

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 665 933**

51 Int. Cl.:

A23L 33/00 (2006.01)

A23L 33/19 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.10.2009 PCT/US2009/061783**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.04.2010 WO10048474**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2009 E 09822753 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.02.2018 EP 2337450**

54 Título: **Métodos para preservar TGF- β endógeno**

30 Prioridad:

24.10.2008 US 108264 P
12.02.2009 US 370374

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.04.2018

73 Titular/es:

MJN U.S. HOLDINGS LLC (100.0%)
225 North Canal Street, 25th Floor
Chicago, Illinois 60606, US

72 Inventor/es:

GONZALEZ, JUAN M.;
BANAVARA, DATTATREYA y
ALVEY, JOHN D.

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 665 933 T3

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

DESCRIPCIÓN

Métodos para preservar TGF- β endógeno

5 Antecedentes del estado de la técnica

(1) Campo de la invención

10 La presente invención se refiere en general a métodos para preservar la bioactividad del factor de crecimiento transformante β (TGF- β) en productos nutricionales líquidos.

Divulgación de la invención

15 Brevemente, la presente invención se dirige, en una realización, a un método para preparar un producto nutricional líquido que retiene la bioactividad de TGF- β . Las etapas implican seleccionar uno o más ingredientes proteicos que han sido sometidos a una carga de calor que comprende calor medio o menos; combinar los ingredientes proteicos con todos los otros componentes del producto nutricional líquido para formar una suspensión; someter la suspensión a una presión de aproximadamente 2.500 libras por pulgada cuadrada (psi) (17,24 MPa) a aproximadamente 3.500 psi (24,13 MPa) a una temperatura de aproximadamente 55°C a aproximadamente 65°C durante aproximadamente 5 a 20 aproximadamente 20 segundos; someter la suspensión a una temperatura de aproximadamente 135°C a aproximadamente 150°C durante aproximadamente 1,5 a aproximadamente 15 segundos; y enfriar la suspensión espesa a una temperatura de menos de aproximadamente 8°C durante aproximadamente 30 minutos o menos.

Breve descripción de los dibujos

25

Una divulgación completa y habilitante de la presente invención, que incluye el mejor modo de la misma dirigido a un experto en la técnica, se expone en la memoria descriptiva, que se refiere a las figuras adjuntas, en las que:

La Figura 1 ilustra una realización de un método de la presente invención; y

30

La Figura 2 es un diagrama de barras que ilustra la bioactividad de la fórmula infantil producida de acuerdo con el nuevo proceso frente a la fórmula infantil producida de acuerdo con el proceso estándar.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

35

Ahora se hará referencia en detalle a las realizaciones de la invención, uno o más ejemplos de los cuales se exponen a continuación. Cada ejemplo se proporciona a modo de explicación de la invención, no como una limitación de la invención. De hecho, será evidente para los expertos en la técnica que pueden realizarse diversas modificaciones y variaciones en la presente invención sin apartarse del alcance o espíritu de la invención. Por ejemplo, las características ilustradas o descritas como parte de una realización, pueden usarse en otra realización para proporcionar una realización adicional.

40

Por lo tanto, se pretende que la presente invención cubra las modificaciones y variaciones que entran dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes. Otros objetivos, características y aspectos de la presente invención se divulgan o son obvias a partir de la siguiente descripción detallada. Un experto en la materia entenderá que la presente discusión es una descripción de ejemplos de realizaciones solamente, y no pretende limitar los aspectos más amplios de la presente invención.

45

Como se expuso anteriormente, la presente invención se refiere en general a métodos para preservar la bioactividad de TGF- β en productos nutricionales líquidos. Las referencias relacionadas con tales métodos pueden incluir las patentes de Estados Unidos Nos. 7.057.016 o 6.057.430 de Cerletti.

50

El factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) es el nombre general de una familia de polipéptidos, cuyos miembros tienen actividades reguladoras multifuncionales. Tres isoformas de mamífero reguladas diferencialmente (denominadas TGF- β 1, TGF- β 2 y TGF- β 3) desempeñan un papel importante en una multitud de procesos en el embrión en desarrollo, el lactante, el niño y el adulto. TGF- β es una citoquina homodimérica de 25 kDa conocida por mediar en las funciones pleiotrópicas tanto dentro del sistema inmune como sistémicamente. El TGF- β se expresa en varios tipos de células en la mucosa intestinal, incluidos linfocitos, células epiteliales, macrófagos y células del estroma, así como mediante células T, neutrófilos, macrófagos, células epiteliales, fibroblastos, plaquetas, osteoblastos, osteoclastos y otros. Además, el TGF- β está presente en la leche materna humana y puede influir en múltiples aspectos de la salud y el desarrollo infantil.

55

60

Los TGF- β se sintetizan como proteínas precursoras grandes que consisten en un prodominio del terminal amino, que comprende una secuencia señal y un complejo asociado a la latencia, y una subunidad madura del terminal carboxilo. Los TGF- β biológicamente activos son homodímeros que consisten en dos subunidades maduras idénticas unidas por disulfuro. La liberación del homodímero de TGF- β del complejo asociado a la latencia es necesaria para que el TGF- β ejerza actividad biológica sobre las células diana. La naturaleza del complejo asociado a la latencia y los mecanismos

65

responsables de la liberación de TGF- β son clave para comprender la actividad biológica de TGF- β *in vivo*. En el intestino humano, esto puede lograrse mediante la acción de enzimas proteolíticas, pH extremos, calor, calcio y/o desgarro mecánico.

5 Con base en los numerosos beneficios proporcionados por TGF- β , a menudo es importante que el factor de crecimiento esté presente, o complementado en diversos productos nutricionales líquidos. Por ejemplo, ciertas fuentes de proteínas en productos nutricionales pueden proporcionar una fuente de TGF- β . Alternativamente, si el producto nutricional en sí mismo no contiene TGF- β , el factor de crecimiento se puede complementar con el producto. En cualquier caso, sin embargo, es difícil retener la actividad biológica del TGF- β a través del proceso de fabricación de un producto nutricional líquido.

10 Los productos nutricionales líquidos no refrigerados, estables durante almacenamiento, se procesan típicamente usando un tratamiento térmico elevado para destruir las esporas bacterianas patógenas. Un proceso de retorta común podría calentar el producto a 130°C durante 2,5 minutos, dependiendo del contenido de sólidos del producto nutricional. Alternativamente, podría usarse ultra alta temperatura (UHT). La UHT calienta el producto a temperaturas en el intervalo de 135-150°C durante 1,5 a 15 segundos. TGF- β , un compuesto bioactivo lábil al calor, a menudo no puede sobrevivir al proceso de retorta común requerido para la fabricación de productos nutricionales líquidos estables durante el almacenamiento. Estos procesos a menudo desnaturalizan significativamente la estructura nativa de TGF- β , volviéndola así fisiológicamente inerte e incapaz de activarse en el intestino humano.

20 Por lo tanto, el problema técnico que se resolverá mediante la presente invención es proporcionar métodos para preparar productos nutricionales líquidos tales que TGF- β y otros componentes lábiles al calor retengan su bioactividad y disponibilidad. En una realización, la presente invención se dirige a un método de procesamiento y a una selección de ingredientes que retendrán los niveles de TGF- β , bioactividad y/o biodisponibilidad en un producto nutricional líquido basado en lácteos, no refrigerado, estable durante almacenamiento.

25 Antes de llegar a cualquier planta de procesamiento, la fabricación de materias primas lácteas, tales como leche descremada en polvo (también conocida como leche descremada en polvo), proteína en polvo del suero de la leche, leche condensada, caseína y otras, requieren algún nivel de calentamiento para garantizar su seguridad. De acuerdo con la invención, las materias primas lácteas se clasifican en función de los tratamientos térmicos acumulados que han recibido, como se muestra en las Tablas 1 y 2. Debido a que es difícil determinar el tipo de tratamiento térmico que la materia prima ha recibido tras la inspección, se miden los niveles de nitrógeno de la proteína de suero de leche sin desnaturalizar (WPN) de la materia prima para transmitir dicha información. La Tabla 1 indica los parámetros de tratamiento generalmente aceptados y los niveles de WPN para la leche descremada en polvo.

35 Tabla 1. Temperaturas, tiempos y niveles de WPN aproximados para leche descremada en polvo

	Calentamiento bajo	Calentamiento medio	Calentamiento alto
Temperatura por tratamiento térmico acumulado	70°C	70°C - 78°C	88°C
Tiempo de tratamiento térmico acumulado	2 minutos	20 minutos	30 minutos
Niveles de nitrógeno en proteína de suero sin desnaturalizar	6 mg/g o mayores	1,5 mg-5,99 mg/g	1,5 mg/g o menos

40 El nivel de WPN en leche descremada en polvo es la cantidad de proteína de suero no desnaturalizada presente en la leche descremada en polvo expresada en miligramos de nitrógeno por gramo de leche descremada en polvo. En una realización particular, para determinar el nivel de WPN de una leche descremada en polvo, la leche en polvo puede rehidratarse, calentarse en una solución saturada de cloruro de sodio y filtrarse. El filtrado contiene las proteínas de suero no desnaturalizadas y las fracciones de nitrógeno no proteico. El filtrado puede luego diluirse en una solución salina saturada y acidificarse, y la solución puede medirse por espectrofotometría. La transmitancia obtenida puede entonces compararse con una curva estándar que gráfica los valores de nitrógeno Kjeldahl de los estándares frente a la transmitancia para esos estándares. Este método a menudo se conoce como la prueba de Harland-Ashworth. En otras realizaciones, puede usarse cualquier método conocido en la técnica para determinar los niveles de WPN en leche descremada en polvo.

50 Por lo tanto, tal como se usa en el presente documento, una leche descremada en polvo de "calentamiento bajo" se define como una que contiene al menos aproximadamente 6 mg/g de WPN a su llegada para el procesamiento. La leche descremada en polvo de bajo calentamiento probablemente ha experimentado una exposición a una temperatura inferior a aproximadamente 70°C durante aproximadamente 30 segundos a 5 minutos.

55 Una leche descremada en polvo de "calentamiento medio" se define como una que contiene entre aproximadamente 1,51 mg/g y aproximadamente 5,99 mg/g de WPN a su llegada para el procesamiento. La leche descremada en polvo de calentamiento medio probablemente ha experimentado exposición a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 70°C a 78°C durante aproximadamente 15 a 25 minutos.

60 Como se usa en este documento, una leche descremada en polvo de "calentamiento alto" se define como una que contiene aproximadamente 1,5 mg/g o menos de WPN a su llegada para el procesamiento. La leche descremada en

polvo de calentamiento alto probablemente haya estado expuesta a una temperatura de al menos 88°C durante 30 minutos o más.

5 La Tabla 2 indica los parámetros de tratamiento y los niveles de WPN para la proteína en polvo de suero de leche, que incluye el concentrado de proteína de suero de leche y el aislado de proteína de suero de leche. Véase Mahmoud, et al., Factors Affecting Measurement of Undenatured Whey Protein Nitrogen in Dried Whey by a Modified Harland-Ashworth Test, J. Dairy Sci. 73:1694-1699 (1990).

Tabla 2. Temperaturas, tiempos y niveles de WPN aproximados para la proteína en polvo de suero de leche

	Calentamiento bajo	Calentamiento medio	Calentamiento alto
Temperatura por tratamiento térmico acumulado	63°C	70°C - 78°C	91°C
Tiempo de tratamiento térmico acumulado	30 minutos	20 minutos	30 minutos
Niveles de nitrógeno en proteína de suero sin desnaturalizar	14,5 mg/g o mayor	5,99 mg-14,49 mg/g	6,0 mg/g o menos

10

Los niveles de WPN en proteína en polvo de suero de leche son más altos que los de leche en polvo descremada estándar porque la composición de proteína de suero de leche en proteína en polvo de suero de leche, tal como concentrado de proteína de suero, que es aproximadamente 50% de proteína, es al menos 6 a 7 veces más alto que en leche en polvo descremada en base seca. Como el método detecta la desnaturalización en la proteína de suero de

15

leche, se espera que los resultados de la proteína en polvo de suero de leche sean más altos que los resultados obtenidos con leche en polvo descremada.

Por lo tanto, como se usa en el presente documento, una proteína en polvo de suero de leche de "calentamiento bajo" se define como una que contiene al menos aproximadamente 14,5 mg/g de WPN a su llegada para el procesamiento. La proteína en polvo de suero de leche de calentamiento bajo probablemente ha experimentado exposición a una temperatura de menos de aproximadamente 63°C durante aproximadamente 30 segundos a 30 minutos.

20

25

Una proteína en polvo de suero de leche de "calentamiento medio" se define como una que contiene entre aproximadamente 5,99 mg/g y aproximadamente 14,49 mg/g de WPN a su llegada para el procesamiento. La proteína en polvo de suero de leche de calentamiento medio probablemente ha experimentado exposición a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 70°C a 78°C durante aproximadamente 15 a 25 minutos.

30

Como se usa en el presente documento, una proteína en polvo de suero de leche de "calentamiento alto" se define como una que contiene aproximadamente 6,0 mg/g o menos de WPN a su llegada para el procesamiento. La proteína en polvo de suero de leche de calentamiento alto probablemente haya experimentado una exposición a una temperatura de al menos 91°C durante 30 minutos o más.

35

La selección de los ingredientes de acuerdo con la invención es importante porque los niveles de tratamiento térmico afectan las propiedades fisicoquímicas de una fuente de proteína, así como su valor en el procesamiento de los alimentos. La desnaturalización inducida por calor de las proteínas de suero de leche hace que interactúen con la superficie de las micelas de caseína. Esta desnaturalización proporciona una mayor estabilidad térmica a la caseína de la leche durante la fabricación de la fórmula líquida. Sin embargo, este proceso también desnaturaliza una serie de componentes bioactivos presentes en la leche, tales como factores de crecimiento como TGF-β.

40

En una realización de la presente invención, el método comprende la selección particular del material de proteína de acuerdo con la carga de calor recibida durante su fabricación y los procesos térmicos aplicados al producto nutricional durante el procesamiento.

45

En una realización, la selección de materiales proteicos para el producto nutricional incluye una fuente de leche descremada en polvo. En esta realización, la fuente de leche descremada en polvo puede tener un WPN de más de aproximadamente 1,5 mg/g. En otra realización, la fuente de leche descremada en polvo puede tener un WPN de más de aproximadamente 2,0 mg/g. En otra realización más, la fuente de leche descremada en polvo puede tener un WPN de más de aproximadamente 3,0 mg/g. En una realización adicional, la fuente de leche descremada en polvo puede tener un WPN de más de aproximadamente 4,0 mg/g. En otra realización más, la fuente de leche descremada en polvo puede tener un WPN mayor de aproximadamente 5,0 mg/g. En una realización particular, la fuente de leche descremada en polvo puede tener un WPN de más de aproximadamente 6,0 mg/g.

50

55

En algunas realizaciones, la fuente de leche descremada en polvo puede tener un WPN de aproximadamente 3 mg/g a aproximadamente 10 mg/g. En algunas realizaciones, la leche descremada en polvo contiene un nivel de WPN de aproximadamente 1,5 mg/g a aproximadamente 8 mg/g. En aún otras realizaciones, la leche descremada en polvo contiene un nivel de WPN de entre aproximadamente 5 mg/g y aproximadamente 8 mg/g. Si bien los niveles de WPN se clasifican en este documento de acuerdo con calentamiento bajo, medio y alto, debe entenderse que una leche descremada en polvo de calentamiento medio con un nivel de WPN más cercano a aproximadamente 5,99 mg/g que a aproximadamente 1,5 mg/g puede tener cantidades endógenas mayores de TGF-β presentes en la misma.

60

En otra realización, la selección de materiales proteicos para el producto nutricional incluye una fuente de proteína en polvo de suero de leche. En esta realización, la proteína en polvo de suero de leche se puede seleccionar del grupo que consiste en suero de leche dulce, suero de leche desmineralizado, concentrado de proteína de suero de leche, aislado de proteína de suero de leche y combinaciones de los mismos. En cada realización, la fuente de proteína en polvo de suero de leche ha recibido calentamiento medio, calentamiento bajo o no ha recibido calentamiento. Por lo tanto, en una realización, la proteína en polvo de suero de leche puede tener un WPN de más de aproximadamente 6,0 mg/g. En otra realización, la proteína en polvo de suero de leche puede tener un WPN de más de aproximadamente 8,0 mg/g. En otra realización más, la proteína en polvo de suero de leche puede tener un WPN de más de aproximadamente 10,0 mg/g. En una realización adicional, la proteína en polvo de suero de leche puede tener un WPN de más de aproximadamente 12,0 mg/g. En otra realización más, la proteína en polvo de suero de leche puede tener un WPN de más de aproximadamente 14,0 mg/g. En una realización particular, la proteína en polvo de suero de leche puede tener un WPN de más de aproximadamente 14,5 mg/g.

En algunas realizaciones, la proteína en polvo de suero de leche puede tener un WPN de aproximadamente 6 mg/g a aproximadamente 15 mg/g. En algunas realizaciones, la proteína en polvo de suero de leche contiene un nivel de WPN de aproximadamente 10 mg/g a aproximadamente 20 mg/g. En aún otras realizaciones, la proteína en polvo de suero de leche contiene un nivel de WPN de entre aproximadamente 12 mg/g y aproximadamente 15 mg/g. Si bien los niveles de WPN se clasifican aquí de acuerdo con el calentamiento bajo, medio y alto, se debe entender que una proteína en polvo de suero de leche de calentamiento medio que tiene un nivel de WPN más cercano a aproximadamente 14,5 mg/g que a aproximadamente 6,0 mg/g puede tener cantidades endógenas mayores de TGF- β presente en el mismo.

En otra realización, la selección de materiales proteicos para el producto nutricional incluye una fuente de caseína seleccionada del grupo que consiste en leche entera en polvo, concentrado de proteína de leche, aislado de proteína de leche y combinaciones de los mismos. En cada realización, la fuente de caseína se ha seleccionado con base en un historial de tratamiento térmico mínimo. Al minimizar la cantidad de calor aplicado a los materiales proteicos, el TGF- β puede protegerse mejor y puede sobrevivir al proceso UHT durante la fabricación del producto. El TGF- β en los materiales de suero de leche es más sensible a la desnaturalización térmica que el TGF- β presente en los ingredientes que contienen caseína. Esto generalmente se atribuye a un efecto protector que las caseínas ejercen sobre el componente bioactivo.

En algunas realizaciones, tanto fuentes de caseína como de proteína de suero de leche se utilizan en el producto nutricional.

Antes de la presente invención, un experto en la materia no habría seleccionado materias primas que tengan los niveles de WPN reivindicados en la presente memoria. El experto en la materia cree que el procesamiento térmico de un producto nutricional líquido destruiría cualquier actividad de TGF- β de los ingredientes. En consecuencia, no hubo motivación para seleccionar una materia prima de calentamiento bajo o mediano. Además, la selección de materias primas de calentamiento alto fue realmente la preferida antes de la presente invención debido al hecho de que la desnaturalización de las proteínas mediante técnicas de fabricación de alta temperatura proporcionó un producto final que tenía menos formación de espuma que uno con proteínas no desnaturalizadas. Los inventores han descubierto sorprendentemente que seleccionando los ingredientes que tienen niveles de WPN como se reivindica en este documento y administrando las etapas de procesamiento reivindicadas, se pueden retener los niveles endógenos de TGF- β y la actividad en el producto final.

En una realización de la invención, los ingredientes de proteína se seleccionan basándose en su tratamiento térmico de fabricación y se combinan con todos los demás componentes del producto nutricional líquido para formar una suspensión. En algunas realizaciones, la suspensión se pasteuriza primero. La pasteurización puede realizarse a una temperatura de aproximadamente 70°C a aproximadamente 75°C durante aproximadamente 5 a 25 segundos. En otras realizaciones, la pasteurización puede realizarse a una temperatura de aproximadamente 72°C durante aproximadamente 10-20 segundos. En otras realizaciones más, la pasteurización se puede llevar a cabo a una temperatura de aproximadamente 72°C durante aproximadamente 15 segundos.

Esta suspensión se homogeneiza a continuación. La etapa de homogeneización puede realizarse a una presión de entre aproximadamente 2.500 libras por pulgada cuadrada (psi) (17,24 MPa) y 3.500 psi (24,13 MPa). En otras realizaciones, la presión puede ser de aproximadamente 3.000 psi (20,68 MPa). El intervalo de temperatura puede ser de aproximadamente 55°C a aproximadamente 65°C para la etapa de homogeneización. La etapa de homogeneización, en una realización, puede tener lugar durante aproximadamente 5 a 20 segundos. En una realización particular, la etapa de homogeneización se realiza a una presión de aproximadamente 3.000 psi (20,68 MPa) y una temperatura en el intervalo de aproximadamente 55°C a aproximadamente 65°C durante aproximadamente 5 a 20 segundos.

La emulsión homogeneizada se trata luego con UHT. En una realización, el tratamiento con UHT se lleva a cabo a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 135°C a aproximadamente 150°C. En otras realizaciones, el tratamiento con UHT se lleva a cabo a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 141°C a aproximadamente 145°C. El tratamiento con UHT puede tener lugar durante aproximadamente 1,5 a 15 segundos. En una realización particular, el tratamiento con UHT se lleva a cabo a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 141°C a aproximadamente 145°C durante aproximadamente 5 segundos.

El proceso implica luego una etapa de enfriamiento rápido. En esta etapa, el producto puede enfriarse a una temperatura inferior a aproximadamente 8°C. La etapa de enfriamiento puede ocurrir en menos de aproximadamente 30 minutos.

5 Después de que el producto se haya enfriado, el producto puede llenarse asépticamente en el formato deseado para volver a un producto lácteo no refrigerado, estable durante almacenamiento, para que tenga niveles activos de TGF-β en el mismo.

10 En una realización alternativa del método, la suspensión puede procesarse usando tecnología de procesamiento de alta presión, bajo una combinación de presión en el intervalo de aproximadamente 400 MPa a aproximadamente 600 MPa y una temperatura en el intervalo de aproximadamente 60°C a aproximadamente 80°C durante aproximadamente 1 a 3 minutos. Este material procesado a alta presión puede homogeneizarse e incluso tratarse adicionalmente con UHT, si es necesario, como se discutió anteriormente. Esta realización alternativa de alta presión permite que el producto nutricional retenga su bioactividad de TGF-β. El material tratado a alta presión también se puede combinar con uno o
15 todos los procesos anteriores para obtener un producto estable durante almacenamiento que tenga TGF-β activo y otros compuestos bioactivos.

En una realización particular, mostrada en la Figura 1, se pueden bombear uno o más ingredientes de calentamiento bajo o medio a través de un sistema de filtración de flujo cruzado, tal como un filtro cerámico de 0,14 micrómetros. Estos
20 ingredientes pueden comprender ingredientes de suero de leche líquidos o concentrados de proteína de suero de leche reconstituida, opcionalmente a bajo pH. El producto retenido puede entremezclarse con otros ingredientes necesarios para el producto nutricional. La mezcla de producto retenido puede luego procesarse térmicamente y transferirse a un tanque de producto a granel aséptico. El filtrado de la etapa de filtración de flujo cruzado anterior se puede bombear nuevamente a través de otro sistema de filtración de flujo cruzado, tal como un filtro de membrana enrollado en espiral de 0,20 micras. El filtrado resultante puede dosificarse asépticamente en el producto tratado térmicamente y envasarse
25 asépticamente para obtener un producto estable durante almacenamiento.

En algunas realizaciones, el proceso de la invención se usa para producir productos líquidos no refrigerados estables durante almacenamiento. Sin embargo, el proceso también puede usarse para producir productos refrigerados. En una
30 realización, el método puede modificarse para complementar los niveles endógenos de TGF-β presente en las materias primas seleccionadas.

En algunas realizaciones, el producto nutricional puede ser una fórmula infantil. Tal como se usa en el presente documento, el término "infantil" significa una persona que no tiene más de 12 meses de edad. El término "fórmula infantil" se aplica a una composición en forma líquida o en polvo destinada a ser utilizada, cuando sea necesario, como sustituto de la leche humana (sustituto de la leche materna) para satisfacer los requisitos nutricionales normales de los
35 infantes. En una realización separada, el producto nutricional puede ser un fortificante de leche humana, lo que significa que es una composición que se agrega a la leche humana con el fin de aumentar el valor nutricional de la leche humana. Como un fortificante de leche humana, la composición de la invención puede estar en forma de polvo o líquido. En otra realización, el producto nutricional de la invención puede ser una fórmula de seguimiento. El término "fórmula de seguimiento" tal como se usa en el presente documento se refiere a los alimentos destinados a ser utilizados como parte líquida de la dieta de destete para el infante a partir del sexto mes de vida y para niños pequeños. Como se usa en el presente documento, el término "niño pequeño" o "niños pequeños" significa personas desde la edad de más de 12 meses hasta la edad de tres años. En otra realización más, el producto nutricional de la invención puede ser una
40 composición nutricional para niños. El término "niño" o "niños" tal como se usa en el presente documento significa personas mayores de 3 años y anteriores a la adolescencia. En otra realización más, el producto nutricional de la invención puede ser una leche para el crecimiento. El término "leche para el crecimiento" se refiere a una amplia categoría de bebidas enriquecidas a base de leche destinadas a ser utilizadas como parte de una dieta diversa con el fin de apoyar el crecimiento y desarrollo normal de los niños de 1 a 6 años.
45

En algunas realizaciones, la composición es un producto acidificado. Como se usa en el presente documento, el término "producto acidificado" se refiere a una composición nutricional que tiene un pH de equilibrio final de 4,6 o inferior y una actividad de agua superior a 0,85. En otra realización más, el producto nutricional puede ser un alimento médico. El término "alimento médico" se define como un alimento que está formulado para ser consumido o administrado por vía enteral bajo la supervisión de un médico y que está destinado al manejo dietético específico de una enfermedad o
50 afección para la cual se establecen requisitos nutricionales distintivos, basados en principios científicos reconocidos, mediante evaluación médica. En general, para ser considerado un alimento médico, un producto debe, como mínimo, cumplir con los siguientes criterios: el producto debe ser un alimento para alimentación oral o por sonda; el producto debe estar etiquetado para el manejo dietético de un trastorno médico específico, enfermedad o afección para la cual existen requisitos nutricionales distintivos; y el producto debe estar destinado a ser utilizado bajo supervisión médica.
55

Los productos nutricionales de la invención pueden proporcionar un soporte nutricional mínimo, parcial o total. Las composiciones pueden ser suplementos nutricionales o sustitutos de comidas. En algunas realizaciones, las composiciones pueden administrarse junto con un alimento o composición nutricional. En esta realización, las composiciones pueden entremezclarse con el alimento u otras composiciones nutritivas antes de la ingestión por el
60 sujeto o pueden administrarse al sujeto antes o después de la ingestión de un alimento o composición nutricional. Las

composiciones pueden administrarse a bebés prematuros que reciben fórmula infantil, leche materna, un fortificante de leche humana, o combinaciones de los mismos.

Las composiciones pueden, pero no necesitan, ser nutricionalmente completas. El experto en la materia reconocerá que "nutricionalmente completo" varía dependiendo de una serie de factores que incluyen, entre otros, la edad, el estado clínico y la ingesta dietética del sujeto al que se aplica el término. En general, "nutricionalmente completo" significa que la composición nutricional de la presente invención proporciona cantidades adecuadas de todos los carbohidratos, lípidos, ácidos grasos esenciales, proteínas, aminoácidos esenciales, aminoácidos condicionalmente esenciales, vitaminas, minerales y la energía requerida para un crecimiento normal. Aplicado a los nutrientes, el término "esencial" se refiere a cualquier nutriente que no puede ser sintetizado por el cuerpo en cantidades suficientes para el crecimiento normal y para mantener la salud y que, por lo tanto, debe ser suministrado por la dieta. El término "condicionalmente esencial" aplicado a los nutrientes significa que el nutriente debe ser suministrado por la dieta en condiciones en las que el cuerpo no dispone de cantidades adecuadas del compuesto precursor para que se produzca la síntesis endógena.

La composición que es "nutricionalmente completa" para el bebé prematuro proporcionará, por definición, cantidades cualitativa y cuantitativamente adecuadas de todos los carbohidratos, lípidos, ácidos grasos esenciales, proteínas, aminoácidos esenciales, aminoácidos condicionalmente esenciales, vitaminas, minerales y la energía requerida para el crecimiento del bebé prematuro. La composición que es "nutricionalmente completa" para el bebé a término, por definición, proporcionará cantidades cualitativa y cuantitativamente adecuadas de todos los carbohidratos, lípidos, ácidos grasos esenciales, proteínas, aminoácidos esenciales, aminoácidos condicionalmente esenciales, vitaminas, minerales y energía requeridos para el crecimiento del bebé a término. La composición que es "nutricionalmente completa" para un niño proporcionará, por definición, cantidades cualitativas y cuantitativas adecuadas de todos los carbohidratos, lípidos, ácidos grasos esenciales, proteínas, aminoácidos esenciales, aminoácidos condicionalmente esenciales, vitaminas, minerales y energía requerida para el crecimiento de un niño.

Si el producto nutricional es una fórmula infantil o suplemento de leche humana, puede ser un producto para un bebé a término, un bebé prematuro, un bebé de bajo peso al nacer, un bebé de muy bajo peso al nacer, o un bebé de un peso extremadamente bajo al nacer. Tal como se usa en el presente documento, el término "a término completo" se refiere a neonatos nacidos después de aproximadamente 37 semanas de gestación hasta 42 semanas de gestación, pero menos de 1 mes de edad. El término "infante a término completo" o "infante" tal como se usa en el presente documento se refiere a un infante de menos de doce meses de edad. Como se usa en el presente documento, los términos "prematuro" o "bebé prematuro" incluyen bebés nacidos antes de aproximadamente 37 semanas de gestación. Tal como se usa en el presente documento, el término "bajo peso al nacer" o "bebé con bajo peso al nacer" son aquellos bebés que pesan de aproximadamente 3,3 a aproximadamente 5,5 libras (1,50 kg a 2,49 kg) al nacer. Los "recién nacidos de muy bajo peso al nacer" son aquellos que pesan menos de alrededor de 3,3 libras (1,50 kg) a alrededor de 2,2 libras (1,00 kg) al nacer. Los "recién nacidos de peso extremadamente bajo" o "extremadamente pequeños" son aquellos que pesan menos de 2,2 libras (1,00 kg) al nacer.

En ciertas realizaciones, el producto nutricional formado mediante el método de la invención se puede administrar por vía enteral o parenteral. Como se usa en este documento, "enteral" significa a través o dentro del tracto gastrointestinal o digestivo, y la "administración enteral" incluye alimentación oral, alimentación intragástrica, administración transpilórica, o cualquier otra introducción en el tracto digestivo. El término "parenteralmente" significa introducido en el cuerpo o administrado de una manera que no sea a través del tracto digestivo, tal como por inyección intravenosa o intramuscular.

En una realización, la cantidad de lípido o grasa en la composición puede variar de aproximadamente 4 a aproximadamente 7 g/100 kcal, es decir, de 0,010 a 0,017 g/kJ. En otra realización, la cantidad de grasa puede variar de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 g/100 kcal, es decir, de 0,012 a 0,014 g/kJ. En una realización adicional, la cantidad de grasa puede variar de aproximadamente 5,3 a aproximadamente 5,6 g/100 kcal, es decir, de 0,0127 a 0,0134 g/kJ. En otra realización más, la cantidad de grasa puede variar de aproximadamente 5,4 a aproximadamente 5,9 g/100 kcal, es decir, de 0,0129 a 0,0141 g/kJ. En otra realización más, la cantidad de grasa puede variar de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 5,7 g/100 kcal, es decir, de 0,0131 a 0,0136 g/kJ. Las fuentes adecuadas de lípidos para poner en práctica la presente invención pueden ser conocidas o usadas en la técnica, incluidas, pero sin limitarse a, fuentes animales, por ejemplo, grasa láctea, mantequilla, grasa de mantequilla, lípido de yema de huevo; fuentes marinas, tales como aceites de pescado, aceites marinos, aceites de células individuales; aceites de plantas y vegetales, tales como aceite de maíz, canola, girasol, soja, palmoleína, aceite de coco, aceite de girasol alto en oleicos, aceite de onagra, aceite de colza, aceite de oliva, aceite de linaza, aceite de semilla de lino (aceite de semilla de lino), aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo con alto contenido de oleicos, estearina de palma, aceite de semilla de palma, aceite de germen de trigo; aceites y emulsiones de triglicéridos de cadena media y ésteres de ácidos grasos; y cualquier combinación de los mismos.

En una realización de la invención, la cantidad de proteína en la composición puede variar de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 g/100 kcal, es decir, de 0,0024 a 0,012 g/kJ. En otra realización, la cantidad de proteína puede ser de aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,5 g/100 kcal, es decir, de 0,0043 a 0,0060 g/kJ. En otra realización, la cantidad de proteína puede ser de aproximadamente 2,0 a aproximadamente 2,2 g/100 kcal, es decir, de 0,048 a 0,0053 g/kJ. En una realización, la cantidad de proteína puede ser de aproximadamente 2,1 g/100 kcal, es decir, 0,0050 g/kJ.

Las fuentes de proteína de leche bovina útiles en la práctica de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, proteínas de leche en polvo, concentrados de proteína de leche, aislados de proteínas de leche, sólidos de leche descremada, leche descremada, leche descremada en polvo, proteína de suero de leche, aislados de proteína de suero de leche, concentrados de proteína de suero de leche, suero dulce, suero ácido, caseína, caseína ácida, caseinato (por ejemplo, caseinato sódico, caseinato de calcio y sodio, caseinato de calcio) y cualquier combinación de los mismos.

En una realización de la invención, las proteínas se proporcionan como proteínas intactas. En otras realizaciones, las proteínas se proporcionan como una combinación de proteínas intactas y proteínas parcialmente hidrolizadas, con un grado de hidrólisis de entre aproximadamente 4% y 10%. En otra realización más, la fuente de proteína puede complementarse con péptidos que contienen glutamina.

En una realización particular de la invención, la relación de suero:caseína es similar a la encontrada en la leche materna humana. En una realización, la fuente de proteína comprende de aproximadamente 40% a aproximadamente 70% de proteína de suero de leche. En otra realización, la fuente de proteína puede comprender de aproximadamente 30% a aproximadamente 60% de caseínas. En una realización, la fuente de proteína puede comprender de aproximadamente 40% a aproximadamente 70% de proteína de suero de leche y de aproximadamente 30% a aproximadamente 60% de caseínas.

La cantidad de carbohidrato en la composición de la invención puede, en una realización, variar de aproximadamente 8 a aproximadamente 12 g/100 kcal, es decir, de 0,019 a 0,029 g/kJ. En otra realización, la cantidad de carbohidrato puede variar de aproximadamente 10,5 a 11 g/100 kcal, es decir, de 0,025 a 0,026 g/kJ. En una realización particular, la cantidad de carbohidrato puede ser de aproximadamente 10,6 g/100 kcal, es decir, 0,0253 g/kJ. Las fuentes de carbohidratos pueden ser conocidas o usadas en la técnica, por ejemplo, lactosa, fructosa, glucosa, jarabe de maíz, sólidos de jarabe de maíz, maltodextrinas, sacarosa, almidón, sólidos de jarabe de arroz, almidón de arroz, almidón de maíz modificado, almidón de tapioca modificado, harina de arroz, harina de soja y combinaciones de los mismos.

En una realización particular, el componente de carbohidrato puede estar compuesto por 100% de lactosa. En aún otra realización, el componente de carbohidrato comprende entre aproximadamente 0% y 60% de lactosa. En otra realización, el componente de carbohidrato comprende entre aproximadamente 15% y 55% de lactosa. En otra realización más, el componente de carbohidrato comprende entre 20% y 30% de lactosa. En estas realizaciones, la fuente restante de carbohidrato puede proporcionarse mediante uno o más de aquellos conocidos en la técnica, que incluyen, pero no se limitan a, aquellos anteriormente descritos como adecuados para poner en práctica la presente invención.

La composición nutricional de la presente invención puede incluir opcionalmente una o más de las siguientes vitaminas o derivados de la misma, que incluyen, pero no se limitan a, biotina, trituración de biotina, vitamina B₁ (por ejemplo, tiamina, pirofosfato de tiamina, clorhidrato de tiamina, trifosfato de tiamina, mononitrato de tiamina), vitamina B₂ (por ejemplo, riboflavina, mononucleótido de flavina, dinucleótido de flavina adenina, lactoflavina, ovoflavina, riboflavina de sodio, riboflavina-5'-fosfato), vitamina B₃ (por ejemplo, niacina, ácido nicotínico, nicotinamida, niacinamida, dinucleótido de adenina nicotinamida, mononucleótido de nicotinamida, fosfato de dinucleótido de nicotinamida adenina, ácido piridin-3-carboxílico, triptófano precursor de vitamina B₃), ácido fólico (por ejemplo, folato, folacina, ácido pteroilglutámico, ácido pteroilmonoglutámico, pterilpoliglutamatos), ácido pantoténico (por ejemplo, pantotenol, pantotenato de calcio), vitamina B₆ (p. ej., clorhidrato de piridoxina, piridoxina, piridoxina-5'-fosfato, piridoxal, piridoxal-5'-fosfato, piridoxamina, piridoxamina-5'-fosfato, glucósido de piridoxina), vitamina B₁₂ (por ejemplo, cobalamina, metilcobalamina, desoxiadensilcobalamina, cianocobalamina, hidroxicobalamina, adenosilcobalamina, 5'-desoxiadensilcobalamina), vitamina C (por ejemplo, ácido ascórbico, ácido deshidroascórbico, ácido L-ascórbico, L-ascorbato de sodio, L-ascorbato de calcio, palmitato de ascorbilo), vitamina A (p. ej., retinol, retinal, ácido retinoico, palmitato de vitamina A, acetato de retinilo, palmitato de retinilo, ésteres de palmitato de retinilo, ésteres de retinilo), β-caroteno, α-caroteno, vitamina D (por ejemplo, vitamina D₃, calciferol, colecalciferol, dihidroxivitamina D, 1,25-dihidroxicolecalciferol, 7-deshidrocolesterol, ergocalciferol), colina (por ejemplo, cloruro de colina, bitartrato de colina, lisofosfatidilcolina), vitamina E (por ejemplo, acetato de vitamina E, acetato de tocoferilo de vitamina E, α-tocoferol, acetato de α-tocoferol, succinato de α-tocoferol, nicotinato de α-tocoferol, ésteres de α-tocoferol, RRR-α-tocoferol, acetato de RRR-α-tocoferol, succinato de RRR-α-tocoferol, acetato de dL-α-tocoferol, succinato de dL-α-tocoferilo, dL-α-tocoferol, acetato de dL-α-tocoferol, succinato de dL-α-tocoferol, γ-tocoferol), vitamina K (por ejemplo, vitamina K₁ fitonadiona, vitamina K₂, vitamina K₃, menadiona, menaquinona, menaquinona-7, menaquinona-4, menaquinona-8, menaquinona-8H, menaquinona-9, menaquinona-9H, menaquinona-10, menaquinona-11, menaquinona-12, menaquinona-13, filoquinona, naftoquinona, 2',3'-dihidrofiloquinona), carnitina, L-carnitina, inositol, taurina y cualquier combinación de los mismos.

La composición nutricional de la presente invención puede incluir opcionalmente uno o más de los siguientes minerales o derivados de los mismos, que incluyen, pero no se limitan a, boro, calcio, acetato de calcio, aspartato de calcio, carbonato de calcio, cloruro de calcio, citrato de calcio, citrato malato de calcio, D-sacarato de calcio, gluconato de calcio, monohidrato de gluconato de calcio, fosfato cálcico de glicerol, lactato de calcio, fosfato de calcio, propionato de calcio, sulfato de calcio, cloruro, cromo, cloruro de cromo, picolinato de cromo, cromo trivalente, cobre, gluconato de cobre, sulfato cúprico, fluoruro, yoduro, yodo, yodato de calcio, yoduro cuproso, yodato de potasio, yoduro de potasio, hierro, trituración de hierro, hierro elemental, sulfato ferroso heptahidratado, hierro carbonilo, hierro férrico, gluconato

5 ferroso, sulfonato ferroso de glicina, hierro ferroso, fumarato ferroso, ortofosfato férrico, hierro polisacárido, magnesio, carbonato de magnesio, hidróxido de magnesio, óxido de magnesio, fosfato de magnesio, estearato de magnesio, sulfato de magnesio, manganeso, acetato de manganeso, cloruro de manganeso, sulfato de manganeso monohidratado, molibdeno, molibdato de sodio, molibdeno anhidro, fósforo, potasio, acetato de potasio, bicarbonato de potasio, cloruro de potasio, citrato de potasio, hidróxido de potasio, fosfato de potasio selenio, selenato, trituración de selenita, docusato de sodio, azufre, sodio, cloruro de sodio, citrato de sodio, selenita de sodio, sulfato de sodio, sulfato inorgánico, zinc, gluconato de zinc, óxido de zinc, sulfato de zinc, sulfato de zinc monohidratado y cualquier combinación de los mismos. Ejemplos no limitantes de derivados de compuestos minerales incluyen sales, sales alcalinas, polisacáridos, ésteres, minerales elementales y quelatos de cualquier compuesto mineral.

10 En algunas realizaciones de la invención, la fuente complementaria de calcio en la composición nutricional comprende gluconato de calcio solo o en combinación con una fuente de calcio seleccionada del grupo que consiste en lactato de calcio, sulfato de calcio, cloruro de calcio, citrato de calcio, fosfato de calcio, D-sacarato de calcio, aspartato de calcio, propionato de calcio y combinaciones de los mismos. En una realización particular de la invención, la única fuente complementaria de calcio en la composición nutricional comprende gluconato de calcio.

15 En una realización separada, la composición de la invención puede comprender una composición nutritiva para niños proporcionada como leche de crecimiento. Tal invención puede tener un tamaño de porción estándar de 200 mL, proporcionando de aproximadamente 60 a 75 kcal/100 mL, es decir, de 251 a 314 kJ/100 mL de energía, con una ingesta recomendada de dos a tres porciones por día. En tal realización, las cantidades y tipos de proteínas, lípidos y carbohidratos pueden variar. La proteína puede comprender de aproximadamente 2,5 a 3,75 g/100 kcal, es decir, de 0,0060 a 0,0090 g/kJ, proporcionando carbohidrato de aproximadamente 11 a aproximadamente 16,5 g/100 kcal, es decir, de 0,0263 a 0,0394 g/kJ, y lípidos que comprenden de aproximadamente 2,2 a aproximadamente 4,4 g/100 kcal, es decir, 0,0053 a 0,0105 g/kJ. Las fuentes de carbohidratos pueden ser conocidas o usadas en la técnica como adecuadas para composiciones nutricionales, incluyendo, pero sin limitarse a, las divulgadas en este documento. En una realización, las fuentes de carbohidratos para uso en la leche de crecimiento pueden incluir, pero sin limitación, maltodextrinas, fructosa, lactosa, prebióticos, almidón resistente, almidón y cualquier combinación de los mismos. En una realización, menos del 10% de energía por porción de la leche de crecimiento puede aportarse a partir de azúcares seleccionados del grupo que consiste en azúcar blanco (glucosa), azúcar morena, jarabe de maíz, sólidos de jarabe de maíz, jarabe de maíz con alto contenido de fructosa, jarabe de malta, jarabe de arce, fructosa líquida, melaza, miel, dextrosa anhidra y cualquier combinación de los mismos.

20 Cuando la vitamina A está presente en la leche de crecimiento, puede estar presente en un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 150 µg/porción. En otra realización, la vitamina A puede estar presente en cantidades que varían de aproximadamente 57 a aproximadamente 65 µg/porción. Cualquier fuente de vitamina A conocida en la técnica que tenga usos nutricionales, incluyendo, pero sin limitarse a, las divulgadas previamente para poner en práctica la invención, puede ser adecuada para su uso en la presente composición. En una realización, las fuentes de vitamina A para uso en la leche de crecimiento pueden incluir fuentes preformadas de vitamina A, tales como acetato de retinilo, palmitato de retinilo, retinol y cualquier combinación de los mismos.

25 Cuando la vitamina C está presente en la leche de crecimiento, puede estar presente en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/porción. En otra realización, la vitamina C puede estar presente al nivel de 5 mg/porción. Cualquier fuente de vitamina C conocida en la técnica que tenga usos nutricionales, que incluyen, pero no se limitan a, los divulgados previamente para poner en práctica la invención, pueden ser adecuados para usar en la presente composición. En una realización, las fuentes de vitamina C para uso en la leche de crecimiento incluyen ácido L-ascórbico, L-ascorbato de sodio, L-ascorbato de calcio, palmitato de ascorbilo y cualquier combinación de los mismos.

30 Cuando la tiamina está presente en la leche de crecimiento, puede estar presente en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,5 mg/porción. En otra realización, la tiamina puede estar presente en el intervalo de 0,05 a aproximadamente 0,15 mg/porción. En otra realización más, la tiamina puede estar en el intervalo de 0,08 a 0,10 mg/porción. Cualquier fuente de tiamina conocida en la técnica que tenga usos nutricionales, incluyendo, pero sin limitarse a, los divulgados previamente para poner en práctica la invención, puede ser adecuada para usar en la presente composición. En una realización, las fuentes de tiamina para uso en la leche de crecimiento incluyen clorhidrato de tiamina, mononitrato de tiamina y cualquier combinación de los mismos.

35 Cuando la riboflavina está presente en la leche de crecimiento, puede estar presente en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,5 mg/porción. En otra realización, la riboflavina puede estar presente en el intervalo de 0,05 a aproximadamente 0,15 mg/porción. En aún otra realización, la riboflavina puede estar en el intervalo de 0,08 a 0,10 mg/porción. Cualquier fuente de riboflavina conocida en la técnica que tenga usos nutricionales, incluyendo, pero sin limitarse a, las divulgadas previamente para poner en práctica la invención, puede ser adecuada para su uso en la presente composición. En una realización, las fuentes de riboflavina para uso en la leche de crecimiento incluyen riboflavina libre, riboflavina sódica, riboflavina-5'-fosfato y cualquier combinación de las mismas.

40 Cuando la vitamina B₆ está presente en la leche de crecimiento, puede estar presente en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,5 mg/porción. En otra realización, la vitamina B₆ puede estar presente en el intervalo de 0,05 a aproximadamente 0,15 mg/porción. En otra realización más, el nivel de vitamina B₆ puede estar en

el intervalo de 0,08 a 0,10 mg/porción. Cualquier fuente de vitamina B₆ conocida en la técnica que tenga usos nutricionales, incluyendo, pero sin limitarse a, los divulgados previamente para poner en práctica la invención, puede ser adecuada para su uso en la presente composición. En una realización, las fuentes de vitamina B₆ para uso en la leche de crecimiento incluyen clorhidrato de piridoxina, piridoxina-5'-fosfato y cualquier combinación de las mismas.

5 Cuando el folato está presente en la leche de crecimiento, puede estar presente en el intervalo de 5 a 50 µg/porción. En otra realización, el contenido de folato puede ser de 10 a 40 µg/porción. En otra realización más, el contenido de folato puede estar dentro del intervalo de 20 a 35 µg/porción. Cualquier fuente de folato conocida en la técnica que tenga usos nutricionales, incluyendo, pero sin limitarse a, los descritos previamente para poner en práctica la invención, puede ser adecuada para su uso en la presente composición. En una realización, la fuente de folato para uso en la leche de crecimiento es ácido fólico.

15 Cuando la vitamina D está presente en la leche de crecimiento, puede estar presente en el intervalo de 0,1 a aproximadamente 2 µg/porción. En otra realización más, el contenido de vitamina D de la leche de crecimiento puede ser de 0,5 a 1 µg/porción. Cualquier fuente de vitamina D conocida en la técnica que tenga usos nutricionales, incluyendo, pero sin limitarse a, los divulgados previamente para poner en práctica la presente invención, puede ser adecuada para su uso en la presente composición. En una realización, las fuentes de vitamina D para uso en la leche de crecimiento incluyen colecalciferol, ergocalciferol y cualquier combinación de las mismas.

20 Cuando el calcio está presente en la leche de crecimiento, el calcio total puede estar presente en el intervalo de aproximadamente 165 a aproximadamente 300 mg/porción. En otra realización, el nivel de calcio total en la leche de crecimiento puede proporcionarse en el intervalo de aproximadamente 180 a 250 mg/porción. Cualquier fuente de calcio conocida en la técnica que tenga usos nutricionales, incluyendo, pero sin limitarse a, las divulgadas previamente para poner en práctica la presente invención, pueden ser adecuadas para usar en la presente composición.

25 Cuando se proporciona hierro en la leche de crecimiento, puede estar presente en el intervalo de 0,1 a 2,2 mg/porción. En otra realización, el hierro puede estar presente en el intervalo de 0,5 a 1,8 mg/porción. En otra realización más, el nivel de hierro proporcionado en la leche de crecimiento puede estar en el intervalo de 1,0 a 1,4 mg/porción. Cualquier fuente de hierro conocida en la técnica que tenga usos nutricionales, incluyendo, pero sin limitarse a, los divulgados previamente para poner en práctica la presente invención, puede ser adecuada para su uso en la presente composición. En una realización, las fuentes de hierro para uso en la leche de crecimiento incluyen sulfato ferroso, fumarato ferroso y cualquier combinación de las mismas.

35 Cuando se proporciona zinc en la leche de crecimiento, puede estar presente en el intervalo de 0,2 a 1,5 mg/porción. En otra realización, el zinc puede estar presente en el intervalo de 0,5 a 1,0 mg/porción. Cualquier fuente de zinc conocida en la técnica que tenga usos nutricionales, incluyendo, pero sin limitarse a, las descritas previamente para poner en práctica la presente invención, puede ser adecuada para su uso en la presente composición. En una realización, se proporciona zinc como sulfato de zinc.

40 Cuando el yodo está presente en la leche de crecimiento, puede estar presente en el intervalo de 0,2 a 41 µg/porción. En otra realización, el yodo puede estar presente en el intervalo de 5 a 15 µg/porción. Cualquier fuente de yodo conocida en la técnica que tenga usos nutricionales, incluyendo, pero sin limitarse a, las divulgadas previamente para poner en práctica la presente invención, puede ser adecuada para su uso en la presente composición. En una realización, las fuentes de yodo para uso con la leche de crecimiento incluyen yoduro de sodio, yoduro de potasio y cualquier combinación de las mismas.

50 En otra realización en la que la composición de la invención es una leche de crecimiento formulada para niños de edades comprendidas entre 1 y 6 años, se pueden añadir vitaminas y minerales en cantidades e intervalos variables con base en las porciones. En una realización, una porción de la leche de crecimiento puede contener de aproximadamente 15% a aproximadamente 50% del requerimiento promedio estimado (EAR) para niños entre las edades de 1 y 6 años para los siguientes nutrientes: vitamina E, vitamina K, niacina, ácido pantoténico, vitamina B₁₂, biotina, colina, potasio, magnesio, fósforo, cloruro, cobre, selenio, fluoruro y cualquier combinación de los mismos. En una realización, una porción de la leche de crecimiento puede contener de aproximadamente 20% a aproximadamente 30% del EAR para niños entre las edades de 1 y 6 años para los siguientes nutrientes: vitamina E, vitamina K, niacina, ácido pantoténico, vitamina B₁₂, biotina, colina, potasio, magnesio, fósforo, cloruro, cobre, selenio, fluoruro y cualquier combinación de los mismos. Todas las fuentes conocidas de estos nutrientes que tienen usos nutricionales, que incluyen, pero no se limitan a, los descritos en este documento pueden ser adecuadas para usar en la composición.

60 La composición de la invención puede contener opcionalmente otras sustancias que pueden tener un efecto beneficioso sobre el huésped tales como lactoferrina, nucleótidos, nucleósidos, inmunoglobulinas, equivalentes de CMP (5'-monofosfato de citidina, ácido libre), equivalentes de UMP (5'-monofosfato de uridina, sal disódica), equivalentes de AMP (5'-monofosfato de adenosina, ácido libre), equivalentes de GMP (5'-monofosfato de guanosina, sal disódica) y combinaciones de los mismos.

65 En una realización de la invención, la composición nutricional puede contener uno o más probióticos. El término "probiótico" significa un microorganismo que ejerce efectos beneficiosos sobre la salud del huésped. Cualquier

probiótico conocido en la técnica puede ser aceptable en esta realización siempre que logre el resultado deseado. En una realización particular, el probiótico puede seleccionarse de especies de *Lactobacillus*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, especies de *Bifidobacterium*, *Bifidobacterium longum*, y *Bifidobacterium animalis* subespecie *lactis* BB-12.

5 Si se incluye en la composición, la cantidad del probiótico puede variar de aproximadamente 10^4 a aproximadamente 10^{10} unidades formadoras de colonias (ufc) por kg de peso corporal por día. En otra realización, la cantidad del probiótico puede variar de aproximadamente 10^6 a aproximadamente 10^9 ufc por kg de peso corporal por día. En otra realización más, la cantidad del probiótico puede ser al menos aproximadamente 10^6 ufc por kg de peso corporal por día.

10 En una realización, el o los probióticos pueden ser viables o no viables. Como se usa en el presente documento, el término "viable" se refiere a microorganismos vivos. El término "no viable" o "probiótico no viable" significa microorganismos probióticos no vivos, sus componentes celulares y sus metabolitos. Dichos probióticos no viables pueden haber sido eliminados por calor o inactivados de otro medio, pero conservan la capacidad de influir favorablemente en la salud del huésped. Los probióticos útiles en la presente invención pueden ser de origen natural, sintéticos o desarrollados a través de la manipulación genética de organismos, ya se que dicha nueva fuente sea ahora conocida o desarrollada posteriormente.

20 En otra realización de la invención, la composición nutricional puede contener uno o más prebióticos. El término "prebiótico" como se usa en el presente documento se refiere a ingredientes alimenticios indigeribles que ejercen beneficios para la salud sobre el huésped. Dichos beneficios para la salud pueden incluir, entre otros, estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de uno o un número limitado de bacterias intestinales beneficiosas, estimulación del crecimiento y/o actividad de microorganismos probióticos ingeridos, reducción selectiva de patógenos intestinales e influencia favorable en el perfil de ácidos grasos de cadena corta en el intestino. Cualquier prebiótico conocido en la técnica será aceptable en esta realización siempre que logre el resultado deseado. Dichos prebióticos pueden ser de origen natural, sintéticos o desarrollarse a través de la manipulación genética de organismos y/o plantas, ya se que dicha nueva fuente sea ahora conocida o desarrollada posteriormente. Los prebióticos útiles en la presente invención pueden incluir oligosacáridos, polisacáridos y otros prebióticos que contienen fructosa, xilosa, soja, galactosa, glucosa y manosa. Más específicamente, los prebióticos útiles en la presente invención pueden incluir lactulosa, lactosacarosa, rafinosa, glucooligosacárido, inulina, polidextrosa, polidextrosa en polvo, galactooligosacárido, jarabe de galactooligosacárido, fructooligosacárido, isomaltoligosacárido, oligosacáridos de soja, lactosacarosa, xilooligosacárido, chitooligosacárido, manooligosacárido, arabinooligosacárido, sialiloligosacárido, fucooligosacárido, y genticooligosacáridos.

35 En una realización, la cantidad total de prebióticos presentes en la composición nutricional puede ser de aproximadamente 1,0 g/L a aproximadamente 10,0 g/L de la composición. En otra realización, la cantidad total de prebióticos presentes en la composición nutricional puede ser de aproximadamente 2,0 g/L y aproximadamente 8,0 g/L de la composición. En otra realización más, la cantidad total de prebióticos presentes en la composición nutricional puede ser de aproximadamente 4,0 g/L de la composición.

40 Si el galactooligosacárido se usa como prebiótico, la cantidad de galactooligosacárido en la composición nutritiva puede, en una realización, estar dentro del intervalo de aproximadamente 1,0 g/L a aproximadamente 4,0 g/L. En otra realización, la cantidad de galactooligosacárido en la composición nutricional puede ser de aproximadamente 2,0 g/L. En aún otra realización, la cantidad de galactooligosacárido en la composición nutricional puede ser de aproximadamente 4,0 g/L. Si se usa polidextrosa como prebiótico, la cantidad de polidextrosa en la composición nutricional puede, en una realización, estar dentro del intervalo de aproximadamente 1,0 g/L a aproximadamente 4,0 g/L. En otra realización, la cantidad de polidextrosa en la composición nutricional puede ser de aproximadamente 2,0 g/L. En una realización particular, el galactooligosacárido y la polidextrosa se complementan en la composición nutricional en una cantidad total de aproximadamente 4,0 g/L. En esta realización, la cantidad de galactooligosacárido puede ser de aproximadamente 2,0 g/L y la cantidad de polidextrosa puede ser de aproximadamente 2,0 g/L.

55 Si el galactooligosacárido se usa como un prebiótico, la cantidad de galactooligosacárido en la composición nutricional puede ser, en una realización, de aproximadamente 0,1 mg/100 Kcal a aproximadamente 1,0 mg/100 Kcal, es decir, de 0,239 a 2,39 $\mu\text{g}/\text{kJ}$. En otra realización, la cantidad de galactooligosacárido en la composición nutricional puede ser de aproximadamente 0,1 mg/100 Kcal a aproximadamente 0,5 mg/100 Kcal, es decir, de 0,239 a 1,195 $\mu\text{g}/\text{kJ}$. En otra realización más, la cantidad de galactooligosacárido en la composición nutricional puede ser de aproximadamente 0,6 mg/100 Kcal, es decir, 1,434 $\mu\text{g}/\text{kJ}$. Si se utiliza polidextrosa como prebiótico, la cantidad de polidextrosa en la composición nutricional puede, en una realización, estar dentro del intervalo de aproximadamente 0,1 mg/100 Kcal a aproximadamente 0,5 mg/100 Kcal, es decir, 0,239 a 1,195 $\mu\text{g}/\text{kJ}$. En otra realización, la cantidad de polidextrosa puede ser de aproximadamente 0,3 mg/100 Kcal, es decir, 0,717 $\mu\text{g}/\text{kJ}$. En una realización particular, el galactooligosacárido y la polidextrosa se complementan en la composición nutricional en una cantidad total de aproximadamente 0,6 mg/100 Kcal, es decir, 1,434 $\mu\text{g}/\text{kJ}$. En esta realización, la cantidad de galactooligosacárido puede ser de aproximadamente 0,3 mg/100 Kcal, es decir, 0,717 $\mu\text{g}/\text{kJ}$, y la cantidad de polidextrosa puede ser de aproximadamente 0,3 mg/100 Kcal, es decir, 0,717 $\mu\text{g}/\text{kJ}$.

65 En aún otra realización de la presente invención, la formulación puede contener otros agentes activos tales como ácidos

5 grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA). Los LCPUFA adecuados incluyen, pero no se limitan a, ácido α -linoleico, ácido γ -linoleico, ácido linoleico, ácido linolénico, ácido eicosapentanoico (EPA), ácido araquidónico (ARA) y/o ácido docosahexaenoico (DHA). En una realización, la composición nutricional se complementa con DHA. En otra realización, la composición nutricional se complementa con ARA. En aún otra realización, la composición nutricional se complementa con DHA y ARA.

10 En una realización, la composición nutricional se complementa con DHA y ARA. En esta realización, la relación en peso de ARA:DHA puede ser de aproximadamente 1:3 a aproximadamente 9:1. En una realización de la presente invención, esta relación es de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 4:1. En otra realización más, la relación es de aproximadamente 2:3 a aproximadamente 2:1. En una realización particular, la relación es aproximadamente 2:1. En otra realización particular de la invención, la relación es aproximadamente 1:1,5. En otras realizaciones, la relación es aproximadamente 1:1,3. En otras formas de realización más, la relación es aproximadamente 1:1,9. En una realización particular, la relación es de aproximadamente 1,5:1. En una realización adicional, la relación es aproximadamente 1,47:1.

15 En ciertas realizaciones de la invención, el nivel de DHA está en el intervalo de aproximadamente 0,0% y 1,00% de ácidos grasos, en peso. El nivel de DHA puede ser de aproximadamente 0,32% en peso. En algunas realizaciones, el nivel de DHA puede ser de aproximadamente 0,33% en peso. En otra realización, el nivel de DHA puede ser de aproximadamente 0,64% en peso. En otra realización, el nivel de DHA puede ser de aproximadamente 0,67% en peso. En otra realización más, el nivel de DHA puede ser de aproximadamente 0,96% en peso. En una realización adicional, el nivel de DHA puede ser de aproximadamente 1,00% en peso.

20 Si se incluye, la cantidad de DHA en una realización de la presente invención es típicamente de aproximadamente 3 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 150 mg por kg de peso corporal por día. En una realización de la invención, la cantidad es de aproximadamente 6 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal por día. En otra realización, la cantidad es de aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 60 mg por kg de peso corporal por día. En otra realización más, la cantidad es de aproximadamente 15 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 30 mg por kg de peso corporal por día.

25 Si se incluye, la cantidad de DHA en la composición nutricional puede variar de aproximadamente 5 mg/100 kcal a aproximadamente 80 mg/100 kcal, es decir, de 0,012 a 0,119 mg/kJ. En una realización de la presente invención, el DHA varía de aproximadamente 10 mg/100 kcal a aproximadamente 50 mg/100 kcal, es decir, de 0,024 a 0,120 mg/kJ; y en otra realización, de aproximadamente 15 mg/100 kcal a aproximadamente 20 mg/100 kcal, es decir, de 0,036 a 0,048 mg/kJ. En una realización particular de la presente invención, la cantidad de DHA es de aproximadamente 17 mg/100 kcal (0,041 mg/kJ).

30 En realizaciones de la invención, el nivel de ARA está en el intervalo de 0,0% y 0,67% de ácidos grasos, en peso. En otra realización, el nivel de ARA puede ser de aproximadamente 0,67% en peso. En otra realización, el nivel de ARA puede ser de aproximadamente 0,5% en peso. En otra realización más, el nivel de DHA puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,47% y 0,48% en peso.

35 Si se incluye, la cantidad de ARA en una realización de la presente invención es típicamente de aproximadamente 5 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 150 mg por kg de peso corporal por día. En una realización de esta invención, la cantidad varía de aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 120 mg por kg de peso corporal por día. En otra realización, la cantidad varía de aproximadamente 15 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 90 mg por kg de peso corporal por día. En otra realización más, la cantidad varía de aproximadamente 20 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 60 mg por kg de peso corporal por día.

40 Si se incluye, la cantidad de ARA en la composición nutricional puede variar de aproximadamente 10 mg/100 kcal a aproximadamente 100 mg/100 kcal, es decir, de 0,024 a 0,239 mg/kJ. En una realización de la presente invención, la cantidad de ARA varía de aproximadamente 15 mg/100 kcal a aproximadamente 70 mg/100 kcal, es decir, de 0,036 a 0,167 mg/kJ. En otra realización, la cantidad de ARA varía de aproximadamente 20 mg/100 kcal a aproximadamente 40 mg/100 kcal, es decir, de 0,048 a 0,096 mg/kJ. En una realización particular de la presente invención, la cantidad de ARA es de aproximadamente 25 mg/100 kcal, es decir, 0,060 mg/kJ.

45 Si se incluye, la composición nutricional se puede complementar con aceites que contienen DHA y ARA usando técnicas estándar conocidas en el arte. Por ejemplo, DHA y ARA se pueden agregar a la fórmula reemplazando una cantidad equivalente de un aceite, como aceite de girasol alto en oleico, normalmente presente en la fórmula. Como otro ejemplo, los aceites que contienen DHA y ARA se pueden agregar a la fórmula reemplazando una cantidad equivalente del resto de la mezcla de grasa total normalmente presente en la fórmula sin DHA y ARA.

50 Si se utiliza, la fuente de DHA y ARA puede ser cualquier fuente conocida en la técnica, tal como aceite marino, aceite de pescado, aceite de células individuales, lípido de yema de huevo y lípido cerebral. En algunas realizaciones, el DHA y el ARA se obtienen del aceite de Martek de células individuales, DHASCO®, o variaciones de los mismos. El DHA y el ARA pueden estar en forma natural, siempre que el resto de la fuente de LCPUFA no produzca ningún efecto perjudicial sustancial en el bebé. Alternativamente, el DHA y el ARA se pueden usar en forma refinada.

En una realización de la presente invención, las fuentes de DHA y ARA son aceites de células individuales como se describe en las patentes de Estados Unidos Nos. 5.374.567; 5.550.156 y 5.397.591, cuyas divulgaciones se incorporan aquí en su totalidad por referencia. Sin embargo, la presente invención no está limitada solo a tales aceites.

5 En una realización, se usa una fuente de LCPUFA que contiene EPA en la composición nutricional. En otra realización, se usa una fuente de LCPUFA que está sustancialmente libre de EPA en la composición nutricional. Por ejemplo, en una realización de la presente invención, la composición nutricional contiene menos de aproximadamente 16 mg de EPA/100 kcal (0,038 mg de EPA/kJ). En otra realización, la composición nutricional contiene menos de aproximadamente 10 mg de EPA/100 kcal (0,024 mg de EPA/kJ). En aún otra realización, la composición nutricional
10 contiene menos de aproximadamente 5 mg de EPA/100 kcal (0,038 mg de EPA/kJ). (0,012 mg EPA/kJ). Otra realización de la invención incluye una composición nutricional que está libre de cantidades traza de EPA.

La composición nutricional de la invención también puede contener emulsionantes. Los ejemplos de emulsionantes adecuados incluyen, pero sin limitación, lecitina (por ejemplo, de huevo o soja), y/o monoglicéridos y diglicéridos y mezclas de los mismos. Otros emulsionantes son fácilmente evidentes para el experto en la técnica y la selección de un emulsionante o emulsionantes adecuados dependerá, en parte, de la formulación y el producto final.
15

La composición nutricional de la invención puede contener opcionalmente uno o más estabilizadores. Los estabilizadores adecuados para uso en la composición nutricional de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, goma arábiga, goma Ghatti, goma karaya, goma tragacanto, agar, furcellaran, goma guar, goma gellan, goma de algarroba, pectina, pectina de metoxilo inferior, gelatina, celulosa microcristalina, CMC (carboximetilcelulosa sódica), metilcelulosa hidroxipropil metilcelulosa, hidroxipropil celulosa, DATEM (ésteres de ácido diacetil tartárico de mono y diglicéridos), dextrano, carragenanos y mezclas de los mismos.
20

La composición nutricional de la presente invención puede incluir opcionalmente uno o más conservantes que también se pueden añadir para prolongar la vida útil del producto. Los conservantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, sorbato de potasio, sorbato de sodio, benzoato de potasio, benzoato de sodio, EDTA disódico de calcio y mezclas de los mismos.
25

La composición nutricional de la presente invención puede incluir opcionalmente uno o más de los siguientes agentes saborizantes, que incluyen, pero no se limitan a, extractos saborizados, aceites volátiles, saborizantes de cacao o chocolate, vainilla o extracto de vainilla, saborizante de mantequilla de maní, miel, migas de galletas o cualquier saborizante disponible comercialmente. Otros ejemplos no limitativos de agentes saborizantes útiles en la composición nutricional de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, extracto puro de anís, imitación de extracto de banano, imitación de extracto de cereza, extracto de chocolate, extracto puro de limón, extracto puro de naranja, extracto puro de menta, imitación de extracto de piña, imitación de extracto de ron, imitación de extracto de fresa; o aceites volátiles, tales como aceite de bálsamo, aceite de laurel, aceite de bergamota, aceite de madera de cedro, aceite de cereza, aceite de canela, aceite de clavo de olor o aceite de menta; caramelo de azúcar con mantequilla, tofi y mezclas de los mismos. Las cantidades de agente saborizante pueden variar mucho dependiendo del agente saborizante utilizado. El tipo y la cantidad de agente saborizante utilizado se pueden seleccionar como se conoce en la técnica.
30
35
40

En una realización particular de la invención, el nivel de TGF- β en la composición de la invención es de aproximadamente 0,0150 (pg/ μ g) ppm a aproximadamente 0,1000 (pg/ μ g) ppm. En otra realización, el nivel de TGF- β en la composición de la invención es de aproximadamente 0,0225 (pg/ μ g) ppm a aproximadamente 0,0750 (pg/ μ g) ppm. En otra realización más, el nivel de TGF- β en la composición de la invención es de aproximadamente 0,0300 (pg/ μ g) ppm a aproximadamente 0,0600 (pg/ μ g) ppm. En una realización particular, el nivel de TGF- β en la composición de la invención es aproximadamente 0,0340 (pg/ μ g) ppm.
45

En una realización particular de la invención, el nivel de TGF- β en la composición de la invención es de aproximadamente 2.500 pg/mL a aproximadamente 10.000 pg/mL de la composición. En otra realización, el nivel de TGF- β en la composición de la invención es de aproximadamente 3.000 pg/mL a aproximadamente 8.000 pg/mL. En otra realización más, el nivel de TGF- β en la composición de la invención es de aproximadamente 4.000 pg/mL a aproximadamente 6.000 pg/mL. En una realización particular, el nivel de TGF- β en la composición de la invención es de aproximadamente 5.000 pg/mL.
50
55

En una realización, el nivel de TGF- β 1 en la composición de la invención es de aproximadamente 0,0001 (pg/ μ g) ppm a aproximadamente 0,0075 (pg/ μ g) ppm. En otra realización, el nivel de TGF- β 1 en la composición de la invención es de aproximadamente 0,0010 (pg/ μ g) ppm a aproximadamente 0,0050 (pg/ μ g) ppm. En otra realización más, el nivel de TGF- β 1 en la composición de la invención es de aproximadamente 0,0020 (pg/ μ g) ppm a aproximadamente 0,0035 (pg/ μ g) ppm. En otra realización más, el nivel de TGF- β 1 en la composición de la invención es aproximadamente 0,0030 (pg/ μ g) ppm.
60

En una realización, el nivel de TGF- β 2 en la composición de la invención es de aproximadamente 0,0150 (pg/ μ g) ppm a aproximadamente 0,0750 (pg/ μ g) ppm. En otra realización, el nivel de TGF- β 2 en la composición de la invención es de aproximadamente 0,0250 (pg/ μ g) ppm a aproximadamente 0,0500 (pg/ μ g) ppm. En otra realización más, el nivel de
65

TGF-β2 en la composición de la invención es de aproximadamente 0,0300 (pg/μg) ppm a aproximadamente 0,0400 (pg/μg) ppm. En otra realización más, el nivel de TGF-β2 en la composición de la invención es aproximadamente 0,0320 (pg/μg) ppm.

5 En una realización, la relación de TGF-β1:TGF-β2 en la composición de la invención está en el intervalo de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1:20. En otra realización, la relación de TGF-β1:TGF-β2 en la composición de la invención está en el intervalo de aproximadamente 1:5 a aproximadamente 1:15. En otra realización más, la relación de TGF-β1:TGF-β2 en la composición de la invención está en el intervalo de aproximadamente 1:8 a aproximadamente 1:13. En una realización particular, la relación de TGF-β1:TGF-β2 en la composición de la invención es aproximadamente 1:11.

10 En una realización, la bioactividad de TGF-β dentro de la composición de la invención es de aproximadamente 500 ng de Eq/100 kcal a aproximadamente 5000 ng de Eq/100 kcal, es decir, de 1,20 a 11,95 ng de Eq/kJ. En otra realización, la bioactividad de TGF-β dentro de la composición de la invención es de aproximadamente 750 ng de Eq/100 kcal a aproximadamente 3.000 ng de Eq/100 kcal, es decir, de 1,79 a 7,17 ng de Eq/kJ. En otra realización más, la bioactividad de TGF-β dentro de la composición de la invención es de aproximadamente 800 ng de Eq/100 kcal a aproximadamente 2.500 ng de Eq/100 kcal, es decir, de 1,91 a 5,98 ng de Eq/kJ. En una realización, la bioactividad es aproximadamente 860 ng de Eq/100 kcal, es decir, 2,06 ng de Eq/kJ. En otra realización, la bioactividad es de aproximadamente 1.700 ng de Eq/100 kcal, es decir, 4,06 ng de Eq/kJ. En otra realización, la bioactividad es de aproximadamente 1.200 ng de Eq/100 kcal, es decir, 2,87 ng de Eq/kJ.

15 Alternativamente, la bioactividad de TGF-β en la composición de la invención puede definirse en términos de IC₅₀ en un ensayo de inhibición del crecimiento de células HT-2. En una realización, la bioactividad de la composición comprende una IC₅₀ de aproximadamente 1,1 mg/mL a aproximadamente 5,0 mg/mL. En otra realización, la bioactividad de la composición comprende una IC₅₀ de aproximadamente 1,2 mg/mL a aproximadamente 3,0 mg/mL. En otra realización más, la bioactividad de la composición comprende una IC₅₀ de aproximadamente 1,3 mg/mL a aproximadamente 3,0 mg/mL. En otra realización más, la bioactividad de la composición comprende una IC₅₀ de aproximadamente 1,3 mg/mL a aproximadamente 2,0 mg/mL. En una realización, la bioactividad de la composición comprende una IC₅₀ de aproximadamente 1,5 mg/mL.

20 Los siguientes ejemplos describen diversas realizaciones de la presente invención. Otras realizaciones dentro del alcance de las reivindicaciones de la presente serán evidentes para un experto en la técnica a partir de la consideración de la memoria descriptiva o práctica de la invención como se describe en el presente documento. Se pretende que la memoria descriptiva, junto con los ejemplos, se considere solamente como un ejemplo, con el alcance y el espíritu de la invención indicados por las reivindicaciones que siguen a los ejemplos. En los ejemplos, todos los porcentajes se dan en peso a menos que se indique lo contrario.

Ejemplo 1

40 Este ejemplo ilustra una realización del método de la invención. En este ejemplo, los ingredientes expuestos en la Tabla 3 se entremezclaron.

Tabla 3. Ingredientes del producto nutricional

Ingrediente	Kg por 10.000 L
Concentrado de proteína de suero, 35% de proteína, Super Sack	198,360
Mezcla de grasas, a granel (aceite de oleína de palma, aceite de coco, aceite de soja y aceite de girasol alto en oleicos)	340,059
Leche descremada en polvo, calentamiento medio, secada por aspersión	199,240
Lactosa	550,000
Aceite de ácido araquidónico de célula individual y mezcla de aceite docosahexaenoico	9,365
Citrato de potasio	7,797
Mono y diglicéridos	7,233
Premezcla seca de vitamina	3,959
Concentrado de lecitina	3,694
Carbonato de calcio	3,680
Carragenano	2,826

ES 2 665 933 T3

Ingrediente	Kg por 10.000 L
Cloruro de calcio, dihidratado	2,650
Cloruro de sodio	1,230
Cloruro de colina	1,018
Fosfato de calcio, tribásico, ultrafino	0,879
Premezcla de nucleótidos	0,696
Sulfato ferroso, heptahidratado	0,693
Citrato de sodio, dihidratado, granulado	0,455
Premezcla de vitaminas A, D, E, & K	0,324
Premezcla de minerales en trazas/ultratrazas	0,304
Agua, sin flúor	8,984,838

La mezcla se sometió luego a inyección directa de vapor a 73°C durante 15 a 30 segundos. Posteriormente, la mezcla se homogeneizó entre 55°C y 65°C durante 5 a 15 segundos. Finalmente, la mezcla se volvió a esterilizar entre 141°C y 145°C durante 3 a 5 segundos. La mezcla se empacó asépticamente y se selló.

5

Ejemplo 2

Este ejemplo ilustra una realización de una fórmula infantil en polvo de la presente invención.

10

Tabla 4. Ingredientes

Ingrediente	Cantidad por 100 kg
Lactosa, Molienda A	35,119 kg
Aceite de oleína de palma	12,264 kg
Aceite de coco	5,451 kg
Aceite de soja	5,451 kg
Aceite de girasol alto en oleicos	4,088 kg
Leche descremada en polvo, calentamiento medio, secada por aspersion	14,667 kg
Concentrado de proteína de suero de leche, 35% de proteína, Super Sack	14,667 kg
Jarabe de Galactooligosacárido (77% de sólidos, 44% de fibra)	3,477 kg
Polidextrosa en polvo (96% de solidos totales, 96% de carbohidratos, 86% de fibra)	1,770 kg
Gluconato de calcio, monohidratado	1,606 kg
Aceite de ácido araquidónico de célula individual	0,347 kg
Aceite de ácido docosahexaenoico de célula individual	0,238 kg
Bitartrato de colina	0,228 kg
Cloruro de potasio	0,198 kg
Cloruro de sodio	24,780 g
Óxido de magnesio, ligero	22,790 g
L-Carnitina	9,910 g
Ácido ascórbico	156,687 g
Inositol	39,887 g
Sólidos de jarabe de maíz	35,478 g

ES 2 665 933 T3

Ingrediente	Cantidad por 100 kg
Taurina	33,875 g
Acetato seco de tocoferol de vitamina E, 50%	25,279 g
Palmitato de vitamina A, perlas secas, CW dispersable, 250	7,871 g
Niacinamida	6,475 g
Fitonadiona seca de vitamina K1 en polvo grado USP, 1%	5,454 g
Pantotenato de calcio	3,299 g
Vitamina B ₁₂ , 0,1% en almidón	2,122 g
Triturado de biotina, 1%	1,608 g
Vitamina D ₃ en polvo	0,969 g
Riboflavina	0,755 g
Clorhidrato de tiamina	0,601 g
Clorhidrato de piridoxina	0,518 g
Ácido fólico	0,122 g
Sólidos de jarabe de maíz	192,187 g
Sulfato ferroso, heptahidratado	49,600 g
Ácido ascórbico	6,213 g
Maltodextrina	146,096 g
5'-Monofosfato de citidina, ácido libre	11,604 g
5'-Monofosfato de uridina, sal disódica	3,419 g
5'-Monofosfato de adenosina, ácido libre	2,711 g
5'-Monofosfato de guanosina, sal disódica	2,170 g
Lactosa, Molienda A	138,017 g
Sulfato de zinc, monohidratado	16,422 g
Sólidos de jarabe de maíz	3,616 g
Selenito de sodio, anhidro	0,018 g
Sulfato cúprico, polvo (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	1,688 g
Sulfato de magnesio, monohidratado	0,239 g

Tabla 5. Análisis aproximado

	Gramos por 100g	Gramos por 100 mL en dilución normal	Distribución calórica
Proteína	10,84	1,47	8,50
Grasa	28,57	3,89	50,67
Carbohidratos	54,87	7,46	40,83
Ceniza	2,70	0,37	
Humedad	3,02	89,9	
Calorías	508	69,1	

Tabla 6. Nutrientes

Nutriente	Cantidades por 100 calorías
Calorías	100
Proteína, g	2,1
Grasa, g	5,6
Carbohidratos, g	10,6
Cenizas, g	0,6
Agua, mL (dilución normal)	133
Ácido linoleico, mg	900
Ácido α -linolénico, mg	85
Ácido araquidónico, mg	25
Ácido docosahexaenoico, mg	17
Vitamina A, IU	300
Vitamina D, IU	60
Vitamina E, IU	2
Vitamina K, mcg	8
Tiamina, mcg	80
Riboflavina, mcg	140
Vitamina B ₆ , mcg	60
Vitamina B ₁₂ , mcg	0,3
Niacina, mcg	1000
Ácido fólico, mcg	16
Ácido pantoténico, mcg	500
Biotina, mcg	3
Vitamina C, mg	12
Colina, mg	24
Inositol, mg	6
Taurina, mg	6
Carnitina, mg	2
Calcio, mg	78
Fosforo, mg	43
Magnesio, mg	8
Hierro, mg	1,8
Zinc, mg	1
Manganeso, mcg	15
Cobre, mcg	75
Iodo, mcg	10
Sodio, mg	27

Nutriente	Cantidades por 100 calorías
Potasio, mg	108
Cloro, mg	63
Selenio, mcg	2,8
Polidextrosa	0,3
Galactooligosacárido	0,3
Equivalentes de AMP, mg	0,5
Equivalentes de CMP, mg	2,5
Equivalentes de GMP, mg	0,3
Equivalentes de UMP, mg	0,9
Equivalentes de nucleótidos, mg	4,2

Para preparar 1 litro de producto a una dilución estándar (20 kcal/oz fl., es decir, 83,72 kJ/0,03 L, se mezclaron 136 gramos de polvo con 895,2 gramos de agua. Para preparar 1 cuarto de producto a dilución estándar, se mezclaron 128,7 gramos de polvo con 847,2 gramos de agua.

5

Tras la reconstitución, la fórmula infantil descrita en este ejemplo contiene aproximadamente 2 g/L de galactooligosacárido y 2 g/L de polidextrosa. La fórmula infantil tiene un nivel de ARA de 25 mg/100 kcal, es decir, 0,060 mg/kJ. La fórmula contiene 5,6 g de grasa/100 kcal, es decir, 0,013 mg/kJ, para lograr un contenido de grasa similar al de la leche humana. La fórmula además tiene una baja concentración de regulador.

10

Todos los ajustes de pH con respecto a esta fórmula infantil se hicieron con soluciones de hidróxido de potasio. La gravedad específica de la fórmula es 1,03117.

Ejemplo 3

15

Este ejemplo ilustra otra realización de una fórmula infantil en polvo de la presente invención.

Tabla 7. Ingredientes

Ingrediente	Cantidad por 100 kg
Lactosa, Molienda A	34,277 kg
Aceite de oleína de palma	12,267 kg
Aceite de coco	5,452 kg
Aceite de soja	5,452 kg
Aceite de girasol alto en oleicos	4,089 kg
Leche descremada en polvo, calentamiento medio, secada por atomización	14,670 kg
Concentrado de proteína de suero, 35% de proteína, Super Sack	14,670 kg
Jarabe de galactooligosacárido (77% de sólidos, 44% de fibra)	6,840 kg
Gluconato de calcio, monohidratado	1,606 kg
Aceite de ácido araquidónico de célula individual	0,347 kg
Aceite de ácido docosahexaenoico de célula individual	0,238 kg
Bitartrato de colina	0,228 kg
Cloruro de potasio	0,198 kg
Cloruro de sodio	24,780 g
Óxido de magnesio, ligero	22,794 g

ES 2 665 933 T3

Ingrediente	Cantidad por 100 kg
L-Carnitina	9,911 g
Ácido ascórbico	146,436 g
Inositol	37,278 g
Sólidos de jarabe de maíz	33,159 g
Taurina	31,659 g
Acetato seco de tocoferol de vitamina E, 50%	23,625 g
Palmitato de vitamina A, perlas secas, CW dispersable, 250	7,356 g
Niacinamida	6,051 g
Fitonadiona seca de vitamina K1, polvo grado USP, 1%	5,097 g
Pantotenato de calcio	3,084 g
Vitamina B ₁₂ , 0,1% en almidón	1,983 g
Triturado de biotina, 1%	1,503 g
Vitamina D ₃ en polvo	0,906 g
Riboflavina	0,705 g
Clorhidrato de tiamina	0,561 g
Clorhidrato de piridoxina	0,483 g
Ácido fólico	0,114 g
Sólidos de jarabe de maíz	192,187 g
Sulfato ferroso, heptahidratado	49,600 g
Ácido ascórbico	6,213 g
Maltodextrina	146,096 g
5'-Monofosfato de citidina, ácido libre	11,604 g
5'-Monofosfato de uridina, sal disódica	3,419 g
5'-Monofosfato de adenosina, ácido libre	2,711 g
5'-Monofosfato de guanosina, sal disódica	2,170 g
Lactosa, Molienda A	138,017 g
Sulfato de zinc, monohidratado	16,422 g
Sólidos de jarabe de maíz	3,616 g
Selenito de sodio, anhidro	0,018 g
Sulfato cúprico, en polvo (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	1,688 g
Sulfato de manganeso, monohidratado	0,239 g

Tabla 8. Análisis aproximado

	Gramos por 100g	Gramos por 100 mL en dilución normal	Distribución calórica
Proteína	10,84	1,47	8,34
Grasa	28,57	3,89	49,50
Carbohidrato	54,87	7,46	42,16

ES 2 665 933 T3

	Gramos por 100g	Gramos por 100 mL en dilución normal	Distribución calórica
Cenizas	2,70	0,37	
Humedad	3,02	89,9	
Calorías	510	69,4	

Tabla 9. Nutrientes

Nutriente	Cantidades por 100 Calorías
Calorías	100
Proteína, g	2,1
Grasa, g	5,6
Carbohidratos, g	10,6
Cenizas, g	0,6
Agua, mL (dilución normal)	133
Ácido linoleico, mg	900
Ácido α -linolénico, mg	85
Ácido araquidónico, mg	25
Ácido docosahexaenoico, mg	17
Vitamina A, IU	300
Vitamina D, IU	60
Vitamina E, IU	2
Vitamina K, μ g	8
Tiamina, μ g	80
Riboflavina, μ g	140
Vitamina B ₆ , μ g	60
Vitamina B ₁₂ , μ g	0,3
Niacina, μ g	1000
Ácido fólico, μ g	16
Ácido pantoténico, μ g	500
Biotina, μ g	3
Vitamina C, mg	12
Colina, mg	24
Inositol, mg	6
Taurina, mg	6
Carnitina, mg	2
Calcio, mg	78
Fosforo, mg	43
Magnesio, mg	8
Hierro, mg	1,8
Zinc, mg	1

Nutriente	Cantidades por 100 Calorías
Manganeso, µg	15
Cobre, µg	75
Iodo, µg	10
Sodio, mg	27
Potasio, mg	108
Cloro, mg	63
Selenio, µg	2,8
Galactooligosacárido	0,6
Equivalentes de AMP, mg	0,5
Equivalentes de CMP, mg	2,5
Equivalentes de GMP, mg	0,3
Equivalentes de UMP, mg	0,9
Equivalentes de nucleótidos, mg	4,2

Para preparar 1 litro de producto a dilución estándar (20 kcal/onza fluida, es decir, 83,72 kJ/0,03 L), se mezclaron 136 gramos de polvo con 895,2 gramos de agua. Para preparar 1 cuarto de producto a dilución estándar, se mezclaron 128,7 gramos de polvo con 847,2 gramos de agua.

Tras la reconstitución, la fórmula infantil descrita en este ejemplo contiene aproximadamente 4 g/L de galactooligosacárido y tiene un nivel de ARA de 25 mg/100 kcal (0,060 mg/kJ). La fórmula contiene 5,6 g de grasa/100 kcal (0,0134 g/kJ), para lograr un contenido de grasa similar al de la leche humana. La fórmula además tiene una baja concentración de regulador.

Todos los ajustes de pH con respecto a esta fórmula infantil se hicieron con soluciones de hidróxido de potasio. La gravedad específica de la fórmula es 1,03117.

Ejemplo 4

La Figura 2 ilustra una comparación del procesamiento estándar con el proceso de la invención y su efecto sobre la bioactividad de TGF-β. El proceso de la invención se indica en la figura con el término "NP", que significa nuevo proceso. El proceso estándar se indica en la figura con el término "OP", que significa proceso anterior. La bioactividad relativa de la muestra usando técnicas de procesamiento estándar fue de aproximadamente 7.000. La bioactividad relativa de la muestra que usa el método de la invención fue de aproximadamente 36.000. Como puede verse, esto es un aumento en la bioactividad de TGF-β de aproximadamente 414%. Además, la bioactividad de la muestra que usa el proceso de la invención era casi equivalente a la bioactividad provocada por 100 pg/mL de TGF-β humano recombinante.

El método del experimento ilustrado en la Figura 2 fue un bioensayo de fosfatasa alcalina. Se sabe que el TGF-β induce rutas de señalización inmunes en células que pueden medirse mediante fosfatasa alcalina secretora. La supresión de la actividad de TGF-β usando un inhibidor reduce de ese modo la fosfatasa alcalina secretora y su actividad. Esto muestra que la actividad observada es específica de TGF-β. Como se muestra en la Figura 2, el símbolo "+" representa el inhibidor. El uso de inhibidor en todas las muestras activas muestra que la actividad es específica de TGF-β.

La discusión de las referencias en este documento está destinada simplemente a resumir las afirmaciones hechas por sus autores y no se admite que cualquier referencia constituya estado de la técnica.

Aunque las realizaciones preferidas de la invención se han descrito usando términos, dispositivos y métodos específicos, dicha descripción tiene únicamente fines ilustrativos. Las palabras utilizadas son palabras de descripción más que de limitación. Además, debe entenderse que los aspectos de las diversas realizaciones pueden intercambiarse tanto en su totalidad como en parte. Por ejemplo, aunque se han ejemplificado los métodos para la producción de un suplemento nutricional líquido estéril comercialmente fabricado según estos métodos, se contemplan otros usos.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para preparar un producto nutricional líquido que comprende TGF- β , en el que el producto nutricional líquido retiene la bioactividad del TGF- β , comprendiendo el método:
- 10 a. seleccionar al menos un ingrediente proteico que comprende una fuente de proteína en polvo de suero de leche que comprende dicho TGF- β , en el que la fuente de proteína en polvo de suero de leche se selecciona del grupo que consiste en suero de leche dulce, suero lácteo desmineralizado, concentrado de proteína de suero de leche, aislado de proteína de suero de leche y combinaciones de los mismos que se han sometido a una carga de calentamiento de 78°C o menos durante no más de 15 a 25 minutos, en el que al menos un ingrediente de proteína tiene un contenido de nitrógeno de proteína de suero de leche no desnaturalizado de más de 1,5 mg/g;
- 15 b. combinar al menos un ingrediente de proteína con uno o más componentes adicionales del producto nutricional líquido para formar una suspensión;
- 20 c. someter la suspensión a una presión de 2.500 libras por pulgada cuadrada (psi) [17,24 MPa] a 3.500 psi [24,13 MPa] a una temperatura de 55°C a 65°C durante 5 a 20 segundos;
- 25 d. someter la suspensión a una temperatura de 135°C a 150°C durante 1,5 a 15 segundos; y
- 30 e. enfriar la suspensión a una temperatura de menos de 8°C en 30 minutos o menos.
- 35 2. Método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que al menos un ingrediente proteico se somete a una carga de calentamiento inferior a 70°C, en el que al menos un ingrediente proteico tiene un contenido de nitrógeno de proteína de suero de leche no desnaturalizado de al menos 6 mg/g.
- 40 3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el ingrediente de proteína comprende leche descremada en polvo.
4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el ingrediente de proteína comprende una fuente de caseína y una fuente de proteína de suero de leche.
5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la etapa (c) se lleva a cabo a una presión de 3.000 psi [20,68 MPa] y una temperatura en el intervalo de 55°C a 65°C durante 5 a 20 segundos.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la etapa (d) se lleva a cabo a una temperatura en el intervalo de 141°C a 145°C durante 1,5 a 15 segundos.
7. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende adicionalmente llenar asépticamente la suspensión enfriada en el recipiente deseado.

Figura 1.

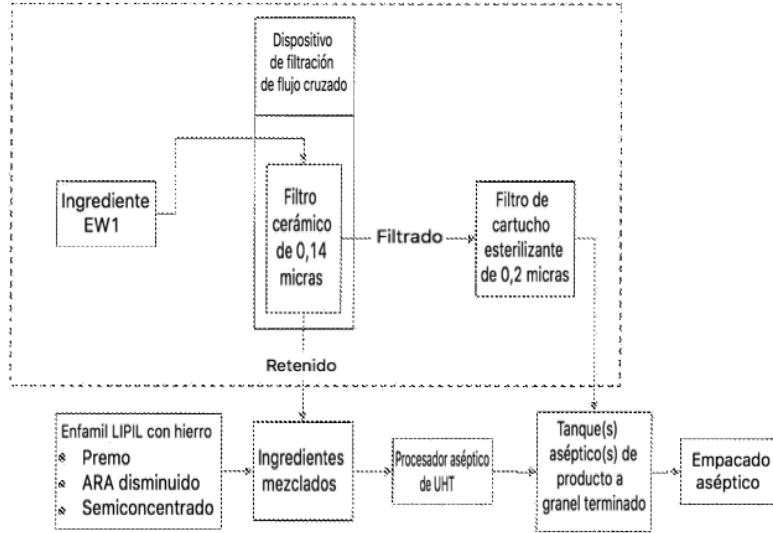


Figura 2.

Bioensayo in vitro

