblemente una temperatura de al menos 60 °C, preferiblemente de al menos 70 °C, e inferior a 200 °C, más preferiblemente inferior a 160 °C, durante un periodo de tiempo igual a o al menos t, periodo de calentamiento t que se determina mediante la fórmula siguiente:

$$t = (500/(T - 59)) - 4,$$

donde t es la duración del calentamiento (en segundos) y T es la temperatura de calentamiento (en °C). Más preferiblemente, las condiciones de calentamiento máximo obedecidas se determinan mediante la fórmula siguiente:

$$t = (90000/(T - 59)) - 900,$$

donde t y T tienen el significado mencionado anteriormente. El tratamiento térmico implica preferiblemente un periodo de 0,1 seg a 24 horas. Se prefiere particularmente que el tiempo de calentamiento varíe de 10 s - 1 hora, más preferiblemente de al menos 10 minutos. Las temperaturas mínimas y máximas correspondientes preferidas se pueden calcular con las fórmulas anteriores.

[0041] Adicionalmente o alternativamente, el "calentamiento térmico" se caracteriza por un "valor de esterilización" o valor "F-cero" (F0) mínimo de al menos 2,8 (min), más preferiblemente de al menos 3 min, de la forma más preferible de al menos 4 minutos, en particular de al menos 4,5 minutos. Es un parámetro estandarizado y aprobado por la FDA. Para cualquier combinación de tiempo y temperatura, el valor de esterilización F0 son los minutos equivalentes a 121 °C (250 °F). En F0 = 2,8 min, se inactiva el *Clostridium botulinum*.

[0042] En una forma de realización, el tratamiento térmico preferido es esterilización o pasteurización, donde ambos tienen significados técnicos bien establecidos en la técnica. De aquí en adelante, en el contexto de la presente invención, la pasteurización se comprende en el término esterilización. En el contexto de la presente invención, una "composición termotrada" es una composición que se obtiene u obtenible sometiendo una composición a un tratamiento de esterilización. En general, la cantidad de microorganismos potencialmente patogénicos de la composición esterilizada cumple los requisitos de seguridad alimentaria de aplicación por ejemplo en EE.UU. o en la UE. En particular, una composición termotratada conforme a la invención mantiene el cumplimiento de tal requisito durante al menos 6 meses, preferiblemente al menos 12 meses después del envasado, al principio del tiempo de conservación, cuando se almacena en un envase sellado a temperatura ambiente (20 °C). Se prefiere particularmente que los cambios en la estabilidad, por ejemplo, la viscosidad, sean insignificantes durante tal periodo, preferiblemente un cambio de menos del 10 %, más preferiblemente un cambio de menos del 5 %.

[0043] El pH de la composición de caseína micelar acuosa termotratada debería estar entre 6 y 8. El pH se determina en la composición de caseína micelar acuosa y esto se puede hacer mediante métodos rutinarios, conocidos por la persona experta, tal como utilizando un dispositivo de medida de pH disponible comercialmente.

[0044] La caseína micelar, a veces también referida como caseína micelar "nativa", se refiere a caseína en forma de micelas, que es la forma nativa de la caseína en la leche. Es una proteína láctea de alta calidad y de origen natural en la leche en una concentración de aproximadamente 2,6 g/100 ml. Se concentra mediante un proceso que no desnatura, o no desnatura sustancialmente, las proteínas de caseína y se comercializa como aislado de caseína micelar (MCI) en polvo. La leche desnatada fresca se somete a un proceso de microfiltración, en casi el mismo proceso usado para concentrar proteína de suero de leche, para producir una proteína láctea pura sustancialmente no desnaturada con su estructura nativa. El material resultante contiene entre 90 % y 100 %, preferiblemente más del 95 % en peso de caseína micelar en sustancia seca, el resto es proteína de suero de leche, nitrógeno no proteínico y otros componentes, tales como lactosa y sales inorgánicas, en particular fosfato cálcico. Las micelas de caseína tienen generalmente un radio hidrodinámico de 40 a 400 nm, un peso molecular de 106 a 109 kDa y una proporción en peso de calcio:fósforo de 1,4 a 2,4, donde el contenido en calcio es muy alto, en el orden de aproximadamente 25 g/kg de proteína. Tiene una baja viscosidad intrínseca y una composición líquida que comprende dicho MCI es, por lo tanto, fácil de beber. La cantidad de iones metálicos monovalentes, en particular Na y K, es muy baja, típicamente en el rango de aproximadamente 1 a 2 g/kg de proteína.

[0045] En cambio, el caseinato se refiere a la forma cuajada de la caseína, que ha perdido su estructura micelar nativa. Está vinculada a un metal, tal como sodio, potasio, calcio y magnesio.

[0046] En el contexto de esta invención, se entiende que la caseína micelar también se puede proporcionar mediante otras fuentes de proteínas lácteas, tales como, por ejemplo, fuentes que preservan esencialmente la proporción natural 80:20 de caseína y suero de leche, tales como concentrado de proteína láctea (MPC), que es un producto en polvo normalmente preparado por ultrafiltración con un contenido de proteínas medio de aproximadamente el 80 % en peso, aislado de proteína láctea (MPI), un producto en polvo normalmente preparado por precipitación con un contenido de proteínas medio superior al 85 % en peso, y leche concentrada desnatada. La caseína micelar también se puede proporcionar en forma líquida vía un ultrafiltrado o microfiltrado.

Composición nutricional

[0047] La composición de caseína micelar acuosa termotratada puede contener además otros componentes nutricionales, tales como una fuente de grasa, una fuente de carbohidrato digerible y una fuente de carbohidrato no digerible, al igual que vitaminas, minerales y similares. La composición nutricional es obtenible u obtenida por un proceso de fabricación donde se ha sometido a tratamiento térmico (preferiblemente esterilizada o pasteurizada) en presencia de uno o más nucleótidos según la invención.

[0048] En una forma de realización preferida, la invención se dirige a una composición nutricional que comprende de 9 a 20 g de proteína por 100 ml de la composición y que tiene un pH de 6 a 8, donde toda o una gran parte de dicha proteína comprende caseína micelar, que comprende uno o más nucleótidos según la invención. La cantidad de nucleótido(s) añadida a la composición varía de 1 a 120 mEq.L⁻¹, preferiblemente de 5 a 100 mEq.L⁻¹, más de 10 a 80 mEq.L⁻¹, de la forma más preferible de 20 a 60 mEq.L⁻¹. El(los) nucleótido(s) podría(n) seleccionarse conforme a una o más de las formas de realización anteriormente descritas.

[0049] Preferiblemente, la composición nutricional según la invención comprende al menos 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19 g y como mucho 20 g de proteína por 100 ml de composición, preferiblemente de 11 a 18 g/100 ml, más preferiblemente de 12 a 18 g/100 ml, y de la forma más preferible de 14 a 18 g/100 ml, donde toda o una gran parte de dicha proteína comprende caseína micelar.

[0050] En el contexto de esta aplicación, la expresión redacción "toda o una gran parte de" en relación con la caseína micelar debería interpretarse como una cantidad de caseína micelar que varía del 70 al 100 % de la proteína total, preferiblemente 80 - 98 %, más preferiblemente 90 - 95 %. El término "proteína total" también incluye proteínas hidrolizadas y aminoácidos opcionales.

[0051] Según otra forma de realización de la presente invención, la composición nutricional de la invención comprende opcionalmente 0 - 30 % en peso, preferiblemente 1 - 30 % en peso, más preferiblemente 2 - 20 % en peso, de la forma más preferible 5 - 10 % en peso de caseinato, basado en el peso total de la proteína.

[0052] Según otra forma de realización de la presente invención, la proteína proporciona del 10 % al 100 %, preferiblemente del 20 % al 80 %, más preferiblemente del 30 % al 70 %, de la forma más preferible del 30 % al 60 % del contenido energético total de la composición. El "% de contenido energético total" se abrevia también como En%; En% es por tanto la abreviatura de porcentaje de energía y representa la cantidad relativa que contribuye un constituyente al valor calórico total de la composición. Los niveles elevados de proteína son beneficiosos para pacientes que puede que no sean físicamente capaces de recibir un volumen grande, por ejemplo, los pacientes con restricciones de fluidos. A tales pacientes se les puede dar un nivel reducido de fluido mientras que todavía reciben una cantidad requerida de soporte nutricional al día. La composición se puede utilizar como una nutrición completa, además de o como una sustitución para un consumo de comida normal. La

composición también se puede usar como un suplemento, además del consumo de comida normal, cuando la absorción de grasas y carbohidratos es menos preocupante.

5 [0053] Según otra forma de realización de la presente invención, la composición nutricional tiene una densidad energética de al menos 0,36 kcal/ml, más preferiblemente de al menos 1,0 kcal/ml, particularmente de al menos 1,5 kcal/ml de la composición, más en particular de al menos 2,0 kcal/ml.

10 [0054] Aunque la composición tiene una alta densidad energética, por usar los nucleótidos según la invención, también puede tener una viscosidad lo suficientemente baja como para permitir su consumo por personas que pueden tener dificultades para tragar grandes cantidades de líquido o aquellas que se alimentan por sonda. Por lo tanto, en una forma de realización, la composición nutricional es un líquido, preferiblemente con una viscosidad inferior a 200 mPa.s, preferiblemente inferior a 80 mPa.s, preferiblemente inferior a 70 mPa.s, más preferiblemente 50 mPa.s, todavía más preferiblemente inferior a 40 mPa.s, de la forma más preferible inferior a aproximadamente 20 mPa.s, como determinado a 20 °C en un reómetro rotacional a una velocidad de cizalladura de 50 s⁻¹.

15 [0055] En una forma de realización de la presente invención, la cantidad de caseína micelar en la composición nutricional según la invención es de al menos 70 % en peso, preferiblemente de al menos 80 % en peso, más preferiblemente de al menos 90 % en peso, más preferiblemente de al menos 95 % en peso y como mucho del 100 % en peso de la proteína total presente en la composición nutricional.

20 [0056] Como se ha mencionado anteriormente, la composición nutricional de la presente invención no debería contener grandes cantidades de proteínas que no sean caseína micelar y, según una forma de realización, opcionalmente como mucho 30 % en peso de caseinato. En otra forma de realización de la presente invención, la composición nutricional puede comprender 0 - 15 % en peso de suero de leche, preferiblemente 0,5 - 10 % en peso de suero de leche, más preferiblemente de 1 a 10 % en peso de la proteína total presente en la composición nutricional; en una forma de realización, la composición comprende menos del o igual al 5 % en peso de suero de leche de la proteína total presente en la composición nutricional.

25 [0057] En una forma de realización de la presente invención, la proporción en peso de caseína micelar para caseinato varía de aproximadamente 100:0 a aproximadamente 70:30. Preferiblemente, la proporción en peso de caseína micelar para caseinato varía de aproximadamente 80:20 a aproximadamente 100:0.

30 [0058] La composición nutricional según la invención se diseña o para complementar la dieta de una persona o para proporcionar un soporte nutricional completo. Por lo tanto, la composición según la invención puede comprender además al menos grasa y/o carbohidrato y/o una fuente de vitaminas, minerales, oligoelementos y/o una fuente de carbohidratos indigeribles. Preferiblemente, la composición según la invención es una composición nutricional completa.

35 [0059] También se describe un método de provisión de nutrición a una persona que lo necesite, que incluye los pasos de administrar a dicha persona la composición nutricional como se describe aquí. La persona es preferiblemente una persona mayor, una persona que esté en un estado de enfermedad, una persona que se esté recuperando de un estado de enfermedad, una persona que esté desnutrida o una persona sana tal como un o una deportista o una persona mayor activa. En este aspecto, se afirma que, en el contexto de esta aplicación, una persona mayor es una persona de edad de 50 o más, en particular de edad de 55 o más, más en particular de edad de 60 o más, más en particular de edad de 65 o más.

Grasa

40 [0060] En una forma de realización, la presente composición nutricional enteral líquida comprende además grasa. La cantidad de grasa puede variar entre 5 y 95 %, preferiblemente entre 10 y 70 %, más preferiblemente entre 20 y 40 %, en relación al contenido energético total de la composición.

45 [0061] Con respecto al tipo de grasa, una elección amplia es posible, siempre y cuando la grasa sea de calidad alimentaria. La grasa puede ser o una grasa animal o una grasa vegetal o ambas. Aunque las grasas animales tales como la manteca o la mantequilla tienen valores calóricos y nutricionales esencialmente iguales y se pueden usar de forma intercambiable, los aceites vegetales son altamente preferidos en la práctica de la presente invención debido a su fácil disponibilidad, facilidad de formulación, ausencia de colesterol y concentración inferior de ácidos grasos saturados. En una forma de realización, la presente composición comprende aceite de colza, aceite de maíz y/o aceite de girasol.

50 [0062] La grasa puede incluir una fuente de ácidos grasos de cadena media, tales como triglicéridos de cadena media (MCT, principalmente con una longitud de 8 a 10 átomos de carbono), una fuente de ácidos grasos de cadena larga, tales como triglicéridos de cadena larga (LCT) y ácidos grasos ligados a fosfolípidos tales como EPA o DHA ligados a fosfolípidos, o cualquier combinación de los dos tipos de fuentes. Los MCT son beneficiosos porque son fácilmente absorbidos y metabolizados en un paciente metabólicamente estresado.

Además, el uso de MCT reducirá el riesgo de malabsorción de nutrientes. Fuentes de LCT, tales como aceite de canola, aceite de colza, aceite de girasol, aceite de soja, aceite de oliva, aceite de coco, aceite de palma, aceite de linaza, aceite marino o aceite de maíz son beneficiosas porque se conoce que el LCT puede modular la respuesta inmune en el cuerpo humano.

5

[0063] En una forma de realización específica, la grasa comprende de 30 a 60 % en peso de grasa animal, de algas o fúngica, de 40 a 70 % en peso de grasa vegetal y opcionalmente de 0 a 20 % en peso de MCT basado en la grasa total de la composición. La grasa animal preferiblemente comprende una cantidad baja de grasa láctea, es decir inferior al 6 % en peso, especialmente inferior a 3 % en peso basado en la grasa total. En particular, se usa una mezcla de aceite de maíz, aceite de huevo, y/o aceite de canola y cantidades específicas de aceite marino. Los aceites de huevo, aceites de pescado y aceites de algas son una fuente preferida de grasas no vegetales. Especialmente para composiciones que se deben consumir por vía oral, para prevenir la formación de sabores extraños y para reducir un regusto a pescado, resulta recomendado seleccionar constituyentes que sean relativamente bajos en ácido docosahexaenoico (DHA), es decir menos del 6 % en peso, preferiblemente menos del 4 % en peso basado en la grasa total. Los aceites marinos que contienen DHA están preferiblemente presentes en la composición según la invención en una cantidad inferior al 25 % en peso, preferiblemente inferior al 15 % en peso basado en la grasa total. Por otro lado, la inclusión de ácido eicosapentanoico (EPA) es altamente deseable para obtener el máximo efecto para la salud. Por lo tanto, en otra forma de realización, la cantidad de EPA puede variar entre el 4 % en peso y el 15 % en peso, más preferiblemente entre el 8 % en peso y el 13 % en peso basado en la grasa total. La proporción en peso EPA:DHA es ventajosamente al menos 6:4, por ejemplo entre 2:1 y 10:1. En otra forma de realización, la cantidad de EPA es muy baja, tal como de 0,1 a 1 % en peso, preferiblemente 0,3 % en peso o 0,6 % en peso, basado en la grasa total.

10

15

20

25

[0064] También, la composición nutricional según la invención puede comprender beneficiosamente un emulsionante. Los emulsionantes comúnmente conocidos se pueden utilizar y generalmente el emulsionante contribuye al contenido energético de la grasa en dicha composición.

30

Carbohidrato digerible

[0065] En una forma de realización de la presente invención, la composición nutricional según la invención comprende además un carbohidrato digerible. Preferiblemente, el carbohidrato digerible proporciona entre 30 y 60 % del contenido energético total de la composición según la invención. El carbohidrato digerible puede comprender carbohidratos o simples o complejos, o cualquier mezcla de los mismos. Son adecuados para usar en la presente invención la glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa, trehalosa, palatinosa, jarabe de maíz, malta, maltosa, isomaltosa, almidón de maíz parcialmente hidrolizado, maltodextrinas, oligo y polisacáridos de glucosa.

35

40

[0066] La composición del carbohidrato digerible es preferiblemente tal que se eviten viscosidades altas, dulzor excesivo, pardeamiento excesivo (reacciones de Maillard) y osmolaridades excesivas. Las viscosidades y osmolaridades aceptables se pueden conseguir por ajuste de la longitud de cadena media (grado medio de polimerización, DP) de los carbohidratos digeribles entre 1,5 y 6, preferiblemente entre 1,8 y 4. Para evitar el dulzor excesivo, el nivel total de sacarosa y fructosa es preferiblemente inferior al 60 %, más preferiblemente inferior al 52 %, más preferiblemente inferior al 40 % del peso del carbohidrato, especialmente del carbohidrato digerible. Los carbohidratos digeribles de cadena larga como el almidón, fracciones de almidón e hidrolizados de almidón moderado ($DE > 1$, $DE < 20$), también pueden estar presentes, preferiblemente en una cantidad inferior a 25 % en peso, especialmente menos del 15 % en peso del carbohidrato digerible, y menos de 6 g/100 ml, preferiblemente menos de 4 g/100 ml de la composición nutricional enteral líquida total según la invención.

45

50

[0067] En una forma de realización de la presente invención, el carbohidrato digerible incluye maltodextrina (es decir polímero de glucosa) con una elevada DE (dextrina equivalente). En una forma de realización el carbohidrato digerible incluye maltodextrina con una $DE > 10$, preferiblemente una $DE > 20$, más preferiblemente > 30 o incluso > 40 , tal como una DE de aproximadamente 47. En una forma de realización de la presente invención, el carbohidrato digerible incluye maltodextrina con una $DE > 10$ y sacarosa.

55

[0068] Sorprendentemente, el uso de maltodextrina genera pocos productos o ninguno de reacción de Maillard tras el calentamiento. Sin estar ligado a ninguna explicación, este efecto se puede atribuir al hecho de que la estructura micelar compacta de la caseína micelar ofrece pocos sitios de reacción de lisina para una reacción de Maillard. En una forma de realización de la presente invención, el carbohidrato digerible incluye maltodextrina con una elevada DE en una cantidad de al menos 35 % en peso, preferiblemente de al menos 50 % en peso, preferiblemente de al menos 65 % en peso, preferiblemente al menos 90 % en peso del peso total de carbohidrato digerible. En una forma de realización de la presente invención, el carbohidrato digerible incluye maltodextrina con una baja DE de 2 a 20. En una forma de realización de la presente invención, el carbohidrato digerible incluye maltodextrina con una baja DE de 2 a 10, preferiblemente con una baja DE de aproximadamente 2. En una forma de realización de la presente invención, el carbohidrato digerible incluye maltodextrina con una baja DE en una cantidad inferior al 35 % en peso, preferiblemente inferior al 20 % en

60

65

peso, preferiblemente inferior al 10 % en peso del carbohidrato digerible. La maltodextrina con una baja DE también se puede referir como maltodextrina. En otra forma de realización de la presente invención, el carbohidrato digerible incluye maltodextrina con una elevada DE, preferiblemente una DE de > 20, preferiblemente > 30 o incluso > 40, de la forma más preferible una DE de aproximadamente 47 en combinación con maltodextrina con una baja DE, preferiblemente una baja DE de 2 a 20, más preferiblemente una baja DE de 2 a 10, de la forma más preferible con una baja DE de aproximadamente 2. Como se conoce, la maltodextrina con una elevada DE, tal como de aproximadamente 47 da lugar a una viscosidad baja, pero es muy dulce. La combinación de ambas maltodextrinas optimiza el equilibrio entre dulzor y viscosidad. En una forma de realización de la presente invención, el carbohidrato digerible incluye al menos 65 % en peso, preferiblemente al menos 90 % en peso, basado en peso total de carbohidrato digerible de maltodextrina con una DE > 40, preferiblemente con una DE de aproximadamente 47 y de 0 a 10 % en peso de maltodextrina con una DE 2 a 10, preferiblemente con una DE de aproximadamente 2.

[0069] En otra forma de realización de la presente invención, el carbohidrato digerible incluye trehalosa. Es uno de los objetos principales de la invención proporcionar una composición nutricional con una viscosidad baja. La sacarosa se adecúa muy bien para este fin, pero da lugar a composiciones muy dulces, que resultan en general desagradables para el consumidor. La maltodextrina con una baja DE, tal como de aproximadamente 2, no padece el último inconveniente, pero da lugar a una alta viscosidad. La maltodextrina con una elevada DE, tal como de aproximadamente 47 da lugar a una viscosidad baja, pero es nuevamente muy dulce, y da además lugar a reacciones de Maillard indeseadas. La trehalosa es una elección preferida de carbohidrato, ya que da lugar a una viscosidad baja, ninguna reacción de Maillard indeseada y tiene aproximadamente la mitad de dulzor que la sacarosa. En una forma de realización de la presente invención, el carbohidrato digerible incluye trehalosa en una cantidad del 20 % al 60 % del peso del carbohidrato, en una cantidad del 20 % al 45 %, más preferiblemente en una cantidad del 25 % al 45 % del peso del carbohidrato digerible.

Vitaminas, minerales y oligoelementos

[0070] La composición según la invención puede contener una variedad de vitaminas, minerales y oligoelementos.

[0071] En una forma de realización de la presente invención, la composición según la invención proporciona todas las vitaminas necesarias, la mayor parte de los minerales y oligoelementos. Por ejemplo, la composición según la invención proporciona preferiblemente 6 mg de zinc por 100 ml de la composición, lo que es beneficioso para la reparación de tejido en un paciente en curación. Preferiblemente, la composición según la invención (también) proporciona 25 mg de vitamina C por 100 ml de la composición para ayudar a pacientes con requisitos de curación más graves. Además, preferiblemente, la composición según la invención (también) proporciona 2,25 mg de hierro por 100 ml de la composición. El hierro es beneficioso para el mantenimiento de fluidos corporales además de las funciones del sistema circulatorio en un paciente mayor.

[0072] La invención implica que una composición según la presente invención puede contener niveles de sodio y/o potasio fuera de los niveles de legislación de los FSMP (alimentos para fines médicos especiales).

Carbohidratos no digeribles

[0073] La composición nutricional enteral líquida según la invención puede opcionalmente enriquecerse con carbohidratos no digeribles (fibras dietéticas) tales como fructooligosacáridos o inulina. En una forma de realización de la presente invención, la composición según la invención comprende de 0,5 g/100 ml a 6 g/100 ml de carbohidratos no digeribles. Las fibras dietéticas incluyen oligosacáridos no digeribles con un DP de 2 a 20, preferiblemente de 2 a 10. Más preferiblemente, estos oligosacáridos no contienen cantidades sustanciales (menos del 5 % en peso) de sacáridos fuera de estos rangos de DP, y son solubles. Estos oligosacáridos pueden comprender fructooligosacáridos (FOS), transgalactooligosacáridos (TOS), xilooligosacáridos (XOS), oligosacáridos de soja y similares. Opcionalmente, también compuestos de peso molecular más alto tales como inulina, polisacáridos de soja, polisacáridos de acacia (fibra de acacia o goma arábiga), celulosa, almidón resistente y similares se pueden incorporar en la composición según la invención. La cantidad de fibra insoluble tal como celulosa es preferiblemente inferior al 20 % en peso de la fracción de fibra dietética de la composición según la invención, y/o inferior a 0,6 g/100 ml. La cantidad de polisacáridos espesantes tales como carragenanos, xantanos, pectinas, galactomananos y otros polisacáridos indigeribles con peso molecular más alto (DP > 50) es preferiblemente baja, es decir inferior al 20 % del peso de la fracción de fibra, o inferior a 1 g/100 ml. En cambio, los polisacáridos hidrolizados tales como pectinas y galactomananos hidrolizados se pueden incluir ventajosamente.

[0074] Un componente de fibra preferido es un oligosacárido indigerible con una longitud de cadena (DP) de 2 a 10, por ejemplo, Fibersol® (oligoglucosa resistente), en particular Fibersol® hidrogenada, o una mezcla de oligosacáridos con un DP de 2 a 10, tales como fructooligosacáridos o galactooligosacáridos, que pueden también contener una pequeña cantidad de sacáridos más elevados (por ejemplo, con un DP de 11 a 20). Tales

oligosacáridos preferiblemente comprenden del 50 % en peso al 90 % en peso de la fracción de fibra, o de 0,5 g/100 ml a 3 g/100 ml de la composición según la invención. Otros componentes de fibra adecuados incluyen sacáridos que tienen solo digestibilidad parcial.

5 [0075] En una forma de realización particular, la composición según la invención comprende uno o más de fructooligosacáridos, inulina, polisacáridos de acacia, polisacáridos de soja, celulosa y almidón resistente.

[0076] En otra forma de realización de la presente invención, la composición según la invención puede comprender una mezcla de oligosacáridos neutros y ácidos como se describe en WO 2005/039597 (N.V. Nutricia), que se incorpora aquí por referencia en su totalidad. Más en particular, el oligosacárido ácido tiene un grado de polimerización (DP) de entre 1 y 5000, preferiblemente de entre 1 y 1000, más preferiblemente de entre 2 y 250, aún más preferiblemente de entre 2 y 50, de la forma más preferible de entre 2 y 10. Si se usa una mezcla de oligosacáridos ácidos con grados diferentes de polimerización, el DP medio de la mezcla de oligosacárido ácido es preferiblemente de entre 2 y 1000, más preferiblemente de entre 3 y 250, aún más preferiblemente de entre 3 y 50. El oligosacárido ácido puede ser un carbohidrato homogéneo o heterogéneo. Los oligosacáridos ácidos se pueden preparar a partir de pectina, pectato, alginato, condroitina, ácidos hialurónicos, heparina, heparano, carbohidratos bacterianos, sialoglicanos, fucoidano, fucooligosacáridos o carragenano, y se obtienen preferiblemente a partir de pectina o alginato. Los oligosacáridos ácidos se pueden preparar por los métodos descritos en WO 01/60378, que se incluye aquí por referencia. El oligosacárido ácido se obtiene preferiblemente a partir de pectina de alto contenido de metoxilo, que se caracteriza por un grado de metoxilación por encima del 50 %. Como se utiliza en este caso, "un grado de metoxilación" (también referido como DE o "grado de esterificación") se destina para significar la extensión a la que grupos de ácido carboxílico libres contenidos en la cadena de ácido poligalacturónico han sido esterificados (por ejemplo, por metilación). Los oligosacáridos ácidos son preferiblemente caracterizados por un grado de metoxilación por encima del 20 %, preferiblemente por encima del 50 % aún más preferiblemente por encima del 70 %. Preferiblemente los oligosacáridos ácidos tienen un grado de metilación por encima del 20 %, preferiblemente por encima del 50 % aún más preferiblemente por encima del 70 %. El oligosacárido ácido se administra preferiblemente en una cantidad de entre 10 mg y 100 gramos al día, preferiblemente de entre 100 mg y 50 gramos al día, aún más de entre 0,5 y 20 gramos al día.

[0077] El término oligosacáridos neutros como se usa en la presente invención se refiere a sacáridos que tienen un grado de polimerización de unidades de monosa superior a 2, más preferiblemente superior a 3, aún más preferiblemente superior a 4, de la forma más preferible superior a 10, que no son digeridos o solo lo son parcialmente en el intestino por la acción de ácidos o enzimas digestivas presentes en el tracto digestivo superior humano (intestino delgado y estómago), pero que se fermentan por la flora intestinal humana y carecen preferiblemente de grupos ácidos. El oligosacárido neutro es diferente estructuralmente (químicamente) del oligosacárido ácido. El término oligosacárido neutro como se usa en la presente invención se refiere preferiblemente a sacáridos que tienen un grado de polimerización del oligosacárido inferior a 60 unidades de monosa, preferiblemente inferior a 40, aún más preferiblemente inferior a 20, de la forma más preferible inferior a 10. El término unidades de monosa se refiere a unidades con una estructura anular cerrada, preferiblemente hexosa, por ejemplo, las formas piranosa o furanosa. El oligosacárido neutro preferiblemente comprende al menos 90 %, más preferiblemente al menos 95 % de unidades de monosa seleccionadas del grupo que consiste en manosa, arabinosa, fructosa, fucosa, ramnosa, galactosa, beta-D-galactopiranososa, ribosa, glucosa, xilosa y derivados de las mismas, calculado en el número total de unidades de monosa contenidas en el mismo. Los oligosacáridos neutros adecuados son preferiblemente fermentados por la flora intestinal. Preferiblemente el oligosacárido se selecciona del grupo consistente en: celobiosa (4-O-β-D-glucopiranosil-D-glucosa), celodextrinas ((4-O-β-D-glucopiranosil)_n-D-glucosa), B-ciclodextrinas (moléculas cíclicas de D-glucosa con enlaces en α-1-4; hexámero de α-ciclodextrina, heptámero de β-ciclodextrina y octámero de γ-ciclodextrina), dextrina indigerible, gentiooligosacáridos (mezcla de residuos de glucosa enlazados en β-1-6, algunos enlaces 1-4), glucooligosacáridos (mezcla de α-D-glucosa), isomaltooligosacáridos (residuos de glucosa lineal con enlace α-1-6 con algunos enlaces 1-4), isomaltosa (6-O-α-D-glucopiranosil-D-glucosa); isomaltrosa (6-O-α-D-glucopiranosil-(1-6)-α-D-glucopiranosil-D-glucosa), panosa (6-O-α-D-glucopiranosil-(1-6)-α-D-glucopiranosil-(1-4)-D-glucosa), leucrosa (5-O-α-D-glucopiranosil-D-fructopiranosida), palatinosa o isomaltulosa (6-O-α-D-glucopiranosil-D-fructosa), teanderosa (O-α-D-glucopiranosil-(1-6)-O-α-D-glucopiranosil-(1-2)-B-D-fructofuranosida), d-agatosa, D-lixo-hexulosa, lactosacarosa (O-(3-D-galactopiranosil-(1-4)-O-α-D-glucopiranosil-(1-2)-(3-D-fructofuranosida), α-galactooligosacáridos que incluyen rafinosa, estaquiosa y otros oligosacáridos de soja (O-α-D-galactopiranosil-(1-6)-α-D-glucopiranosil-β-D-fructofuranosida), β-galactooligosacáridos o transgalactooligosacáridos (β-D-galactopiranosil-(1-6)-[β-D-glucopiranosil]_n-(1-4) α-D-glucosa), lactulosa (4-O-β-D-galactopiranosil-D-fructosa), 4'-galatosilactosa (O-D-galactopiranosil-(1-4)-O-β-D-glucopiranosil-(1-4)-D-glucopiranososa), galactooligosacárido sintético (neogalactobiosa, isogalactobiosa, galsucrosa, isolactosa I, II y III), fructanos - tipo levano (β-D-(2→6)-fructofuranosil)_n-α-D-glucopiranosida, fructanos - tipo inulina (β-D-((2→1)-fructofuranosil)_n-α-D-glucopiranosida), 1 f-β-fructofuranosilnistosa (β-D-((2→1)-fructofuranosil)_n B-D-fructofuranosida), xilooligosacáridos (B-D-((1→4)-xilosa)_n), lafinosa, lactosacarosa y arabinooligosacáridos.

65 [0078] Según una forma de realización preferida adicional, el oligosacárido neutro se selecciona del grupo consistente en fructanos, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos de dextrinas indigeribles (incluidos

transgalactooligosacáridos), xilooligosacáridos, arabinooligosacáridos, glucooligosacáridos, mananooligosacáridos, fucooligosacáridos y mezclas de los mismos. De la forma más preferible, el oligosacárido neutro se selecciona del grupo consistente en fructooligosacáridos, galactooligosacáridos y transgalactooligosacáridos.

5 [0079] Los oligosacáridos adecuados y sus métodos de producción se describen en detalle en Laere K.J.M. (Laere, K.J.M., Degradation of structurally different non-digestible oligosaccharides by intestinal bacteria: glycosylhydrolases of *Bi. adolescentis*. Tesis de doctorado (2000), Wageningen Agricultural University, Wageningen, Países Bajos), todo el contenido del cual se incorpora aquí por referencia. Los
10 transgalactooligosacáridos (TOS) son por ejemplo vendidos bajo la marca registrada Vivinal™ (Borculo Domo Ingredients, Países Bajos). La dextrina indigerible, que se puede producir por pirólisis de almidón de maíz, comprende enlaces $\alpha(1\rightarrow4)$ y $\alpha(1\rightarrow6)$ glucosídicos, como están presentes en el almidón natural, y contiene
15 enlaces 1 \rightarrow 2 y 1 \rightarrow 3 y levoglucosano. Debido a estas características estructurales, la dextrina indigerible contiene partículas ramificadas bien desarrolladas que se hidrolizan parcialmente por enzimas digestivas humanas. Otras numerosas fuentes comerciales de oligosacáridos indigeribles están fácilmente disponibles y son conocidas por la persona experta. Por ejemplo, el transgalactooligosacárido está disponible de Yakult
Honsha Co., Tokio, Japón. El oligosacárido de soja está disponible de Calpis Corporation distribuido por Ajinomoto EE.UU. Inc., Teaneck, N.J.

20 [0080] En otra forma de realización preferida, la composición según la invención comprende un oligosacárido ácido con un DP de entre 2 y 250, obtenido a partir de pectina, alginato, y mezclas de los mismos; y un oligosacárido neutro, seleccionado del grupo que consiste en fructanos, fructooligosacáridos, dextrinas indigeribles, galactooligosacáridos que incluyen transgalactooligosacáridos, xilooligosacáridos,
25 arabinooligosacáridos, glucooligosacáridos, mananooligosacáridos, fucooligosacáridos, y mezclas de los mismos.

[0081] En otra forma de realización preferida, la composición según la invención comprende dos oligosacáridos neutros diferentes químicamente. Se ha observado que la administración de oligosacáridos ácidos combinada con dos oligosacáridos neutros diferentes químicamente proporciona un efecto estimulador inmunitario
30 sinérgico óptimo. Preferiblemente la composición según la invención comprende:

- un oligosacárido ácido tal como se ha definido anteriormente;
- 35 – un oligosacárido neutro basado en galactosa (del que más del 50 % de las unidades de monosa son unidades de galactosa), preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en galactooligosacárido y transgalactooligosacárido; y
- 40 – una fructosa y/o oligosacárido neutro basado en glucosa (del que más del 50 % de las unidades de monosa son fructosa y/o glucosa, preferiblemente unidades de fructosa), preferiblemente inulina, fructano y/o fructooligosacárido, de la forma más preferible fructooligosacárido de cadena larga (con un DP medio de 10 a 60).

[0082] La mezcla de oligosacáridos ácidos y neutros se administra preferiblemente en una cantidad de entre 10 mg y 100 gramos al día, preferiblemente de entre 100 mg y 25 gramos al día, aún más preferiblemente de entre
45 0,5 y 20 gramos al día.

Viscosidad y osmolaridad

[0083] En el contexto de esta invención, la viscosidad se mide preferiblemente en un reómetro rotacional utilizando una geometría de placa y plato a 20 °C a una velocidad de cizalladura de 50 s⁻¹. Sin embargo, alternativamente se puede aplicar geometría de copa y bobina

[0084] En una forma de realización de la presente invención, la viscosidad de la composición nutricional líquida enteral es inferior a 200 mPa.s, más preferiblemente inferior a 150 mPa.s, más preferiblemente inferior a 120 mPa.s, más preferiblemente inferior a 100 mPa.s, más preferiblemente inferior a 80 mPa.s, y de la forma más preferible inferior a 50 mPa.s. Una viscosidad baja es ideal para administrar por vía oral la composición nutricional enteral líquida según la invención porque una persona puede fácilmente consumir una porción con una viscosidad baja tal como se muestra en la presente invención. Esto es ideal también para dosificaciones unitarias que se pasan por sonda.
60

[0085] En otra forma de realización de la presente invención, la composición de baja viscosidad se puede usar como base para la fabricación de una composición nutricional líquida enteral con una viscosidad superior a 200 mPa.s, más preferiblemente superior a 400 mPa.s, más preferiblemente superior a 600 mPa.s. Una elevada viscosidad es ideal para producir un pudín, un gel o una composición semisólida o semilíquida. Esto es ideal también para dosificaciones unitarias que se pueden tomar con cuchara.
65

[0086] En una forma de realización de la presente invención, la osmolaridad de la composición es preferiblemente inferior a 1200 mOsm/l, más preferiblemente inferior a 900 mOsm/l, más preferiblemente inferior a 800 mOsm/l, y más preferible inferior a 700 mOsm/l.

5 Unidad de dosificación

[0087] La composición nutricional enteral líquida según la invención puede tener la forma de un alimento completo, es decir, puede cubrir todas las necesidades nutricionales del usuario. Como tal, contiene preferiblemente de 1200 a 2500 kcal por dosificación diaria. Las cantidades de dosificación diaria se dan con respecto a un suministro de energía diario de 2000 kcal para un adulto sano con un peso corporal de 70 kg. Para personas de condición diferente y peso corporal diferente, los niveles deberían ser adaptados correspondientemente. Se entiende que la toma de energía media diaria es preferiblemente de aproximadamente 2000 kcal. El alimento completo puede estar en la forma de múltiples unidades de dosificación, por ejemplo, de 4 (250 ml/unidad) a 40 (20 ml/unidad) al día para un suministro de energía de 2000 kcal/día utilizando una composición nutricional enteral líquida según la invención de 2,0 kcal/ml.

[0088] La composición nutricional enteral líquida puede también ser un suplemento alimenticio, por ejemplo, para usarse además de un alimento no médico. Preferiblemente, como un suplemento, la composición nutricional enteral líquida contiene por dosificación diaria menos de 1500 kcal, en particular como un suplemento, la composición nutricional líquida enteral contiene de 400 a 1000 kcal por dosis diaria. El suplemento alimenticio puede estar en la forma de múltiples unidades de dosificación, por ejemplo, de 2 (250 ml/unidad) a 10 (50 ml/unidad) al día para un suministro de energía de 1000 kcal/día utilizando una composición nutricional enteral líquida según la invención de 2,0 kcal/ml.

[0089] En una forma de realización de la presente invención, una dosis unitaria comprende cualquier cantidad de la composición nutricional líquida enteral según la invención entre 10 ml y 250 ml, con los valores de los extremos de este rango incluidos, preferiblemente cualquier cantidad entre 25 ml y 200 ml, con los valores de los extremos de este rango incluidos, más preferiblemente cualquier cantidad entre 50 ml y 150 ml, con los valores de los extremos de este rango incluidos, de la forma más preferible de aproximadamente 125 ml. Por ejemplo, a una persona que recibe 50 ml de dosificaciones unitarias se le pueden dar 10 dosificaciones unitarias al día para proporcionar un refuerzo nutricional utilizando una composición nutricional enteral líquida según la invención de 2,0 kcal/ml. Alternativamente, a una persona que recibe 125 ml dosificaciones unitarias se le pueden dar 4 o 5 o 6 o 7 o 8 dosificaciones unitarias al día para proporcionar un refuerzo nutricional utilizando una composición nutricional enteral líquida según la invención de 2,0 kcal/ml. Se prefieren unidades de dosificación tan pequeñas debido al mejor cumplimiento.

[0090] En una forma de realización de la presente invención, la composición se proporciona en una forma preparada para usar y no requiere reconstitución o mezcla antes del uso. La composición según la invención se puede pasar por sonda o administrar por vía oral. Por ejemplo, la composición según la invención se puede proporcionar en una lata, en un pincho y una bolsa colgante. Sin embargo, una composición se puede proporcionar a una persona que la necesite en polvo, adecuado para reconstitución utilizando una solución acuosa o agua de manera que se produzca la composición según la invención. Así en una forma de realización de la presente invención, la presente composición está en forma de polvo, acompañada con instrucciones para disolver o reconstituir en una composición acuosa o agua para llegar a la composición nutricional enteral líquida según la presente invención. En una forma de realización de la presente invención, la presente composición nutricional enteral líquida puede así ser obtenida por disolución o reconstitución de un polvo, preferiblemente en una composición acuosa, en particular agua.

[0091] En una forma de realización de la presente invención, la composición según la invención se puede utilizar como una base para la fabricación de una composición nutricional semisólida, tal como una crema, un pudín, unas natillas, una sopa, un helado o una gelatina. Con este fin, la composición según la invención se procesa para convertir la composición de viscosidad baja según la invención en una más sólida o viscosa, por ejemplo, añadiendo espesantes o agentes gelificantes y procesando más la mezcla en el producto final. Los espesantes y/o agentes gelificantes también pueden estar presentes en la formulación a partir de una fase más temprana del proceso, o disueltos junto con los nutrientes al principio del proceso.

[0092] En una forma de realización de la presente invención, la composición según la invención se envasa. El envasado puede tener cualquier forma adecuada, por ejemplo, un cartón en forma de bloque, por ejemplo, para vaciarse con una pajita; un cartón o vaso de plástico con tapa extraíble; una botella de pequeño tamaño por ejemplo para el rango de 80 ml a 200 ml, y tazas pequeñas por ejemplo para el rango de 10 ml a 30 ml. Otro modo de envasado adecuado es la inclusión de volúmenes pequeños (por ejemplo, de 10 ml a 20 ml) en envoltorios o cápsulas sólidos o semisólidos comestibles, por ejemplo, revestimientos de tipo gelatina y similares. Otro modo de envasado adecuado es un polvo en un contenedor, por ejemplo, un sobre, preferiblemente con instrucciones para disolver o reconstituir en una composición acuosa o agua.

65 Experimentos

[0093] La parte siguiente sirve para demostrar los conceptos de la invención. Sin embargo, la invención no se considera limitada por ninguna de las teorías e hipótesis dadas para explicar los fenómenos observados en este documento a continuación.

[0094] El uso de sistemas de leche concentrada simplificados, en vez de recetas de nutrición médica completas (es decir sistemas que contienen altas concentraciones de iones mono y divalentes, carbohidratos y grasa), es una vía eficaz para determinar la influencia de los fosfatos en la viscosidad de las composiciones. Hemos seleccionado una fuente de proteína comercial, es decir aislado de caseína micelar (MCI), que contiene una cantidad insignificante de proteína de suero de leche, y preparado soluciones con alto contenido de proteínas de 9 % p/v a las que se añadieron los compuestos de fosfato en un rango de concentración grande.

Lista de figuras

[0095]

Figura 1: HCT, actividad de los iones de calcio, viscosidad, turbidez y potencial zeta de la solución de MCI a pH 6,7 como función de concentración del quelante de calcio. Los resultados son las medias para al menos duplicados con desviaciones estándar como barras de error. (↑) y (---) indican que no apareció coagulación después del calentamiento durante 90 min.

Figura 2: HCT, actividad de los iones de calcio, viscosidad, turbidez y potencial zeta de la solución de MCI a pH 7,0 como función de concentración del quelante de calcio. Los resultados son las medias para al menos duplicados con desviaciones estándar como barras de error. (↑) y (---) indican que no apareció coagulación después del calentamiento durante 90 min.

Figura 3: HCT, actividad de los iones de calcio, viscosidad, turbidez y potencial zeta de la solución de MCI a pH 7,3 como función de concentración del quelante de calcio. Los resultados son las medias para al menos duplicados con desviaciones estándar como barras de error. (↑) y (---) indican que no apareció coagulación después del calentamiento durante 90 min.

Figura 4: Turbidez, viscosidad y potencial zeta de la solución de MCI a pH 7,3 de las muestras de referencia y aquellas con 60 mEq L⁻¹ de Na₂HPO₄, TSC, y SP como función del tiempo de calentamiento en el baño de aceite. Los resultados son las medias para duplicados con desviaciones estándar como barras de error.

1. Materiales y métodos

1.1 Preparación de la muestra

[0096] El polvo de MCI (Nutripro™) fue suministrado por DairyGold Food Ingredients (Cork, Irlanda). Este polvo contiene 85 % p/p de proteína del cual ≤ 5 % p/p es suero de leche. Se preparó una solución de MCI con 9 % p/v de proteína por disolución del polvo de MCI en 80 % de agua totalmente desmineralizada a temperatura ambiente, mientras se agitaba a 600 r.p.m. con un agitador de laboratorio (RW 20.n, IKA Labortechnik, Staufen, Alemania). Una solución de MCI de 9 % p/v contiene aproximadamente 8,5 mmol•L⁻¹ de sodio, 4,2 mmol•L⁻¹ de potasio, 2,5 mmol•L⁻¹ de cloruro, 59,8 mmol•L⁻¹ de calcio, 43,5 mmol•L⁻¹ de fósforo, y 3,1 mmol•L⁻¹ de magnesio. La solución de proteína se homogeneizó con un homogeneizador de laboratorio de alta presión (NS2006L, GEA Niro Soari S.P.A., Parma, Italia) a 350+50 bares para obtener micelas de caseína única con un diámetro D[4,3] de 0,15 μm determinado con un Mastersizer 2000 con un baño de agua Hydro 2000G (Malvern Instruments, Worcestershire, Inglaterra). La temperatura de la solución de proteína fue de 40 °C después de la homogeneización.

[0097] Las soluciones madre se prepararon a partir de monofosfato de uridina disódica (Na₂UMP) (Yamasa Corporation, Chiba, Japón), fosfato de hidrógeno disódico (Na₂HPO₄) (Merck & Co. Inc, Darmstadt, Alemania), hexametáfosfato de sodio (SHMP) (VWR International Ltd, Poole, Inglaterra), hidrato de sal dodecasódica de ácido fítico (SP) (Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, Alemania), y citrato de trisodio (TSC) (Gadot Biochemical Industries Ltd., Haifa Bay, Israel). Se añadieron cantidades diferentes de estas soluciones madre a las soluciones de MCI para obtener concentraciones de quelante finales de 0, 15, 30, 45, o 60 mEq L⁻¹ en las muestras. Estos quelantes contienen una cantidad diferente de cargas negativas, lo que les da diferentes capacidades de unión a calcio (De Kort, E. J. P., Minor, M., Snoeren, T. H. M., van Hooijdonk, A. C. M., & van der Linden, E. (2009). Journal of Dairy Science and Technology, 89, 283-299). Por lo tanto, los rangos de concentración de los quelantes de calcio se basaron en miliequivalentes para añadir una cantidad similar de cargas a las muestras. Solo se usaron fuentes sódicas, debido a que el tipo de contraión también puede influir interacciones de proteína-mineral.

[0098] El pH de las muestras se ajustó, después de agitación durante 30 minutos, a 6,7 ± 0,05, 7,0 ± 0,05, y 7,3 ± 0,05 con 1 mol L⁻¹ de hidróxido sódico (Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, Alemania) o 1 mol L⁻¹ de ácido

clorhídrico (Merck & Co. Inc, Darmstadt, Alemania). Finalmente, las muestras se llevaron a su concentración de proteínas final de 9 % p/v con agua desmineralizada. Las muestras se almacenaron por la noche a 20 °C durante aproximadamente 17 horas para dejar que se equilibren. El pH de las muestras se reajustó la mañana siguiente a $6,7 \pm 0,05$, $7,3 \pm 0,05$, o $7,3 \pm 0,05$ en el caso de hubieran ocurrido desviaciones durante el almacenamiento. Las desviaciones en el pH fueron siempre pequeñas y las muestras no mostraron ninguna alteración visible. Las muestras con 0, 15, 30, 45 y 60 mEq L⁻¹ de fosfato o citrato se analizaron al menos por duplicado para sus HCT en el Klarograph y las muestras con 0, 15 y 60 mEq L⁻¹ de fosfato o citrato se calentaron durante para 0, 15, 35 y 55 minutos en un baño de aceite. Las muestras se analizaron por duplicado antes y después del calentamiento en el baño de aceite para su pH, actividad de los iones de calcio, turbidez, viscosidad y potencial zeta.

1.2 Mediciones de HCT; Klarograph

[0099] El Klarograph se usó para determinar el HCT de las muestras. El Klarograph se basa en el principio del viscosímetro de caída de bola (Crujisen, J. M. M. 1996. Wageningen Agricultural University, Wageningen; De Wit, J. N., Klarenbeek, G., & De Graaf, C. (1986). Voedingsmiddelentechnologie, 19 (3), 25-27.; Van Mil, P. J. J. M., & De Koning, J. (1992). Netherlands Milk and Dairy Journal, 40, 351-368.). Las muestras se insertan en la parte interna de un tubo de vidrio de doble pared. El diámetro interno de los tubos es de 9,3 mm y el volumen es 20 ml desde el fondo hasta la cámara de expansión. Se ponen dos bolas de vidrio con un diámetro de 9,0 mm en los tubos. Los tubos se colocan en el sistema y se pone en circulación aceite de silicona alrededor de los tubos. El aceite de silicona se conecta a un baño de aceite termostático, que se establece a 126 °C. El equipo permite el uso de ocho tubos al mismo tiempo (2 veces 4 tubos). Los tubos se colocan inclinados 10° respecto a la posición vertical, de modo que las bolas rueden a lo largo de la pared de los tubos. Los tubos se rotan 180° en el sentido de las agujas del reloj y en el sentido contrario de las agujas del reloj durante la medición. Los tubos se rotan tan pronto como las bolas alcanzan el fondo de los tubos, que es aproximadamente 20 s. Cuando las muestras se vuelven inestables, las bolas se detienen por partículas coaguladas. El tiempo necesitado para alcanzar la coagulación se registra como el HCT. Los tiempos de calentamiento presentados no incluyen el periodo de calentamiento, que es de aproximadamente 4 min. Por lo tanto, el HCT solo se determina una vez que la temperatura alcanza su valor constante.

1.3. Baño de aceite

[0100] Usamos un baño de aceite para determinar cambios inducidos por calor, porque se podrían calentar volúmenes de muestra mayores que con el Klarograph. Las muestras se insertaron en tubos de vidrio termorresistentes de 15 ml (como mínimo tres tubos por muestra) y se calentaron durante 15, 35 y 55 min en el baño de aceite. Se agruparon muestras similares después del calentamiento para obtener un volumen suficiente para el análisis. El baño de aceite se estableció a 126 °C. El tiempo de calentamiento no incluyó el calentamiento de las muestras, que fue de aproximadamente 6 min. Las muestras se enfriaron en agua fría hasta que alcanzaron la temperatura ambiente, que fue en 30 min, antes de realizar los análisis.

1.4. pH

[0101] El pH se midió a temperatura ambiente con un medidor de pH Expert Pro de Inlab® (Mettler Toledo, Greifensee, Suiza), que es parte del dispositivo de medida de iones de calcio. El medidor de pH se calibró con soluciones madre de pH 4,0 y pH 7,0. El valor del pH se leyó después de agitar suavemente durante 5 min.

1.5. Actividad de los iones de calcio

[0102] La actividad de los iones de calcio se midió con un dispositivo de medida de calcio Mettler Toledo Seven Multi™ (con un medidor de pH Expert Pro de Inlab®) (Mettler Toledo, Greifensee, Suiza) utilizando un electrodo Orion 9300BH y un electrodo de referencia Orion 900100. La calibración de los electrodos, las mediciones de muestra y los cálculos de las actividades de los iones de calcio se realizaron como se describe en De Kort, E. J. P., Minor, M., Snoeren, T. H. M., van Hooijdonk, A. C. M., & van der Linden, E. (2009). Journal of Dairy Science and Technology, 89, 283-299.

16. Turbidez

[0103] La turbidez se midió con un espectrofotómetro (4053 Kinetics, LKB Biochrom, Midland, Canadá). Se usaron cubetas plásticas con una longitud de trayecto de 1 cm. Las mediciones se efectuaron a temperatura ambiente utilizando una longitud de onda de 700 nm. Las muestras se midieron para su turbidez mediante dilución de las muestras a 10 % de su sustancia seca inicial en agua desmineralizada de manera que estén dentro de los límites de detección del espectrofotómetro.

1.7. Viscosidad

[0104] Las muestras se analizaron con un reómetro MCR 300 (Anton Paar Physica, Graz, Austria) utilizando una geometría de copa (cilindro CC27) y bobina. La viscosidad se midió a velocidad de cizalladura de 1 s^{-1} a 1000 s^{-1} .

En este documento se dan los resultados de la viscosidad a una velocidad de cizalladura de 50 s^{-1} . La mayor parte de las muestras se comportaron de forma muy similar a los líquidos newtonianos.

1.8. Potencial zeta

[0105] El potencial zeta se midió con el Zetasizer Nano Z (Malvern Instruments, Worcestershire, Inglaterra) usando células de Zetasizer Nano capilares plegadas desechables de 1,5 ml (DTS1060, Malvern Instruments). La medición de cargas negativas se basa en la movilidad electroforética en las muestras. El potencial zeta se calcula con la aproximación de Smoluchowski. Antes del análisis, se diluyeron muestras al 1 % de su sustancia seca inicial en agua desmineralizada y se filtraron posteriormente mediante filtros de acetato de celulosa de jeringa de Nalgene® desechables con un tamaño de poros de $0,8 \mu\text{m}$ (Nalgene Nunc International Corporation, Rochester, EE.UU.). Los análisis se realizaron por duplicado a una temperatura de la célula de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ y voltaje de 100 V.

2. Resultados

[0106] En la primera parte se describen los resultados de HCT obtenidos con el Klarograph y las diferencias en la actividad de los iones de calcio, viscosidad, turbidez y potencial zeta de las muestras antes del calentamiento. En la segunda parte se describen los cambios inducidos por calor que se midieron después del calentamiento de las muestras durante varios periodos de tiempo en el baño de aceite.

2.1. Tiempo de coagulación térmica

[0107] El HCT de la solución de MCI con y sin fosfatos o citrato se midió a pH 6,7, 7,0, y 7,3 con el Klarograph durante como máximo 90 min. Se realizaron análisis de actividad de los iones de calcio, viscosidad, turbidez y potencial zeta antes del calentamiento para obtener información acerca de los cambios en la concentración de iones de calcio libres, la integridad de la estructura micelar y la distribución de carga en la superficie micelar después de añadir quelantes de calcio. Visiones generales de los resultados se muestran para pH 6,7 en la figura 1, pH 7,0 en la figura 2, y pH 7,3 en la figura 3. El HCT aumentó marcadamente tras la adición de los quelantes de calcio, un efecto que se pronunció al máximo a pH 6,7. Las diferencias en el HCT se investigaron en relación con la actividad de los iones de calcio, viscosidad, turbidez y potencial zeta iniciales de las muestras. Podemos dividir los resultados en cuatro grupos: 1) muestras de referencia; 2) Na_2UMP ; 3) Na_2HPO_4 , TSC, y SP; 4) SHMP.

2.1.1. Muestras de Referencia

[0108] El HCT de las muestras de referencia (sin quelantes) aumentó con pH en aumento: 2 min a pH 6,7, 40 min a pH 7,0, y 55 min a pH 7,3. Este aumento en el HCT concuerda con el HCT como función del pH para dispersiones de micelas de caseína sin proteínas de suero de leche. El aumento en el HCT de las muestras de referencia se debe al pH inicial superior y a la actividad de los iones de calcio inferior concomitante. Además de estos efectos, la carga negativa neta de las micelas de caseína aumenta a pH más alto. Esto induce más repulsión electrostática entre las caseínas cargadas negativamente, lo que proporcionó un aumento en la estabilidad térmica. Sin embargo, los cambios en la carga negativa neta fueron demasiado pequeños para ser detectados con el zetasizer.

2.1.2. Adición de Na_2UMP

[0109] El Na_2UMP es muy eficaz para aumentar la estabilidad térmica de la solución de MCI en los tres valores del pH (figuras 1 a 3). A mayor pH se necesitó una concentración inferior de Na_2UMP para dar a la solución de MCI un HCT superior a 90 min. El Na_2UMP redujo la concentración de iones de calcio libres en aproximadamente el 40 % a pH 6,7 y 7,0, lo que redujo en gran medida la agregación de proteínas. Es probable que por debajo de una actividad de los iones de calcio de $\sim 2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, suficientes iones de calcio libres se vincularon para dar un fuerte aumento en el HCT. La viscosidad, la turbidez y el potencial zeta de las soluciones permanecieron constantes en todos los valores del pH. Por lo tanto, lo más probable es que la reducción en la actividad de los iones de calcio fue el conductor principal del aumento en el HCT en las muestras de Na_2UMP .

2.1.3. Adición de Na_2HPO_4 , TSC y SP

[0110] La adición de Na_2HPO_4 , TSC y SP indujo grandes aumentos en el HCT a pH 6,7 y 7,0 (figuras 1 y 2). El aumento en el HCT fue menos pronunciado a pH 7,3 (figura 3), debido a que el HCT ya era alto para la muestra de referencia. La adición de Na_2HPO_4 resultó en un HCT de más de 90 min a pH 7,0 y 7,3, mientras que HCT ligeramente inferiores se obtuvieron para TSC y SP a estos valores de pH. Las actividades de los iones de calcio, las viscosidades y los potenciales zeta medidos para las muestras de Na_2HPO_4 , TSC y SP fueron del mismo orden en los tres valores del pH. A pH 6,7, el gran aumento en el HCT se debe muy probablemente a la fuerte reducción en la actividad de los iones de calcio. A pH 7,0 y 7,3 las actividades de los iones de calcio quedaron

por debajo de $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ y $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, respectivamente, y esto fue lo suficientemente bajo como para dar a las muestras un HCT superior.

[0111] Las ligeras diferencias en el HCT que se midieron para Na_2HPO_4 , TSC, y SP pueden relacionarse con sus diferencias en la turbidez antes del calentamiento. La reducción en la turbidez se debe a la disociación de las micelas de caseína en estructuras más pequeñas tras la adición de quelantes de calcio. Se concluyó que la disociación micelar ocurrió más probablemente en el orden $\text{SP} > \text{TSC} > \text{Na}_2\text{HPO}_4$. Por lo tanto, las soluciones de MCI con Na_2HPO_4 , TSC y SP contienen diferentes concentraciones de micelas de caseína disociadas e intactas. Una tendencia decreciente en la estabilidad térmica se midió en el orden $\text{SP} > \text{TSC} > \text{Na}_2\text{HPO}_4$ a pH 7,0 y 7,3, lo que sugiere que las partículas micelares pequeñas formadas tienen un impacto negativo en la estabilidad térmica de la solución de MCI. Sin embargo, estas pequeñas partículas micelares también están presentes en el caseinato sódico de alta fuerza iónica, mientras que el caseinato sódico se conoce por su alta estabilidad térmica. Sin embargo, se conoce que la estabilidad térmica del caseinato sódico puede reducirse marcadamente en presencia de calcio iónico, también se conoce que la estabilidad térmica del caseinato sódico y de la leche libre de CCP muestra una mayor reducción en presencia de fosfato cálcico precipitado por calor que la leche que contiene micelas de caseína inalteradas. Como nuestras muestras contenían una alta concentración de (fosfato de) calcio, es posible que las partículas micelares más pequeñas formadas después de la adición del quelante fueran más susceptibles de agregar proteínas inducidas por calcio que las micelas intactas. Como resultado, se midieron estabilidades térmicas inferiores para SP y TSC que para Na_2HPO_4 . También se conoce que la reducción de la estabilidad térmica de la leche concentrada recombinada que contiene Na_2HPO_4 , TSC, o EDTA era más pronunciada cuando se disociaban más micelas de caseína.

[0112] El HCT de las muestras tanto de Na_2HPO_4 como de Na_2UMP aumentó a aproximadamente 90 min o más a pH 7,0 y 7,3, mientras que el HCT de las muestras de Na_2HPO_4 fue considerablemente inferior que para las muestras de Na_2UMP a pH 6,7. La adición de 15 mEq L^{-1} de Na_2HPO_4 o Na_2UMP a pH 6,7 redujo la concentración de iones de calcio libres en aproximadamente el 55 % y el 25 %, respectivamente, porque el Na_2HPO_4 tiene una capacidad de unión a calcio más fuerte que el Na_2UMP . La reducción en los iones de calcio libres fue suficiente para obtener un HCT superior a 70 min para el Na_2HPO_4 , pero para el Na_2UMP se midió un HCT de solo 40 min. El HCT aumentó más para el Na_2UMP que para el Na_2HPO_4 en concentraciones de quelante más elevadas a pH 6,7. La actividad de los iones de calcio en ambas muestras fue lo suficientemente baja como para aumentar el HCT. Sin embargo, en las muestras de Na_2HPO_4 la cantidad de CCP en las micelas aumentó, muy probablemente debido a la precipitación de complejos de fosfato cálcico en la micela de caseína, mientras que en las muestras de Na_2UMP la cantidad de CCP fue afectada de forma insignificante. Este aumento en la cantidad de CCP disminuyó el HCT de las muestras de Na_2HPO_4 .

2.1.4. Adición de SHMP

[0113] Los HCT más bajos se midieron para la adición de SHMP a pH 6,7 y 7,0 en comparación con los otros quelantes de calcio. Las muestras de SHMP se volvieron muy viscosas con concentración de SHMP en aumento, lo que hizo difícil determinar la coagulación, debido a que las bolas de vidrio no podían moverse libremente en los tubos del Klarograph. Las viscosidades altas se deben a los enlaces cruzados formados entre las caseínas por el SHMP. Las muestras se gelificaron tras la adición de más de 45 mEq L^{-1} de SHMP en los tres valores del pH. La adición de $> 45 \text{ mEq L}^{-1}$ de SHMP a pH 7,3 provocó una reducción aguda en el HCT, lo que se debe probablemente a la elevada viscosidad inicial. Una fuerte reducción en el potencial zeta también se observó en estas muestras. La carga negativa neta de las micelas de caseína y la disminución de CCP de las micelas de caseína podrían haber alcanzado un valor crítico, en el que la κ -caseína no podría retenerse en la superficie micelar y las estructuras micelares no podrían mantenerse intactas durante el calentamiento. Además, los resultados de turbidez indican que la mayor parte de las micelas de caseína ya se disociaron a $\geq 45 \text{ mEq L}^{-1}$ de SHMP antes del calentamiento. Este puede haber provocado un fuerte aumento en la coagulación para las muestras de SHMP, debido a que las partículas micelares pequeñas formadas tras la adición de quelante de calcio son más susceptibles de agregar proteínas.

[0114] Es destacable que se midieron potenciales zeta de aproximadamente -6 a -10 mV más negativos para el SHMP que para las muestras de SP en los tres valores del pH (véase potenciales zeta en las figuras 1 a 3). Una cantidad igual de cargas se añadió a las soluciones y ambos polifosfatos pudieron enlazarse a las micelas de caseína, aumentando la carga negativa neta de las micelas de caseína. Se llegó a la hipótesis de que el SHMP interactúa con las caseínas y los iones de calcio (es decir forma enlaces cruzados), mientras que el SP inicialmente interactúa más fuertemente con los iones de calcio que con las micelas de caseína. Este se relaciona con el pKa, la forma y la distribución de carga de las moléculas de SHMP y SP. El SHMP tiene cargas distribuidas más homogéneamente alrededor de su molécula, mientras que el SP tiene doce cargas negativas, agrupadas en pares, alrededor de su molécula. Esto podría haber resultado en más micelas de caseína cargadas negativamente en las muestras de SHMP.

2.2 Cambios inducidos por calor

5 [0115] Se seleccionaron muestras con 0, 15 y 60 mEq L⁻¹ de fosfato o citrato y se calentaron durante 15, 35 y 55 min en el baño de aceite para determinar los cambios inducidos por calor. Se seleccionó una concentración de 15 mEq L⁻¹, debido a que el aumento más grande en el HCT se midió entre 0 y 15 mEq L⁻¹. Las muestras se analizaron para su pH, actividad de los iones de calcio, turbidez, viscosidad y potencial zeta después del calentamiento. Los resultados se pueden dividir en tres grupos: 1) muestras de referencia; 2) Na₂UMP, Na₂HPO₄, TSC y SP; 3) SHMP. Esta clasificación se basa en el hecho de que cambios inducidos por calor comparables se midieron para Na₂UMP y Na₂HPO₄, TSC y SP, aunque mostraron HCT diferentes (figuras 1 a 3).

10 2.2.1. *Muestras de referencia*

[0116] Los resultados de las muestras de referencia, sin adición de quelante, se resumen en la tabla 1.

Tabla 1: Muestras de referencia a pH 6,7, 7,0, y 7,3 calentadas en el baño de aceite durante 0-55 min

pH	Tiempo (min)	pH medido (-)	Actividad de los iones de calcio (mmol L ⁻¹)	Turbidez (-)	Viscosidad (mPa s)	Potencial zeta (mV)
6,7	0	6,70	2,57	2,65	3,31	-22,83
	15	6,48	1,39	3,00	coagulada	-27,85
	35	6,46	1,44	3,00	coagulada	-28,00
	55	6,41	1,34	3,00	coagulada	-26,60
7,0	0	7,00	1,47	2,51	4,18	-23,25
	15	6,71	0,91	2,93	3,04	-22,30
	35	6,71	0,99	2,95	3,14	-22,95
	55	6,58	0,97	2,98	3,72	-21,73
7,3	0	7,30	0,71	2,30	4,45	-21,55
	15	6,94	0,80	2,53	3,12	-19,56
	35	6,85	0,80	2,50	3,01	-22,63
	55	6,67	0,84	2,60	3,10	-24,04

[0117] El pH disminuyó en 0,3 a 0,6 unidades durante el calentamiento y disminuyó más en las muestras con pH inicial más alto. Esta reducción en el pH también se observó para la leche desnatada. La reducción de pH se atribuye a la precipitación de fosfato cálcico más que a la formación de ácido fórmico, porque el MCI contiene una cantidad insignificante de lactosa. La actividad de los iones de calcio inicial era superior a ~2 mmol·L⁻¹ a pH 6,7, lo que posiblemente provocó la coagulación en 15 min de calentamiento y una reducción del pH a 6,5. La fuerte reducción en la actividad de los iones de calcio a pH 6,7 durante el calentamiento también indica precipitación de fosfato cálcico y agregación de proteína, lo que resultó en un potencial zeta más negativo, un aumento en la turbidez y una coagulación de la muestra. Estos cambios inducidos por calor también se observaron a pH 7,0 y 7,3.

2.2.2. Adición de Na₂UMP, Na₂HPO₄, TSC o SP

[0118] La reducción del pH después del calentamiento durante 55 min en el baño de aceite para muestras de 15 y 60 mEq L⁻¹ de Na₂UMP, Na₂HPO₄, TSC y SP, y a pH 6,7, 7,0, y 7,3 fue comparable a la reducción del pH que se midió para las muestras de referencia (véase la tabla 1). Ninguna de estas muestras mostró coagulación visible después del calentamiento durante 55 min en el baño de aceite. Las actividades de los iones de calcio de estas muestras se mantuvieron constantes o se redujeron ligeramente. Las actividades de los iones de calcio antes del calentamiento ya eran lo suficientemente bajas debido a la capacidad de unión a calcio de los quelantes y la unión de fosfato cálcico más fuerte en las micelas con pH en aumento (figuras 1 a 3). Se pudieron detectar cambios pequeños para el potencial zeta de estas muestras. La turbidez aumentó y la viscosidad disminuyó en las muestras durante el calentamiento, porque ocurrió precipitación de fosfato cálcico y descomposición de las caseínas.

[0119] En la figura 4 se muestra que la turbidez de la solución de MCI con 60 mEq L⁻¹ de SP a pH 7,3 solo aumentó ligeramente durante el calentamiento. Esta muestra se comportó notablemente de manera diferente a las muestras con 0 o 60 mEq L⁻¹ de Na₂HPO₄ o TSC. El SP probablemente se enlaza los iones de calcio tan fuertemente (también a pH inferior) que solo una concentración baja de iones de calcio está disponible para la precipitación de fosfato de calcio inducida por calor o la agregación de proteínas inducida por calcio. Además, la repulsión electroestática entre las micelas es más fuerte a actividad de los iones de calcio inferior, lo que reduce la agregación de proteínas. Las moléculas de SP aniónicas fuertemente cargadas pueden también enlazar con los residuos de aminoácidos positivamente cargados, aumentando la repulsión electroestática entre las micelas de caseína también. Esto resultó en un HCT superior a 90 min para la adición de 60 mEq L⁻¹ de SP a pH 7,3 (figura 3). Solo se midió una reducción ligera en la viscosidad y un aumento en el potencial zeta para esta muestra de SP durante el calentamiento (figura 4), debido a que la fuerte repulsión entre las caseínas y la fuerte capacidad de unión a calcio del SP se mantuvo probablemente durante el calentamiento.

[0120] La figura 4 muestra que la viscosidad de las muestras de 60 mEq L⁻¹ de Na₂HPO₄ o TSC a pH 7,3 se redujo fuertemente durante el calentamiento a valores que eran ligeramente más altos que las muestras de referencia. La reducción en la viscosidad se relaciona con los cambios que ocurren en las micelas durante el calentamiento. Se conoce para la leche que, durante el calentamiento, la viscosidad se reduce debido a la disociación de las micelas (es decir, la solubilización de la caseína y el CCP y la liberación de κ-caseína). Estos cambios inducidos por calor hacen que las micelas de caseína disociadas sean más susceptibles a la coagulación. Por lo tanto, con la aparición de la coagulación, la viscosidad aumenta fuertemente. En las muestras de Na₂UMP, Na₂HPO₄, TSC y SP este fuerte aumento en la viscosidad no se midió, debido a que las muestras no coagularon en el baño de aceite.

2.2.3. Adición de SHMP

50

[0121] El SHMP proporcionó una reducción más pronunciada en el pH durante el calentamiento que las muestras de referencia y los otros quelantes de calcio en los tres valores del pH: una reducción del pH de 0,7-0,9 (tabla 2) frente a 0,3-0,6 (tabla 1). Esto provocó un aumento en la concentración de iones de calcio libres, lo que hizo las muestras más susceptibles a la agregación de proteínas inducida por calcio. Como resultado, se midió la coagulación después de calentar 55 min en el baño de aceite tras la adición de 15 o 60 mEq L⁻¹ de SHMP a pH 6,7. Estas bajas termoestabilidades están en conformidad con los bajos HCT que se midieron para estas muestras (figura 1). En un estudio precedente (De Kort, E. J. P., Minor, M., Snoeren, T. H. M., van Hooijdonk, A. C. M., & van der Linden, E. (2009). *Journal of Dairy Science and Technology*, 89, 283-299), se observó una fuerte reducción en el pH para SHMP en una solución de cloruro de calcio después del calentamiento. El SHMP hidroliza en trimetafosfato de sodio y ortofosfato de sodio en condiciones ácidas y esta hidrólisis probablemente ocurrió también en las soluciones de MCl durante el calentamiento. Esto indujo, además de la fuerte reducción del pH, la liberación de iones de calcio, lo que puede causar la agregación de proteínas inducida por calcio. La actividad de los iones de calcio fue inferior a pH más alto y tras la adición de 60 mEq L⁻¹ de SHMP, ya que más iones de calcio eran parte de los complejos CCP o se enlazaron a SHMP, respectivamente. Además, se hidrolizará menos SHMP a pH más alto.

[0122] La fuerte reducción de la viscosidad y el aumento en el potencial zeta (por ejemplo de -33,10 a -21,15 mV a pH 6,7 para 60 mEq L⁻¹) en las muestras de SHMP en los tres valores del pH indican que los enlaces cruzados formados antes del calentamiento entre las caseínas y el SHMP se rompieron durante el calentamiento. Como se midió un aumento en la actividad de los iones de calcio durante el calentamiento, es posible que los iones de calcio estuvieran implicados en los enlaces cruzados también. Lo más posible es que el aumento en la concentración de iones de calcio libres durante el calentamiento iniciara la agregación de proteínas inducida por calcio. El fuerte aumento en el potencial zeta puede deberse a la liberación de SHMP de las micelas o a la liberación de κ -caseína de las micelas de caseína. La disminución de κ -caseína es más pronunciada a pH más alto, lo que redujo la carga negativa neta de las micelas de caseína y aumentó la sensibilidad a la agregación de proteínas. Como resultado, se midió una fuerte reducción en el HCT tras la adición de > 45 mEq L⁻¹ de SHMP a pH 7,3 (figura 3). La turbidez también aumentó fuertemente durante el calentamiento en todas muestras de SHMP, lo que se atribuye a la agregación de proteínas inducida por calcio. En general, las soluciones de MCl con SHMP son más susceptibles a la coagulación térmica que aquellas con otros quelantes de calcio debido a la fuerte reducción en el pH y al aumento en la actividad de los iones de calcio durante el calentamiento.

Tabla 2: Muestras de SHMP a pH 6,7, 7,0 y 7,3 calentadas en el baño de aceite durante 0-55 min.

pH	Tiempo (min)	15 mEq L ⁻¹ de SHMP					60 mEq L ⁻¹ de SHMP				
		pH medido (-)	Actividad de los iones de calcio (mmol L ⁻¹)	Turbidez (-)	Viscosidad (mPa s)	Potencial zeta (mV)	pH medido (-)	Actividad de los iones de calcio (mmol L ⁻¹)	Turbidez (-)	Viscosidad (mPa s)	Potencial zeta (mV)
6,7	0	6,70	1,13	2,08	6,04	-25,85	6,70	0,30	0,11	144	-33,10
	15	6,21	1,14	2,91	5,66	-24,78	6,06	0,40	2,79	5,53	-22,93
	35	6,24	1,37	2,56	coagulada	-24,13	5,94	0,49	2,86	6,53	-24,40
	55	6,04	1,92	2,63	coagulada	-22,10	5,85	0,54	2,52	coagulada	-21,15
7,0	0	7,00	0,72	1,79	14,0	-27,40	7,00	0,21	0,13	331	-37,93
	15	6,50	0,61	1,76	5,04	-27,57	6,29	0,30	2,07	5,54	-27,87
	35	6,36	0,74	2,13	3,26	-24,52	6,17	0,26	2,58	4,30	-28,57
	55	6,27	0,42	2,66	3,77	-25,13	6,10	0,31	2,73	coagulada	-23,25
7,3	0	7,30	0,41	0,75	115	-31,33	7,30	0,14	0,09	593	-43,00
	15	6,76	0,56	2,62	4,08	-26,58	6,78	0,54	1,86	11,1	-27,60
	35	6,74	0,30	1,99	3,89	-27,40	6,65	0,28	2,44	10,8	-26,53
	55	6,60	0,23	2,36	4,27	-24,95	6,57	0,15	2,49	9,39	-24,53

3. Discusión

- 5 [0123] Sin limitarse por la teoría, esta investigación ha demostrado que la influencia de los diversos quelantes de calcio en la estabilidad térmica de la solución de MCI se determina por la actividad de los iones de calcio inicial, la cantidad de CCP en la micela de caseína y la extensión de la disociación de la micela de caseína.

[0124] Una baja actividad de los iones de calcio fue el parámetro más importante para aumentar eficazmente el HCT de la solución de MCI. El débil quelante de calcio Na_2UMP es un estabilizador térmico muy eficaz, porque disminuyó la actividad de los iones de calcio suficientemente sin afectar a la estructura micelar. Como resultado, los máximos HCT se midieron para el Na_2UMP en los tres valores del pH. Un efecto también se obtuvo aumentando el pH: la actividad de los iones de calcio disminuyó, la carga de proteínas aumentó y, consecuentemente, el HCT aumentó. El Na_2HPO_4 , TSC y SP también aumentaron el HCT de la solución de MCI reduciendo la actividad de los iones de calcio a niveles comparables, pero su efecto en el HCT fue menor que el del Na_2UMP . Esto se debe probablemente a que estos quelantes afectaron a la cantidad de CCP en la micela de caseína y a la integridad de la estructura micelar también. La reducción del nivel de CCP se conoce que aumenta la estabilidad térmica de la leche por debajo de pH 7,0. Sin embargo, cuando un nivel crítico de CCP se extrae de las micelas, se conoce que empiezan a disociarse, lo que reduce la estabilidad térmica. El Na_2HPO_4 precipita con calcio en la micela y así la cantidad de CCP en la micela aumenta. Esto implica que debería medirse un HCT inferior para el Na_2HPO_4 que para el TSC o SP. Sin embargo, una reducción en la estabilidad térmica ocurrió en el orden $\text{SP} > \text{TSC} > \text{Na}_2\text{HPO}_4$. Se concluyó que lo más probable es que estos quelantes disocian las micelas en el orden $\text{SP} > \text{TSC} > \text{Na}_2\text{HPO}_4$. Por lo tanto, es posible que las ligeras diferencias en la estabilidad térmica de estas muestras sean atribuibles principalmente a la extensión de la disociación micelar y no a la cantidad de CCP presente en las micelas de caseína. Las pequeñas partículas micelares formadas tras la disociación de las micelas en las soluciones de MCI parecen más susceptibles a la agregación de proteínas inducida por calcio que las micelas de caseína intactas.

[0125] Los cambios inducidos por calor que ocurrieron en las muestras de referencia, de Na_2UMP , de Na_2HPO_4 , de TSC y de SP durante el calentamiento fueron del mismo orden. Esto implica que las diferencias en el HCT de estas muestras se determinaron principalmente por el estado de las soluciones de MCI antes del calentamiento.

[0126] A diferencia de los otros quelantes de calcio, los cambios inducidos por calor que ocurrieron en las muestras de SHMP sí que jugaron un papel importante para su estabilidad térmica. Por supuesto, la actividad de los iones de calcio y el estado de la estructura micelar antes del calentamiento fueron importantes también para la estabilidad térmica de estas muestras de SHMP. Sin embargo, los resultados indican que la fuerte reducción en el pH, el aumento en la actividad de los iones de calcio y la descomposición de los enlaces cruzados de SHMP entre las caseínas durante el calentamiento fueron principalmente los responsables de la fuerte reducción en el HCT de las muestras de SHMP.

4. Conclusiones

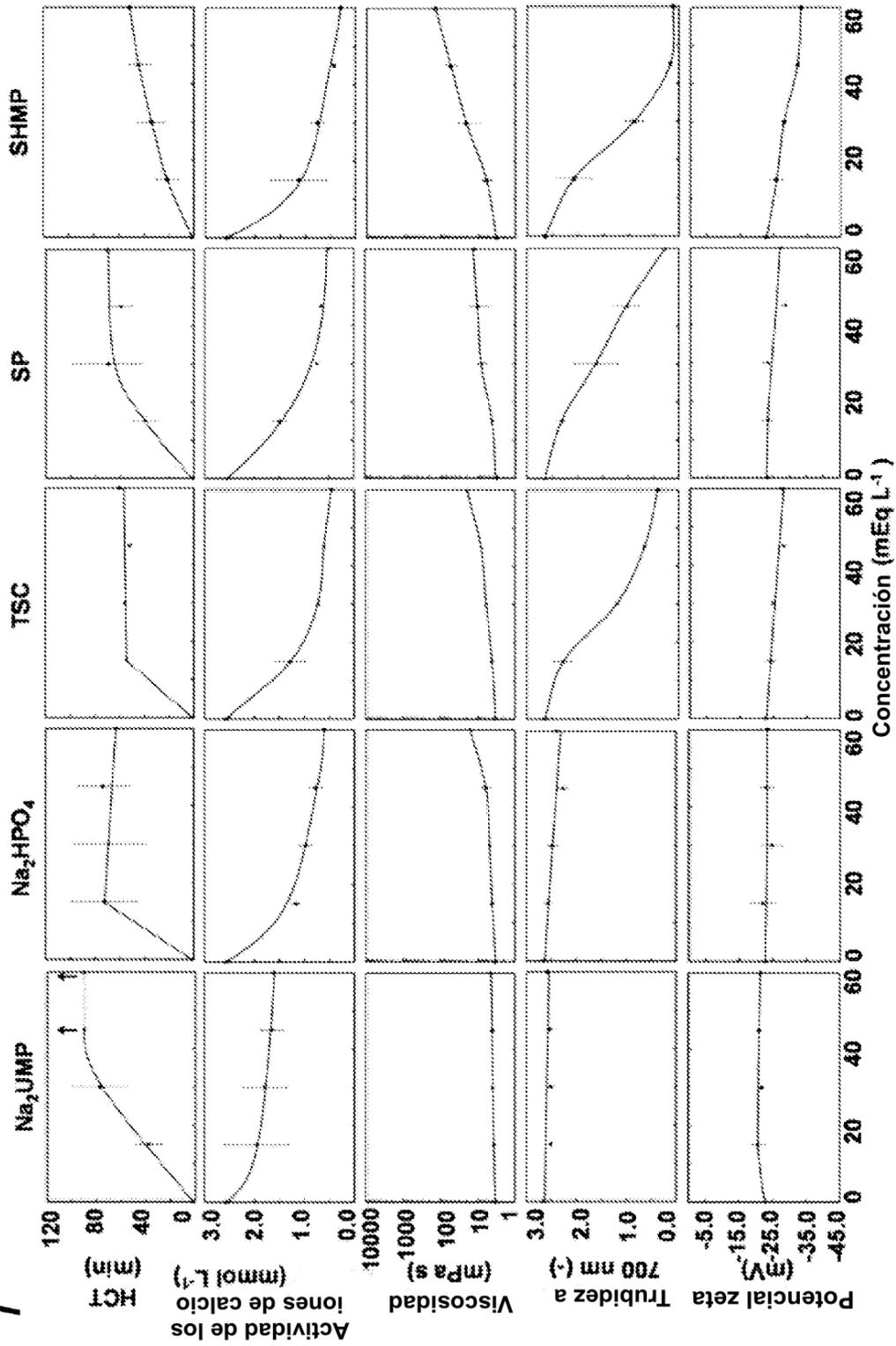
[0127] La estabilidad térmica de una solución de MCI se puede mejorar mediante la adición de quelantes de calcio. El Na_2UMP es el estabilizador de calor más eficaz, ya que se enlaza a suficientes iones de calcio libres para reducir la agregación de proteínas sin afectar a la integridad de la estructura micelar. El HCT de las soluciones de MCI con Na_2HPO_4 , TSC y SP aumentó a niveles comparables en comparación el uno con el otro, pero el aumento en el HCT fue mucho más pequeño que con Na_2UMP . Las ligeras diferencias en el HCT que se midieron para estas muestras diferentes de la de Na_2UMP se debieron a la extensión en la que las micelas de caseína se disociaron. Esto hizo las soluciones de MCI más susceptibles a la coagulación. El SHMP fue el estabilizador de calor menos eficaz. El SHMP formó enlaces cruzados con las caseínas, pero estos enlaces cruzados se rompieron durante el calentamiento. Esto disminuyó el pH y aumentó la actividad de los iones de calcio durante el calentamiento, lo que redujo la estabilidad térmica de las muestras de SHMP.

[0128] En conclusión, los quelantes de calcio aumentan la estabilidad térmica de la solución de MCI en diferentes medidas y estas diferencias son atribuibles a la actividad de los iones de calcio y al estado de la estructura micelar antes del calentamiento. La optimización de la estabilidad térmica de sistemas de productos lácteos es compleja y, por lo tanto, la selección del tipo y concentración de quelante de calcio requiere investigación cuidadosa. Sorprendentemente, se observan efectos pronunciados en la estabilidad térmica con nucleótidos.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de uno o más nucleótidos para mejorar la estabilidad térmica de una composición de caseína micelar acuosa que se debe someter a un proceso de tratamiento térmico, donde dicha composición comprende de 9 a 20 g de proteína por 100 ml, donde toda o una gran parte de dicha proteína es caseína micelar y dicha composición tiene un pH de 6 a 8.
- 10 2. Uso según la reivindicación 1, donde el nucleótido se selecciona del grupo de monofosfato de uridina (UMP), monofosfato de citidina (CMP), monofosfato de timidina (TMP), monofosfato de guanosina (GMP), monofosfato de adenosina (AMP) y monofosfato de inosina (IMP).
- 15 3. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde una cantidad de 1 a 120 mEq.L⁻¹, preferiblemente de 20 a 60 mEq.L⁻¹ de uno o más nucleótidos se añade a dicha composición.
- 20 4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde al menos el 80 % en peso, más preferiblemente al menos el 85 % en peso, aún más preferiblemente al menos el 90 % en peso, de la forma más preferible al menos el 95 % en peso de dicha proteína en dicha composición que debe someterse a tratamiento térmico es caseína micelar.
- 25 5. Composición nutricional líquida que comprende de 9 a 20 g de proteína por 100 ml de la composición y con un pH de 6 a 8, donde toda o una gran parte de dicha proteína es caseína micelar, y donde el 0 - 15 % en peso de la proteína total presente en la composición nutricional comprende suero de leche, donde dicha composición comprende además uno o más nucleótidos.
- 30 6. Composición según la reivindicación 5, donde el nucleótido se selecciona del grupo consistente en monofosfato de uridina (UMP), monofosfato de citidina (CMP), monofosfato de timidina (TMP), monofosfato de guanosina (GMP), monofosfato de adenosina (AMP) y monofosfato de inosina (IMP).
- 35 7. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 6, a la que se ha adicionado una cantidad de 1 a 120 mEq.L⁻¹, preferiblemente de 20 a 60 mEq.L⁻¹ de uno o más nucleótidos.
- 40 8. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, donde al menos el 80 % en peso, más preferiblemente al menos el 85 % en peso, aún más preferiblemente al menos el 90 % en peso, de la forma más preferible al menos el 95 % en peso de dicha proteína es caseína micelar.
- 45 9. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, que comprende uno o más carbohidratos grasos, digeribles y no digeribles.
- 50 10. Proceso para el tratamiento térmico de una composición de caseína micelar acuosa que comprende proporcionar una composición de caseína micelar acuosa que comprende de 9 a 20 g por 100 ml de proteína, y con un pH de 6 a 8, donde toda o una gran parte de dicha proteína es caseína micelar, y donde el 0 - 15 % en peso de la proteína total presente en la composición comprende suero de leche, donde dicho proceso comprende la adición de un nucleótido a dicha composición antes del tratamiento térmico y someter dicha composición a tratamiento térmico, y donde dicho tratamiento térmico es pasteurización o esterilización.
- 55 11. Proceso según la reivindicación 10, donde de 1 a 120 mEq.L⁻¹ de dicho(s) nucleótido(s), preferiblemente de 5 a 100 mEq.L⁻¹, más preferiblemente de 10 a 80 mEq.L⁻¹, de la forma más preferible de 20 a 60 mEq.L⁻¹ de dicho(s) nucleótido(s) se añade(n) a dicha composición.
12. Proceso según la reivindicación 10 o 11, donde el tratamiento térmico implica una temperatura de al menos 60 °C durante al menos un tiempo t (en segundos) = (500/(T-59)) - 4, donde la temperatura T se expresa en °C.
13. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 10 - 12, donde dicho tratamiento térmico implica un valor de esterilización o valor F_{cer} de al menos 2,8 minutos.

Fig. 1



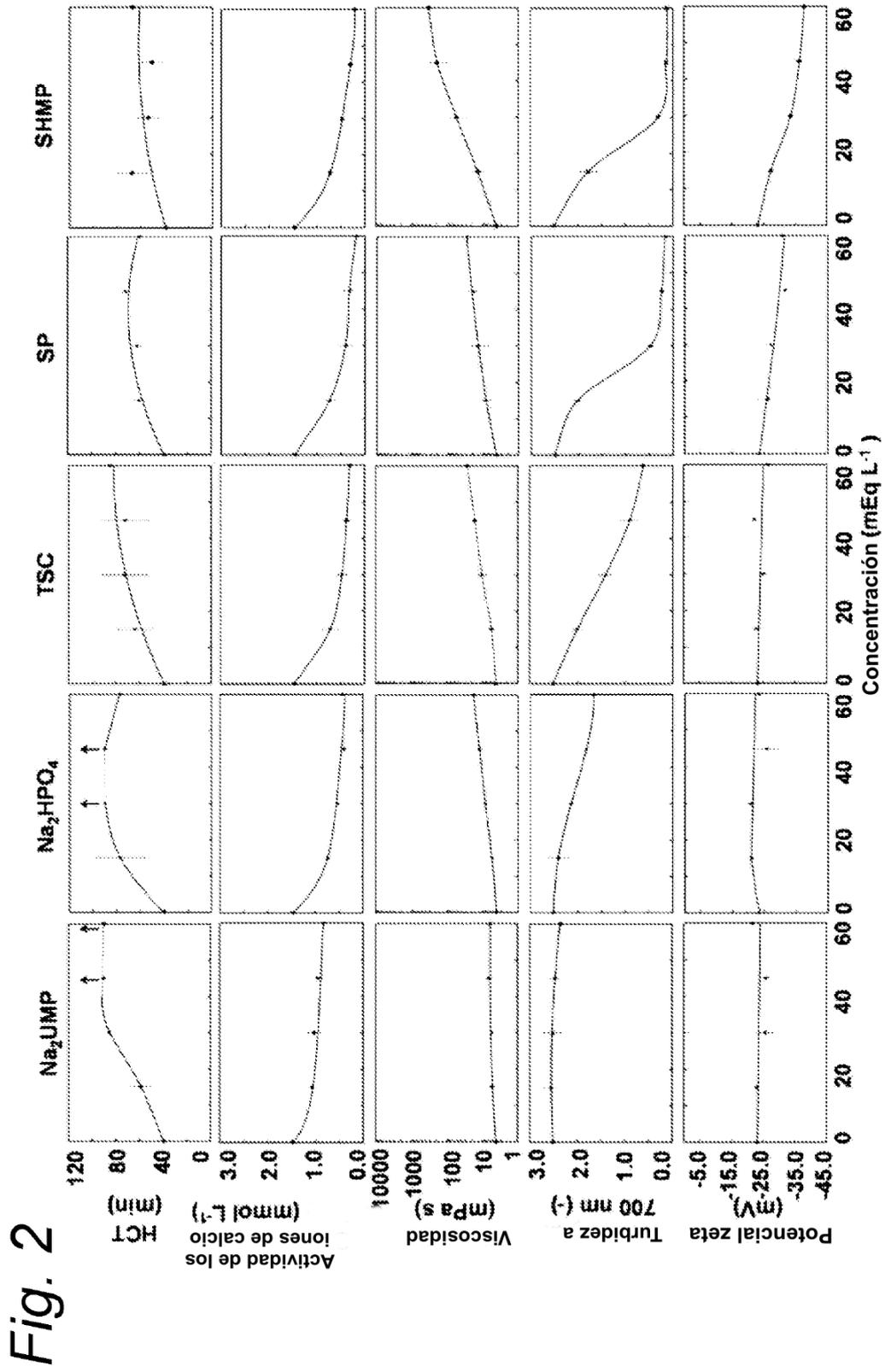


Fig. 3

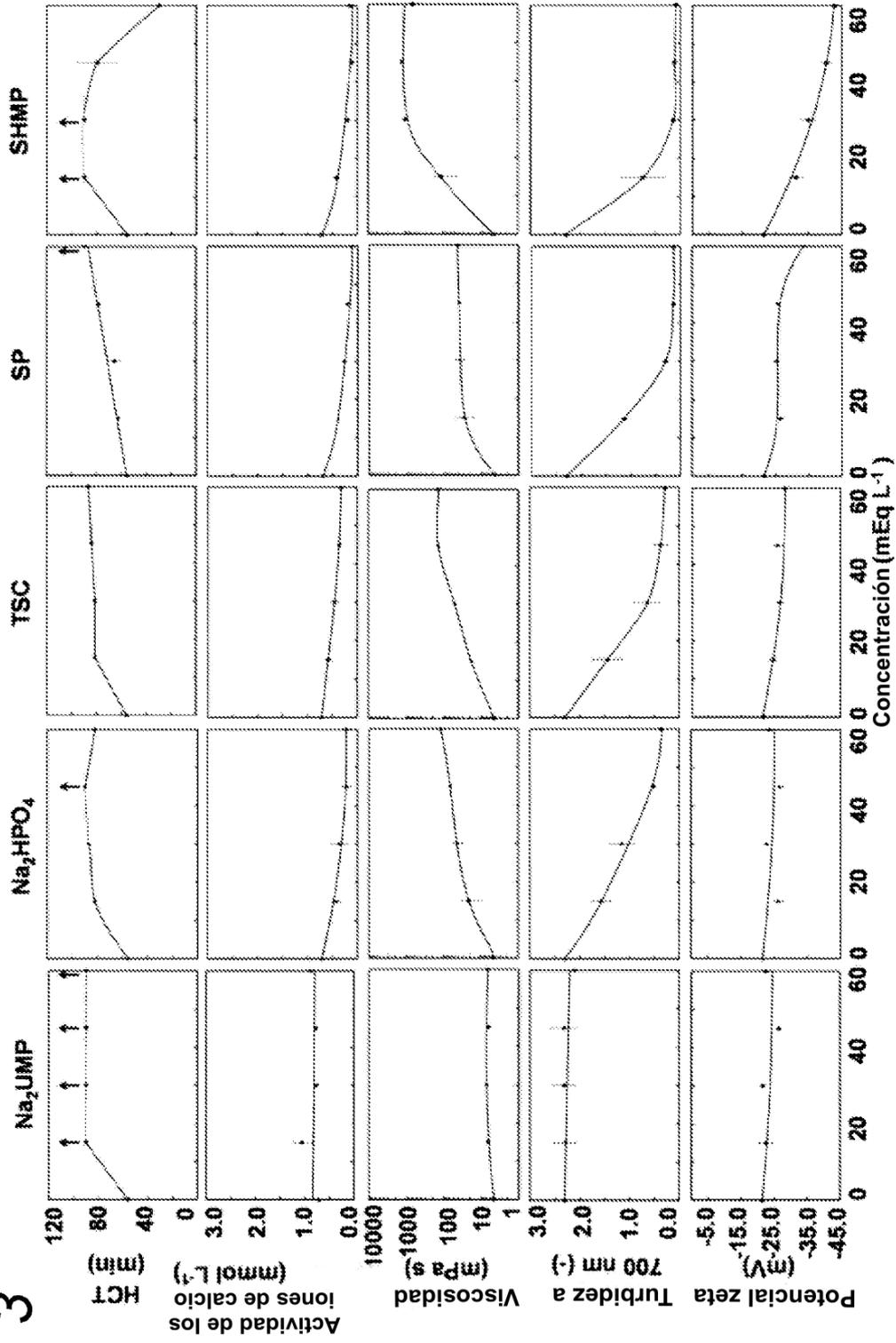


Fig. 4

