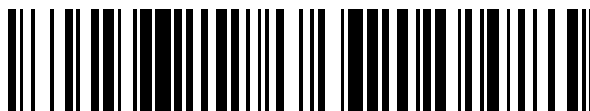


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 763 652**

51 Int. Cl.:

A23L 33/10 (2006.01)
A23L 33/17 (2006.01)
A23J 3/08 (2006.01)
A23J 3/34 (2006.01)
A23J 7/00 (2006.01)
A23L 33/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.06.2014** **PCT/EP2014/063781**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.12.2014** **WO14207247**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.06.2014** **E 14735541 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.11.2019** **EP 3013159**

54 Título: **Composiciones y productos nutricionales con mejor estabilidad de la emulsión**

30 Prioridad:

27.06.2013 EP 13174091

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.05.2020

73 Titular/es:

SOCIÉTÉ DES PRODUITS NESTLÉ S.A. (100.0%)
Entre-deux-Villes
1800 Vevey, CH

72 Inventor/es:

BRAUN, MARCEL

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 763 652 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

Composiciones y productos nutricionales con mejor estabilidad de la emulsión

5 **Ámbito de la presente invención**

La presente invención se refiere al campo de las composiciones nutricionales, en particular a composiciones proteicas que contienen proteínas hidrolizadas y a métodos para su preparación.

- 10 La presente invención se refiere en las formas de ejecución a un método para preparar una composición proteica, que consiste en modificar enzimáticamente la lecitina láctea con fosfolipasa. Después esta composición proteica se incluye en productos nutricionales para aumentar la calidad de la emulsión y la estabilidad térmica de los productos finales. La presente invención también se refiere a la composición proteica obtenible por el método, al uso de la composición proteica en la preparación de productos nutricionales, a métodos para preparar los productos nutricionales que llevan
- 15 las composiciones proteicas, así como al producto nutricional obtenible por los métodos de la presente invención.

Antecedentes de la presente invención

- 20 Los productos nutricionales que contienen proteínas hidrolizadas son deseables por muchas razones. La hidrólisis de las proteínas reduce la inmunogenicidad y se emplea, por ejemplo, para los productos nutricionales hipoalergénicos. Hipoalergénico (H.A.) se refiere a productos con menor riesgo de aparición de reacciones alérgicas. Recientemente, la FDA concluyó que las pruebas científicas actuales son adecuadas para declarar que la alimentación con fórmulas a base de suero de leche hidrolizado al 100% es beneficiosa para la salud, por estar relacionada con un menor riesgo de padecer dermatitis atópica.

- 25 Además, las proteínas hidrolizadas se absorben más fácilmente y por lo tanto son adecuadas para usar en compuestos nutricionales destinados a personas con malabsorción. Estas composiciones que contienen proteína hidrolizada son particularmente útiles para facilitar la nutrición a pacientes afectados de malabsorción que tienen grandes necesidades de proteínas. En la patente US5549905 (Composición enteral para pacientes pediátricos) o en la patente US5661123 (Composición enteral para pacientes con malabsorción) se describen ejemplos de tales composiciones.
- 30

- Los pacientes con estrés y lesiones metabólicas tienen mayor necesidad de nutrientes y energía. Las lesiones graves, los traumas y algunos estados patológicos están relacionados con la pérdida de las reservas corporales de nutrientes. Los nutrientes y sustancias no esenciales que un cuerpo puede sintetizar normalmente pueden llegar a ser limitadas para un aporte adecuado. Además puede peligrar la absorción de nutrientes del intestino, aunque no haya una lesión directa del sistema gastrointestinal.
- 35

- Los pacientes que sufren una pérdida de nutrientes necesitan un soporte nutricional adecuado. La falta de un soporte nutricional adecuado puede dar lugar a complicaciones relacionadas con la desnutrición, como el balance negativo de nitrógeno prolongado y el agotamiento de los niveles de proteínas somáticas y viscerales. Por consiguiente el soporte nutricional tiene por objeto mantener la masa corporal, proporcionar nitrógeno y energía en cantidades idóneas para favorecer la curación, satisfacer las demandas metabólicas caracterizadas por el grado de estrés y secundar la función inmunitaria.
- 40

- 45 Una forma habitual de soporte nutricional consiste en proporcionar al paciente una alimentación líquida de proteínas enteras para remediar la carencia de proteínas. Sin embargo, algunos pacientes necesitados de soporte nutricional tienen una capacidad de absorción comprometida y por lo tanto no pueden tolerar la alimentación líquida de proteínas enteras. Muchas enfermedades o sus secuelas pueden producir malabsorción a causa de trastornos de la digestión o la absorción. Por ejemplo, generalmente los pacientes que padecen diversos tipos de enfermedades inflamatorias del intestino no pueden tolerar la alimentación de proteínas enteras. Como recurso se han desarrollado dietas de proteínas semielementales y elementales para tratar a estos pacientes expuestos.
- 50

- Sin embargo, aparte de los pacientes con la típica inflamación intestinal, las dietas de proteínas semielementales y elementales se están utilizando actualmente en otros segmentos de pacientes. Los estados concretos en los que se usan estas dietas incluyen, por ejemplo, pacientes con nutrición parenteral total que reciben alimentación transitoria temprana; pacientes con enfermedades agudas; pacientes catabólicos con mayores necesidades de nitrógeno, pero que requieren una dieta elemental, y pacientes críticos que no toleran la alimentación líquida de proteínas enteras por sonda.
- 55

- 60 Además, muchos pacientes que están siendo tratados actualmente con dietas elementales también requieren niveles elevados de proteína. Por ejemplo, los pacientes con enfermedad de Crohn que están sufriendo pérdidas masivas de proteína relacionadas con la enteropatía perdedora de proteínas requieren una mayor cantidad de proteínas. De igual modo, los pacientes que padecen diarrea por hipoalbuminemia, diarrea crónica con úlceras por presión y malabsorción y diarrea relacionada con el VIH/SIDA necesitan más proteína para un soporte nutricional adecuado.
- 65

Dichos pacientes de malabsorción con mayores requerimientos de proteínas necesitan una dieta elemental con niveles

elevados de nitrógeno para mejorar la absorción de nutrientes, reponer las reservas de proteínas, alcanzar el balance de nitrógeno y promover el anabolismo. Aunque actualmente se está utilizando una variedad de dietas elementales y semielementales en un intento de tratar y/o facilitar los requisitos nutricionales de estos pacientes, los inventores de la presente invención no creen que se satisfagan adecuadamente las necesidades de dichos pacientes.

Otra aplicación puede ser el tratamiento de pacientes estresados, tal como se describe en la patente WO 2007/080149.

La patente WO02/13620A1 describe un método para producir un aditivo de productos lácteos sometiendo una mezcla de nata y una preparación de proteína de suero de leche a un proceso de homogeneización/emulsión. La patente WO03/039264A1 describe el tratamiento de una solución acuosa de proteína intacta de suero de leche mediante una fosfolipasa para mejorar las características de espumación al batirla.

Sin embargo la preparación de composiciones acuosas que contengan tanto grasa como proteína hidrolizada es difícil. Las proteínas intactas son buenos emulsionantes; sin embargo sus propiedades emulsionantes disminuyen en gran medida tras la hidrólisis, aunque sea parcial, y resulta difícil conseguir una emulsión relativamente estable, sobre todo para fórmulas líquidas. Por lo tanto, la emulsión estable de los productos, en particular de aquellos en que la totalidad o una parte de la proteína existente está hidrolizada, es problemática.

Es conocida del estado técnico la adición de emulsionantes artificiales a productos nutricionales. Los ejemplos de tales emulsionantes incluyen ésteres del ácido mono- y diacetiltartárico de mono/diglicéridos, ésteres del ácido cítrico de monoglicéridos, ésteres de sorbitán de ácidos grasos, ésteres de polietilén sorbitán de ácidos grasos, ésteres de sacarosa de ácidos grasos, ésteres de ácido láctico de monoglicéridos, ésteres de ácido acético de monoglicéridos, ésteres de poliglicerol de ácidos grasos, ésteres de propanodiol de ácidos grasos y estearil lactilatos de sodio o calcio.

Sin embargo el uso de emulsionantes artificiales es percibido negativamente por el consumidor y en particular conviene evitarlos en las composiciones para lactantes y/o ayuda sanitaria. Además, el uso de emulsionantes artificiales está fuertemente limitado por los organismos reguladores nacionales.

También es conocida la adición de emulsionantes naturales a los productos que contienen proteínas hidrolizadas. Los ejemplos de tales emulsionantes incluyen la yema de huevo, así como los emulsionantes de soja. Sin embargo, estos emulsionantes agregan alérgenos a los productos y al equipo de fabricación, lo cual obliga a incluir una etapa adicional de lavado. Por lo tanto hay que excluir los alérgenos en los productos alimenticios, particularmente en los productos nutricionales para lactantes y/o ayuda sanitaria.

Por lo tanto se necesitan productos nutricionales con mejor calidad y estabilidad de la emulsión, que puedan elaborarse utilizando un método rápido y fiable.

Resumen de la presente invención

La presente invención aborda al menos los problemas expuestos anteriormente.

Por tanto la presente invención se refiere a un método para elaborar una composición proteica que contenga proteína hidrolizada, el cual consta de las siguientes etapas:

- a) preparar una mezcla de ingredientes que contenga al menos una proteína consistente en un concentrado o una fracción de proteína de suero de leche, y lecitina láctea, en una proporción de 20 hasta 100 mg por 100 g de la mezcla de ingredientes;
- b) añadir al menos una fosfolipasa que sea fosfolipasa A1 y/o fosfolipasa A2, y efectuar la conversión de la lecitina láctea;
- c) realizar la hidrólisis de dicha proteína.

En otro aspecto la presente invención se refiere a una composición proteica que contiene proteína hidrolizada y puede obtenerse o se obtiene conforme al método antedicho de la presente invención.

En otro aspecto la presente invención se refiere a un método para preparar un producto nutricional, que consta de las siguientes etapas:

- preparar la composición proteica que contiene proteína hidrolizada según la presente invención, y
- añadir uno o más nutrientes.

En otro aspecto la presente invención se refiere a un producto nutricional obtenible u obtenido por el método de la presente invención.

En otro aspecto la presente invención se refiere al uso de la composición proteica conforme a la presente invención en la preparación de un producto nutricional.

Breve descripción de las figuras.

La figura 1 muestra una comparación de fórmulas infantiles preparadas por distintos métodos. A = concentrado de proteína de suero de leche (WPC) hidrolizado mediante un preparado de tripsina, con actividad de fosfolipasa nativa relativamente baja; B = WPC hidrolizado mediante la misma tripsina que en A + tratamiento con fosfolipasa (fosfolipasa pancreática A2); C = WPC hidrolizado mediante un preparado de tripsina, con actividad de fosfolipasa nativa relativamente baja, + adición de otros estabilizantes; D = WPC hidrolizado mediante tripsina, con actividad de fosfolipasa nativa relativamente alta. Las líneas negras marcan la zona de formación de crema. La línea negra discontinua marca la zona de formación débil de crema existente en la muestra B. Se incluyen tiras blancas para ocultar las etiquetas de identificación de las botellas.

La figura 2 ilustra la microscopía DIC de las muestras presentadas en la figura 1, A-D.

La figura 3 muestra el grado porcentual de homogeneización de las muestras A-D.

La figura 4 muestra la proporción de liso-lecitina en las muestras A, B y D tras el tratamiento con fosfolipasa.

Definiciones

Antes de discutir la presente invención con mayor detalle se definirán primero los términos y convenciones siguientes.

En el contexto de la presente invención los porcentajes mencionados se refieren a peso/peso, a menos que se indique otra cosa.

El término “y/o” usado en la expresión “X y/o Y” debe interpretarse como “X” o “Y”, o como “X e Y”.

Tal como se usan en la presente invención, los intervalos numéricos pretenden incluir cada número y subconjunto de números contenidos en este intervalo, estén o no específicamente indicados. Además, estos intervalos numéricos se deben interpretar como soporte de una afirmación referida a cualquier número o subconjunto de números de dicho intervalo. Por ejemplo, la afirmación de 1 hasta 10 debe interpretarse como compatible con un intervalo de 1 hasta 8, 3 hasta 7, 4 hasta 9, 3,6 hasta 4,6, 3,5 hasta 9,9 y así sucesivamente.

Todas las referencias a características o limitaciones singulares de la presente invención incluirán el correspondiente plural de dicha característica o limitación, y viceversa, a no ser que el contexto al cual se hace la referencia especifique otra cosa o indique claramente lo contrario.

A no ser que se definan de otra forma, todos los términos técnicos y científicos empleados en este documento tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por un especialista en la materia.

El término “grasa” se refiere a uno o más triglicéridos, independientemente de su temperatura de fusión. El término “grasa” comprende tanto los triglicéridos que están en forma líquida a 25°C, como los triglicéridos que están en forma sólida o semisólida a 25°C.

El término “emulsión” se define aquí como una mezcla de dos o más líquidos en la cual uno está en forma de gotitas de tamaño microscópico o ultramicroscópico distribuidas a través del otro. Las emulsiones se forman siempre que los líquidos que se mezclan no tengan ninguna (o muy limitada) solubilidad mutua.

Una “emulsión de aceite en agua” se refiere a una emulsión en la cual las gotitas son de aceite o de grasa y están distribuidas en el agua o en un líquido acuoso.

El término “formación de crema” se refiere a la aparición de partículas de grasa más grandes o agregadas, lo cual da lugar a una fase de grasa emulsionada que se concentra en la parte superior de los productos líquidos.

El término “emulsión estable” se refiere a aquellas emulsiones en que la separación de la fase de grasa emulsionada está fuertemente retardada. Este criterio de calidad implica que hay que evitar la percepción visual de la separación de la grasa, produciendo una fórmula homogénea de calidad nutricional y digestibilidad completa.

El término “grado de hidrólisis” se refiere al porcentaje de nitrógeno en forma de alfa-amino nitrógeno libre respecto al nitrógeno total. Es una medida del alcance de la hidrólisis proteica. (J Agric Food Chem 1979 27 (6), p. 1256-1262).

El “grado de homogeneización” se mide comparando la concentración de grasa en las composiciones antes y después de la centrifugación (1600 x g durante 15 min, parte central de la muestra), y se expresa en porcentaje. Este método se usa para predecir la separación de la fase de emulsión de grasa durante el almacenamiento del producto (llamada “formación de crema”).

El término “hipoalergénico” (HA) se refiere a productos con menor riesgo de aparición de reacciones alérgicas.

El término “fosfolipasa” se refiere a un enzima que hidroliza los fosfolípidos a ácidos grasos y otras sustancias lipófilas. Los términos “lecitasa” y “lecitinasa” son sinónimos y se usan indistintamente como fosfolipasa.

Descripción detallada de la presente invención

La presente invención se refiere a un método de preparación de una composición proteica, que implica la conversión enzimática de lecitina láctea con al menos una fosfolipasa A1 y/o fosfolipasa A2. Esta composición proteica se incluye después en productos nutricionales para aumentar la calidad de la emulsión y la estabilidad térmica de los productos nutricionales terminados.

Los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que el tratamiento de la lecitina láctea con fosfolipasa produce emulsiones mejoradas, incluso en composiciones que llevan proteína hidrolizada. Sin querer limitarse a la teoría, se cree que el tratamiento con fosfolipasa convierte la lecitina láctea en compuestos tales como ácidos grasos libres y/o lisolecitina, que actúa estabilizando la emulsión.

Sorprendentemente, a concentraciones ya muy bajas de lecitina láctea transformada y fosfolipasa aplicada se obtuvo una mejora significativa de la calidad y estabilidad de la emulsión.

Por lo tanto, en un aspecto, la presente invención se refiere a un método para elaborar una composición proteica que contenga proteína hidrolizada, el cual consta de las siguientes etapas

- a) preparar una mezcla de ingredientes que contenga al menos una proteína consistente en un concentrado o una fracción de proteína de suero de leche, y lecitina láctea, en una proporción de 20 hasta 100 mg por 100 g de la mezcla de ingredientes;
- b) añadir al menos una fosfolipasa que sea fosfolipasa A1 y/o fosfolipasa A2, y efectuar la conversión de la lecitina láctea; y
- c) realizar la hidrólisis de dicha proteína.

En otro aspecto la presente invención se refiere a la composición proteica obtenible u obtenida según este método.

Hidrólisis proteica

La hidrólisis de las proteínas se puede efectuar antes que, al mismo tiempo que o tras la conversión de la lecitina láctea. En una forma de ejecución la hidrólisis de las proteínas puede realizarse en al menos una etapa a elegir entre antes que, al mismo tiempo que o tras la adición de al menos una fosfolipasa. En algunas formas de ejecución se efectúa más de una etapa de hidrólisis proteica. En una forma de ejecución preferida del método según la presente invención la etapa de fosfolipasa se realiza simultáneamente con una etapa de hidrólisis proteica.

La hidrólisis proteica es preferiblemente de tipo enzimático. Se puede emplear cualquier enzima o mezcla enzimática proteolítica, como las proteasas de origen animal, vegetal o microbiano. En una forma de ejecución particularmente preferida se emplea tripsina, endopeptidasas análogas a la tripsina o una fracción que contenga tripsina para hidrolizar las proteínas. La tripsina, las endopeptidasas análogas a la tripsina o las preparaciones que contienen tripsina pueden provenir de plantas, de páncreas de animales o de fermentaciones microbianas. Los microbios utilizados pueden ser, por ejemplo, microorganismos modificados genéticamente. Las preparaciones de tripsina llevan en general una mezcla de enzimas en diferentes proporciones, como tripsina, quimotripsina, elastina, carboxipeptidasa, amilasas, lipasas y fosfolipasa. En la patente WO2012/042013 se describen ejemplos de aplicación de preparaciones proteolíticas en las que se usan microorganismos modificados genéticamente.

La tripsina o endopeptidasa análoga a la tripsina se puede preparar en combinación con otra u otras proteasas.

Por lo tanto la preparación proteolítica puede contener una endopeptidasa similar a la tripsina y/o una endopeptidasa similar a la quimotripsina, producida por ejemplo a partir de cualquier microorganismo.

En una forma de ejecución la endopeptidasa análoga a la tripsina procede de un microorganismo elegido de una cepa de *Fusarium*, preferiblemente de *Fusarium oxysporum* y/o de una cepa de *Kutzneria*, preferiblemente *Kutzneria albida*; y la endopeptidasa similar a la quimotripsina procede de una cepa de *Nocardiopsis*, preferiblemente *Nocardiopsis sp.* EMBL CDS CAI94179, o de *Metarhizium*, preferiblemente *Metarhizium anisopliae* y/o de una cepa de *Brachysporiella*, preferiblemente *Brachysporiella gayana*.

En otra forma de ejecución, la hidrólisis proteica según el método según la presente invención se realiza empleando una mezcla de una endopeptidasa análoga a tripsina procedente de *Fusarium oxysporum* o de *Kutzneria albida*, junto con una endopeptidasa análoga a quimotripsina procedente de *Nocardiopsis sp.* o de *Metarhizium anisopliae*.

La forma de ejecución de la conversión de la lecitina láctea simultáneamente con la hidrólisis proteica proporciona un proceso optimizado.

Otras formas de ejecución del método de preparación de una composición proteica que contenga proteína hidrolizada incluyen el procedimiento consistente en llevar a cabo la hidrólisis proteica antes y/o después de añadir al menos una fosfolipasa.

Los hidrolizados de proteínas son útiles en las composiciones proteicas destinadas a preparar, por ejemplo, productos

nutricionales hipoalergénicos, como las fórmulas infantiles hipoalergénicas. Los hidrolizados de proteínas también son convenientes en productos nutricionales diseñados como ayuda sanitaria para personas con deficiencias de absorción debidas por ejemplo a afecciones de los intestinos relacionadas p.ej. con una función insuficiente del páncreas u otras glándulas productoras de proteasas, porque la proteína hidrolizada es más fácil de digerir y absorber. Los pacientes con estrés y lesiones metabólicas, por ejemplo, también tienen mayor necesidad de nutrientes y energía.

No obstante, la presente invención también se refiere a métodos, composiciones y productos nutricionales en los que toda o la mayor parte de la proteína está intacta. Se considera que el tratamiento con fosfolipasa y la conversión de la lecitina láctea favorecerán y/o mejorarán la estabilidad de la emulsión de estos productos nutricionales terminados. Por lo tanto, en esta forma de ejecución, el método incluye la etapa de preparar un ingrediente que contenga lecitina láctea y proporcionar al menos una fosfolipasa. La composición así formada se puede usar para preparar productos nutricionales con mejor estabilidad de la emulsión.

La proteína puede proceder de cualquier fuente o combinación de fuentes. Los ejemplos incluyen proteínas vegetales como una o más proteínas de soja, guisantes, arroz y/o proteínas animales como las de productos lácteos tales como el suero lácteo y/o la leche. En una forma de ejecución preferida la proteína es de tipo lácteo, como la escogida entre la caseína y/o proteínas de suero de leche tales como la beta-lactoglobulina y la alfa-lactoalbúmina. En una forma de ejecución particularmente preferida, la proteína es aportada en forma de suero lácteo, que puede ser, por ejemplo, un concentrado de proteína de suero de leche (WPC) o una fracción de proteína de suero de leche (WPF). El WPC puede definirse como un producto enriquecido con proteína de suero lácteo, que se prepara normalmente mediante procesos de filtración de membrana, mientras que las fracciones de proteína de suero lácteo se relacionan más con productos enriquecidos cromatográficamente o con proteínas enriquecidas mediante precipitaciones. El suero lácteo también se puede aportar en forma líquida o desecada.

Una forma de ejecución de la presente invención se refiere a un método que comprende las etapas de añadir lecitina láctea a una composición nutricional que incluye un hidrolizado proteico, o a un hidrolizado proteico propiamente, y la adición de al menos una fosfolipasa para convertir la lecitina láctea, liberando por ejemplo ácidos grasos y lisolecitina, lo cual contribuye a estabilizar la emulsión de los productos nutricionales terminados.

Lecitina

La lecitina es un término usado para referirse en conjunto a los fosfolípidos. Como ejemplos de fosfolípidos que pueden hallarse en la lecitina cabe citar: fosfatidilinositol (PI), fosfatidil-L-serina (PS), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilcolina (PC) y esfingomielina (SP). El término lecitina y fosfolípidos se usan aquí indistintamente.

La lecitina se encuentra en plantas y animales, y su composición difiere en todos estos casos. En la siguiente tabla 1 se comparan las lecitinas de soja, yema de huevo de gallina y leche bovina. Como es evidente, hay diferencias tanto en los fosfolípidos presentes en la lecitina como en sus proporciones relativas.

La lecitina láctea tiene una composición diferente en comparación con otras lecitinas, si bien contiene concentraciones sustanciales y similares de PE, PC, PS y SP. En cambio la lecitina de huevo contiene principalmente PC, mientras que la lecitina de las habas de soja carece de SP y contiene concentraciones más altas de PI y PA.

Por lo tanto, la composición estructural de la lecitina láctea es diferente de la composición estructural de la lecitina de huevo y de la lecitina de soja. Por esta razón las lecitinas de diferentes fuentes encuentran diferentes aplicaciones.

Se deduce que los ácidos grasos libres y las lisolecitinas resultantes de la acción de la fosfolipasa sobre la lecitina de la leche son diferentes, por ejemplo, en el caso de la soja o del huevo.

Por lo tanto las lecitinas de diferente procedencia o sus fracciones pueden proporcionar diferentes funcionalidades. El intervalo óptimo de concentración varía según el tipo de lecitina y la aplicación.

Sorprendentemente, la pequeña cantidad de lecitina láctea nativa tratada con fosfolipasa mejora la estabilidad de la emulsión en comparación con la adicción de cantidades relativamente altas de p.ej. lecitina de soja.

Tabla 1

	Lecitina de soja líquida	Lecitina de yema de huevo de gallina	Leche bovina
	%	%	%
PI	15	9	6
PE	31	19	34
PA	14		
PS			3
LPE			
PC	33	66	25
SP		3	24
LPC	7	3	
Otros			8
Total de PL	100	100	100

PI = fosfatidilinositol, PA = ácido fosfatídico, PS = fosfatidil-L-serina, PE = fosfatidiletanolamina, PC = fosfatidilcolina, LPE = lisofosfatidiletanolamina, LPC = liso-fosfatidilcolina y SP = esfingomielina. Otros = ceramidas (GluCer, LacCer)

Los porcentajes de la tabla 1 están basados en niveles medidos en productos de formulación líquida terminados. La concentración de lecitina de soja utilizable en las fórmulas nutricionales líquidas puede llegar hasta el 0,5% p/p, lo cual representa aproximadamente 210 mg de fosfolípidos por 100 g de fórmula. La fórmula basada en WPC solo contiene normalmente unos 34 mg de fosfolípidos por 100 g de fórmula.

En una forma de ejecución de la presente invención, la lecitina láctea puede estar en una proporción comprendida en el intervalo de 5 mg hasta 500 mg por 100 g de la mezcla de ingredientes, por ejemplo de 10 hasta 100 mg por 100 g, preferiblemente de 20 hasta 100 mg por 100 g de mezcla de ingredientes. En general, cuanto mayor sea el grado de hidrólisis proteica, mayor será la proporción de lecitina láctea necesaria.

Tabla 2

Fórmula nutricional que contiene bajas proporciones de lecitina láctea convertida (0,03 g de LPC y LPE / 100g)	Grado de homogeneización
con 0,2% p/p de lecitina de soja	< 40%
sin lecitina de soja	84%

LPC = liso-fosfatidilcolina; LPE = liso-fosfatidiletanolamina

La tabla 2 describe el grado de homogeneización obtenido en un producto nutricional según la presente invención, ya sea sin adición de lecitina de soja o con adición de lecitina de soja. Sorprendentemente, se encontró que la inclusión de lecitina de soja no mejoraba la calidad de la emulsión.

Así, en una forma de ejecución, la presente invención se refiere a un producto nutricional conforme a la misma que no contiene lecitina de soja. En otras formas de ejecución de la presente invención, el único emulsionante incluido es la lecitina láctea convertida.

En el contexto de la presente solicitud, el término "lecitina láctea convertida" se refiere a los productos resultantes de la acción de la fosfolipasa sobre la lecitina de la leche, que incluyen ácidos grasos libres, lisofosfolípidos, diglicéridos, compuestos de fosfatidilo, fosfoglicerolípidos y la parte restante (p.ej. colina).

En una forma de ejecución preferida del método, la lecitina láctea empleada en un método según la presente invención es lecitina de leche nativa. El término lecitina de leche nativa significa que la lecitina láctea se encuentra naturalmente en uno de los ingredientes de la mezcla, por ejemplo en un concentrado de proteína de suero de leche y/o en productos lácteos como por ejemplo, leche, suero de leche, mantequilla, queso, nata y leche cortada o en combinaciones de los mismos.

El uso de lecitina de leche nativa excluye la necesidad de añadir lecitina de leche externa o, mejor dicho, lecitinas externas de otras fuentes, tales como lecitinas de soja o similares, lo cual evita a la vez la introducción de potenciales alérgenos en el hidrolizado proteico y en el producto nutricional terminado. Además, esta forma de ejecución se puede implementar utilizando la misma línea básica de producción de fábrica empleada anteriormente, con solo pequeños cambios.

El concentrado de proteína de suero de leche es un ingrediente que aportará lecitina de leche nativa. Un ejemplo de tales WPC es el Lacprodan® DI-87 de Aria Foods (DK). También hay otros productos análogos, como p.ej. Armor (F), Davisco (EUA), DMV (NL), Glanbia (IR), Kerry (IR), Hilmar (EUA), Fonterra (NZ). Las concentraciones características de lecitina son aproximadamente de 0,3-2 g/100 g y las concentraciones de proteína del 25-90%.

Es ventajoso que la lecitina láctea presente de forma natural en el concentrado de proteína de suero de leche se pueda aprovechar, sin necesidad de añadir un compuesto no lácteo.

5 Así, una forma de ejecución se refiere a un método según la presente invención en el cual la lecitina láctea va incluida en el concentrado de proteína de suero de leche, es decir, que el aporte de un ingrediente proteico, como por ejemplo el suero de leche, por ejemplo en forma de WPC, también proporciona lecitina láctea.

Fosfolipasa

10 Los inventores de la presente invención han visto sorprendentemente que la adición de fosfolipasa a una composición que contiene lecitina de leche transforma la lecitina láctea liberando productos de reacción tales como ácidos grasos libres y/o liso-fosfolípidos y mejorando con ello la calidad de la emulsión en los productos nutricionales terminados que los contienen.

15 Los ácidos grasos libres y/o la lisolecitina son producidos por la acción de al menos una fosfolipasa sobre la lecitina de la leche. Según la presente invención puede tratarse de una o más fosfolipasas seleccionadas entre fosfolipasa A2 (PLA2), fosfolipasa A1 (PLA1) fosfolipasa B (PLB), fosfolipasa C (PLC) y/o fosfolipasa D (PLD).

20 Las fosfolipasas PLA1 y PLA2 liberan una molécula de ácido graso de un fosfolípido, la PLA1 en la posición SN1 del glicerol y la PLA2 en la posición SN2. La fosfolipasa B tiene las actividades de PLA1 y PLA2 y escinde ambas cadenas de acilo SN-1 y SN-2. Además hay otros dos tipos de fosfolipasa, en concreto la fosfolipasa C (PLC) y la fosfolipasa D (PLD). La fosfolipasa C convierte la lecitina en diglicéridos y compuestos de fosfatidilo. La fosfolipasa D convierte la lecitina en fosfoglicerolípidos y la parte restante (p.ej. colina). Los productos resultantes de la acción de cualquiera de las fosfolipasas PLA1, PLA2, PLB, PLC, PLD o de combinaciones de las mismas sobre la lecitina láctea se pueden
25 usar como emulsionantes según la presente invención. Por lo tanto, en un aspecto adicional, la presente invención se refiere al uso como emulsionantes de los productos resultantes de la acción de cualquiera de las fosfolipasas PLA1, PLA2, PLB, PLC, PLD o de combinaciones de los mismos sobre la lecitina de la leche.

30 La fosfolipasa, una al menos, utilizada en un método según la presente invención es fosfolipasa A1 y/o fosfolipasa A2.

En una forma de ejecución preferida la composición de la presente invención contiene fosfolipasa PLA2. Normalmente se prefiere la PLA2 porque la liberación del ácido graso en la posición SN2 crea un grupo de cabeza de mayor polaridad y una parte terminal hidrófoba en la posición SN1, produciendo así un emulsionante más eficiente.

Tabla 3

mg/100 g de hidrolizado	PE	PC	PE & PC	LPE	LPC	SP
Sin fosfolipasa	88	76	164	< 4	< 4	77
Fosfolipasa A1	19	21	40	37	34	80
Fosfolipasa A2	< 4	18	18	45	41	84
Fosfolipasa A1 & A2	13	13	26	5	12	78
PI = fosfatidilinositol, PA = ácido fosfatídico, PS = fosfatidil-L-serina, PE = fosfatidiletanolamina, PC = fosfatidilcolina, LPE = lisofosfatidiletanolamina, LPC = liso-fosfatidilcolina y SP = esfingomielina. Otros = Ceramidas (GluCer, LacCer). Los porcentajes en la tabla 3 son % p/p basados en los niveles medidos en el producto hidrolizado.						

40 El uso de fosfolipasa A1 y fosfolipasa A2 permite producir una amplia variedad de lecitinas, como por ejemplo lecitinas, lisolecitinas con ácidos grasos en la posición sn-1, lisolecitinas con ácidos grasos en la posición sn-2 y esfingomielina láctea no hidrolizada, proporcionando buena estabilidad a la emulsión.

La PLA1 se puede adquirir de Novozymes bajo la marca registrada Phospholipase™ Ultra. La PLA2 está disponible comercialmente, por ejemplo, bajo la marca registrada Maxapal® A2 de DSM Food Specialties B.V., Holanda.

45 La fosfolipasa puede encontrarse en una proporción comprendida en el intervalo de 1 µg hasta 10 mg por 100 g de la composición proteica que contiene proteína hidrolizada, por ejemplo 10 µg hasta 1 mg, 10 µg hasta 5 mg, 20 µg hasta 1 mg, 500 µg hasta 1 mg; preferiblemente de 0,01 hasta 0,1 mg por 100 g de composición proteica.

50 Las composiciones proteicas pueden contener proteínas en el intervalo del 1 hasta el 20%, con un grado de hidrólisis comprendido en el intervalo del 8 hasta el 45%. El contenido de lecitina está comprendido normalmente en el intervalo de 5 - 200 mg/100 g de composición proteica.

55 Las composiciones proteicas de la presente invención pueden contener, por ejemplo, 10 µg - 10 mg de fosfolipasa por 10 - 100 mg de contenido de lecitina; o, por ejemplo, 0,1 - 100 unidades por aproximadamente 10-100 mg de lecitina contenida en la composición proteica.

Normalmente el tratamiento con fosfolipasa se puede llevar a cabo a una temperatura de 30 hasta 80°C, por ejemplo de 35 hasta 75°C, de 40 hasta 65°C, de 40 hasta 60°C, preferiblemente a 40-60°C.

5 El tratamiento con fosfolipasa se puede realizar a un valor de pH de 5 hasta 9,5, por ejemplo a un pH de 5 hasta 9, de 5,5 hasta 8,5, de 5,5 hasta 8 o de 6 hasta 8.

El tratamiento con fosfolipasa puede durar desde unos pocos minutos hasta varias horas, por ejemplo desde 3 minutos hasta 10 horas, por lo general entre 30 minutos y 6 horas.

10 Como se ha indicado arriba, la estabilidad de la emulsión depende tanto de la cantidad de proteína presente como del grado de hidrólisis de la proteína. Por tanto la disminución de las cantidades de proteína y/o el aumento de los niveles de hidrólisis de la proteína requerirán mayores niveles de conversión de fosfolípidos para asegurar la estabilidad de la emulsión en el producto nutricional terminado. Los niveles de conversión de fosfolípidos se pueden regular mediante las proporciones de lecitina y fosfolipasa y/o la duración de la reacción y otros parámetros. Esta regulación depende de la habilidad del especialista en la materia.

La relación entre fosfolípidos y grasa es un factor importante para la estabilidad de la emulsión.

20 El contenido de lecitina y de grasa está comprendido normalmente en el intervalo de 10-200 mg de lecitina/100 g y 0,03-6 g de grasa/100 g respectivamente, lo cual corresponde a relaciones de lecitina a grasa entre 0,2:99,8 y 67:33.

El tratamiento con fosfolipasa puede terminarse inactivándola. La inactivación se puede lograr, por ejemplo, mediante proteólisis de la fosfolipasa, inactivación térmica, adición de inhibidor o inactivación a través del pH. Los ejemplos de inactivación térmica incluyen el tratamiento UHT, etc.

25 Según el tipo de fosfolipasa y las condiciones utilizadas, la fosfolipasa se puede inactivar por la acción proteolítica. En caso de que dichas condiciones sean preferentes, el tratamiento con fosfolipasa debe realizarse antes del tratamiento proteolítico o tras la inactivación de las proteasas.

30 Así, los inventores de la presente invención han visto sorprendentemente cómo la adición de pequeñas cantidades de fosfolipasa a una composición que lleva lecitina láctea da como resultado una emulsión mejorada de la composición, sin necesidad de agregar otros agentes emulsionantes.

35 Por lo tanto, una forma de ejecución preferida del método de la presente invención comprende las siguientes etapas

- preparar una proteína y lecitina de leche, por ejemplo, mediante un concentrado de proteína de suero de leche que contiene lecitina de leche
- agregar al menos una fosfolipasa, como por ejemplo la fosfolipasa A2, y
- realizar la hidrólisis de dicha proteína y un tratamiento simultáneo con fosfolipasa

40 Por ejemplo, el WPC se reconstituye hasta una concentración de materia seca del 5 al 30% p/p, se ajusta en el intervalo de pH 7 – 7,5 a 40-55°C y se trata durante 1 a 6 horas con enzimas proteolíticos en combinación con fosfolipasa.

Método de preparación de una composición proteica.

45 Así, en algunas formas de ejecución se prepara una proteína y lecitina de leche mediante suero de leche, por ejemplo suero lácteo líquido. En principio el suero lácteo líquido puede suministrarlo, por ejemplo, cualquier fabricante de WPC suficientemente cercano como para permitir el transporte del suero líquido de leche, que es una materia prima sensible microbiológicamente. Como alternativa se puede usar suero de leche en polvo, por ejemplo un concentrado o fracción de proteína de suero lácteo. En estos casos el suero de leche en polvo se disuelve en agua. Por ejemplo, el suero de

50 leche en polvo se puede disolver en agua calentada, por ejemplo, a una temperatura comprendida en el intervalo de 40-80°C, por ejemplo de 50 a 70°C, de 55 a 60°C, tal como 60°C aproximadamente.

El pH de la solución se puede ajustar a un valor adecuado. El pH puede seleccionarse en función de los requisitos de pH del enzima o los enzimas que deben utilizarse en la hidrólisis de las proteínas. El pH se puede ajustar, por ejemplo, añadiendo una solución alcalina.

La hidrólisis de las proteínas se efectúa preferiblemente con tripsina. La tripsina puede ser, por ejemplo, un preparado enzimático comercial de tripsina, o por ejemplo puede encontrarse en un preparado enzimático comercial microbiano. La tripsina puede estar como enzima en una mezcla de enzimas proteolíticos.

60 Cuando se usa tripsina, el pH puede estar comprendido en el intervalo de 7,0 hasta 8,0, como 7,4 hasta 7,8, y puede ser por ejemplo 7,4, 7,6, 7,7 o 7,8.

La cantidad de enzima utilizada para realizar la hidrólisis proteica se puede elegir en función de la cantidad de sustrato proteico.

La elección de la cantidad de tripsina que debe utilizarse se basa en datos experimentales. En general la cantidad de proteasa depende de condiciones de proceso tales como, por ejemplo, la temperatura, el pH, la actividad enzimática, la estructura tridimensional de las proteínas (despliegue) y el grado deseado de hidrólisis proteica. La elección de la cantidad de tripsina o preparación enzimática necesaria para lograr la proteólisis cae dentro de la práctica técnica.

La hidrólisis puede terminarse inactivando la proteína, por ejemplo mediante un tratamiento térmico. En un ejemplo la mezcla se calienta al menos a 80°C, como al menos a 90°C, por ejemplo a 93°C, 94°C, 95°C, 96°C o 97°C. Luego la mezcla se puede enfriar. El tratamiento hidrolítico puede durar, por ejemplo, al menos 30 minutos, como en un intervalo de 30 minutos hasta 8 horas, como aproximadamente 3, 4, 5, 6, 7 u 8 horas.

La hidrólisis de las proteínas se puede realizar en dos etapas, incluyendo, por ejemplo, una primera y segunda etapa de hidrólisis.

El método de la presente invención también supone añadir una o más fosfolipasas y transformar la lecitina láctea en ácidos grasos libres y lisolecitina.

Para transformar la lecitina láctea se necesita fosfolipasa. La fosfolipasa o fosfolipasas pueden estar contenidas en el preparado de tripsina, por ejemplo como fosfolipasa A2 pancreática nativa. Como alternativa se pueden agregar por separado o de manera combinada.

La fosfolipasa se puede añadir en cualquier momento idóneo del proceso, por ejemplo en la primera o segunda etapa de la hidrólisis. Opcionalmente la fosfolipasa se puede agregar en una etapa posterior del proceso; sin embargo debe incorporarse antes de una etapa final de inactivación del enzima.

Hay que definir las condiciones de proceso correspondientes a intervalos óptimos de los enzimas lecitasa y proteasa.

En algunas formas de ejecución se añade la fosfolipasa en proporciones de 0,1 mg hasta 30 mg/kg de WPC, tal como 1 hasta 20 mg/kg, por ejemplo 1 hasta 18, 1 hasta 16, 1 hasta 14, 1 hasta 13, 1 hasta 12, 1 hasta 10 mg/kg de WPC; o por ejemplo 5 hasta 25, 5 hasta 24, 5 hasta 22, 5 hasta 20, 5 hasta 15, 5 hasta 12 o 5 hasta 10 mg/kg de WPC.

En otras formas de ejecución se puede añadir fosfolipasa en proporciones correspondientes a 10000 hasta 1000000 U/kg de WPC, tal como 50000 hasta 500000; 50000 hasta 250000, por ejemplo 50000 hasta 225000, 50000 hasta 200000, 50000 hasta 175000; o por ejemplo 75000 hasta 500000, 75000 hasta 300000, 75000 hasta 250000, 80000 hasta 175000, 90000 hasta 175000, 90000 hasta 150000, 90000 hasta 130000, 100000 hasta 130000, 110000 hasta 125000 U/kg de WPC, 120000 hasta 125000 U/kg WPC o por ejemplo 120000 U/kg de WPC, aproximadamente.

La composición proteica obtenible por el método anterior

Tal como se ha mencionado anteriormente, la presente invención se refiere en otro aspecto a una composición proteica que contiene proteína hidrolizada obtenible según los métodos arriba descritos de la presente invención.

La composición proteica así obtenida puede contener al menos péptidos, aminoácidos, derivados del suero de la leche; productos de conversión de lecitina láctea mediante fosfolipasa tales como lisolecitina, ácidos grasos libres y cualquier fosfolípido nativo restante procedente de la lecitina láctea.

Esta composición proteica puede considerarse como material de partida de un proceso de preparación de un producto nutricional.

Esta composición proteica puede estar en forma líquida. Como alternativa la composición proteica puede encontrarse en forma seca, que luego se puede reconstituir.

En una forma de ejecución se agrega uno o más aceites y/o lípidos a una composición proteica obtenible por el método y se seca la composición. El secado de la composición proteica que contiene proteínas hidrolizadas y la subsiguiente reconstitución se pueden favorecer añadiendo aceite antes del secado. La composición proteica que contenga aceite según la presente invención tendrá un mejor comportamiento durante el secado por pulverización, el polvo resultante se reconstituirá mejor y se formará menos espuma durante su reconstitución.

Se añaden preferiblemente aquellos aceites que son bastante estables a la oxidación de lípidos, por ejemplo aceites triglicéridos de cadena media (MCT) o aceite de girasol rico en oleico.

Así, en una forma de ejecución, la presente invención se refiere a un método según la misma que incluye una etapa de secado y una etapa en la cual se agrega uno o más aceites y/o lípidos antes del secado.

Por ejemplo, en una forma de ejecución la presente invención se refiere a un método según la misma que comprende además las siguientes etapas:

d) adición de uno o más aceites y/o lípidos tales como aceite de triglicéridos de cadena media (MCT) o aceite de

girasol rico en oleico, y
e) secado

Uso de la composición proteica según la presente invención

5 En otro aspecto la presente invención se refiere al uso de la composición proteica, obtenible u obtenida a partir de un método de la presente invención, para preparar un producto nutricional.

10 La presente invención también se refiere al uso de la composición proteica, obtenible u obtenida conforme a un método de la presente invención, como emulsionante y/o estabilizante de emulsiones, por ejemplo en productos nutricionales tales como fórmulas infantiles o productos nutricionales para el cuidado de la salud.

Método de preparación de un producto nutricional.

15 En otro aspecto la presente invención se refiere a un método para preparar un producto nutricional, que consta de las siguientes etapas

- a) elaborar la composición proteica según la presente invención del modo descrito anteriormente
- b) agregar uno o más nutrientes.

20 El nutriente o nutrientes se pueden seleccionar, por ejemplo, entre grasas, carbohidratos, minerales, oligoelementos, vitaminas, prebióticos y/o probióticos.

Se puede añadir agua por separado o junto con uno o más de los nutrientes en forma de una solución o suspensión acuosa de uno o más de los nutrientes.

25 En una forma de ejecución, el método de preparación de un producto nutricional incluye además una etapa de secado. El método puede incluir asimismo una etapa consistente en reconstituir el producto nutricional seco en un líquido y mezclarlo para formar una emulsión. El método de preparación de un producto nutricional puede incluir además etapas de homogeneización y/o esterilización del producto nutricional.

30 La homogeneización puede realizarse antes o después de la adición de nutrientes o, como alternativa, antes y después de la adición. La homogeneización puede tener lugar, por ejemplo, entre 40 y 80°C.

35 El producto nutricional también se puede esterilizar. En un ejemplo, el producto nutricional se esteriliza por tratamiento a temperatura ultra elevada (UHT), por ejemplo mediante inyección directa de vapor o calentamiento indirecto.

En una forma de ejecución el producto nutricional se puede envasar y luego esterilizar. La esterilización puede durar, por ejemplo, 4 hasta 12 minutos. La temperatura de esterilización puede ser, por ejemplo, de 118 hasta 124°C.

40 En una forma de ejecución, el método de preparación de un producto nutricional puede incluir además una etapa de secado.

45 La etapa de secado puede consistir, por ejemplo, en secar el producto por pulverización. Un producto nutricional seco conforme a la presente invención se puede reconstituir antes de usarlo. Así, en una forma de ejecución, el método de preparación de un producto nutricional conforme a la presente invención incluye una etapa consistente en reconstituir el producto nutricional seco en un líquido y mezclarlo para formar una emulsión.

50 En otra forma de ejecución se puede añadir uno o más aceites y/o lípidos a un producto nutricional según la presente invención y secarlo. El secado del producto nutricional de la presente invención y la subsiguiente reconstitución pueden favorecerse si se añade aceite antes del secado. El producto nutricional con contenido de aceite se comportará mejor durante el secado por pulverización, el polvo resultante se reconstituirá mejor y se formará menos espuma durante la reconstitución del producto nutricional seco conforme a la presente invención.

55 Se añaden preferiblemente aquellos aceites que son bastante estables a la oxidación de lípidos, por ejemplo aceites triglicéridos de cadena media (MCT) o aceite de girasol rico en oleico.

Así, en una forma de ejecución, la presente invención se refiere a un método para elaborar un producto nutricional de acuerdo con la misma, que incluye una etapa de secado y una etapa en la cual se agrega uno o más aceites y/o lípidos antes del secado.

60 Por ejemplo, en una forma de ejecución, la presente invención se refiere a un método conforme a la misma que incluye además las siguientes etapas

- d) añadir uno o más aceites y/o lípidos tales como aceites triglicéridos de cadena media (MCT) o aceite de girasol rico en oleico y
- e) secado

65

Producto nutricional obtenible u obtenido por el método

Otros aspectos de la presente invención se refieren a un producto nutricional obtenible conforme a los métodos ideados para preparar un producto nutricional.

5 Así, en una forma de ejecución, el producto nutricional según la presente invención es una composición seca en forma de polvo, productos en polvo aglomerados o tabletas, que puede ser adecuada para reconstituirla en un líquido.

10 En otra forma de ejecución, el producto nutricional según la presente invención es un líquido tal como una emulsión, preferiblemente del tipo aceite en agua. El líquido puede ser una fórmula lista para beber o un concentrado que debe diluirse antes del consumo.

15 El producto nutricional según la presente invención también se puede caracterizar por formar emulsiones estables en estado líquido.

La observación visual es la manera más relevante de caracterizar una emulsión, además de la microscopía y de la distribución del tamaño de partícula (DTP) por difracción láser (p.ej. con los instrumentos Malvern u Horiba). Se pueden usar valores medios ponderados volumétricamente $D[3,2]$ - calculados a partir de los datos de DTP - para caracterizar la estabilidad de la emulsión.

20 En una forma de ejecución, la presente invención se refiere a un producto nutricional según la misma, caracterizado porque los únicos emulsionantes contenidos en el producto nutricional terminado proceden de la lecitina láctea.

25 En una forma de ejecución, los únicos emulsionantes contenidos en el producto nutricional terminado de la presente invención son los ácidos grasos, las lisolecitinas, los mono-di-glicéridos y los fosfoglicerolípidos derivados de la lecitina láctea nativa, resultantes del tratamiento con fosfolipasa.

30 En otras formas de ejecución, el producto nutricional de la presente invención tiene un grado de homogeneización de al menos el 75%, por ejemplo superior al 75%, por ejemplo de al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92% o por ejemplo alrededor del 90%.

35 En otra forma de ejecución, la presente invención se refiere a un producto nutricional según la misma, en el cual las grasas/agregados tienen un tamaño medio de partícula (media ponderada en volumen [4,3]) no superior a 2 μm , como por ejemplo no superior a 1 μm , no superior a 0,6 μm , no superior a 0,6 μm , por ejemplo de aproximadamente 0,5 μm o por ejemplo de 0,1 hasta 0,5 μm , por ejemplo de 0,2 a 0,5 μm , 0,2 hasta 0,5 μm , 0,3 hasta 0,5 μm , 0,3 hasta 0,4 μm .

40 En otra forma de ejecución, el producto nutricional según la presente invención tiene un grado de conversión de lecitina de al menos el 20%, por ejemplo de al menos el 24%, de al menos el 30%, de al menos el 35%, de al menos el 40%, de al menos el 50 %, de al menos el 60%, de al menos el 70%, de al menos el 80%.

En formas de ejecución preferidas, el producto nutricional tiene un grado de conversión de lecitina de al menos el 50%, por ejemplo de al menos el 60%, al menos 70% o al menos 80%.

45 Por consiguiente, en una forma de ejecución, la presente invención se refiere a un producto nutricional que tiene un grado de homogeneización de al menos el 75% y un grado de conversión de lecitina de al menos el 20%.

50 En otras formas de ejecución el producto nutricional según la presente invención tiene un grado de homogeneización de al menos el 75%, un tamaño de partícula medio no superior a 0,6 μm y un grado de conversión de lecitina de al menos el 20%.

Los productos nutricionales de la presente invención pueden tener una proporción de proteína hidrolizada comprendida en el intervalo de aproximadamente 1 - 8 g/100 g de producto nutricional líquido terminado, tal como aproximadamente 1 - 5 g/100 g, 1 - 4 g/100 g o, por ejemplo, aproximadamente 2 - 4 g/100 g de producto nutricional líquido terminado.

55 Los productos nutricionales de la presente invención pueden contener una proporción de productos resultantes de la conversión con fosfolipasa, tales como lisolecitina, de al menos 5 mg/100 g de producto, por ejemplo de al menos 8, al menos 10, al menos 12, al menos 16, al menos 18, al menos 20 mg de lisolecitina/100 g de producto.

60 El producto nutricional según la presente invención puede ser una fórmula seleccionada del grupo constituido por una fórmula infantil, una fórmula nutricional para el cuidado de la salud y una fórmula de suplemento nutricional.

65 Las fórmulas infantiles pueden elaborarse de diferentes maneras, dependiendo de los requerimientos nutricionales de la etapa o situación del niño. Así, la fórmula infantil (FI) de la presente invención puede elegirse del grupo formado por una FI de bebés prematuros, una FI de bebés a término, una FI de bebés pequeños para la edad gestacional; una FI de bebés grandes para la edad gestacional, una FI posterior al alta, una FI inicial, una fórmula de continuación, una fórmula de crecimiento, una fórmula para niños pequeños y una fórmula de refuerzo de la leche humana.

Los productos nutricionales de la presente invención que contienen proteínas hidrolizadas pueden ser adecuados para utilizar, por ejemplo, como productos nutricionales hipoalergénicos tales como las fórmulas infantiles hipoalergénicas y/o las fórmulas nutricionales hipoalergénicas para el cuidado de la salud. También sirven para favorecer la nutrición en personas con problemas de absorción de nutrientes, como aquellas que padecen diversos tipos de enfermedades inflamatorias del intestino, enfermedad de Crohn, pacientes que sufren diarrea por hipoalbuminemia, diarrea crónica con úlceras por presión y malabsorción relacionada con el VIH/SIDA. La diarrea requiere un mayor aporte de proteínas como soporte nutricional adecuado.

Una fórmula nutricional para el cuidado de la salud se refiere a una fórmula de nutrición clínica/enteral para pacientes con malabsorción. Dicha fórmula puede ser, por ejemplo, una dieta elemental completa diseñada para el tratamiento dietético de pacientes con problemas gastrointestinales.

Como fórmula de suplemento nutricional se entiende una fórmula que se administra además de otros alimentos, para suplementar la nutrición.

El producto nutricional según la presente invención puede ser por ejemplo una composición enteral o una composición oral. En una forma de ejecución, la composición se puede formular como un producto nutricional enteral que debe ser administrado a través de una sonda de alimentación o similar, tal como una fórmula de alimentación por sonda oral.

El producto nutricional según la presente invención puede ser, por ejemplo, una fórmula infantil hipoalergénica o una fórmula nutricional hipoalergénica para el cuidado de la salud.

Por consiguiente, en varias formas de ejecución, el producto nutricional según la presente invención puede escogerse del grupo constituido por una fórmula infantil, una fórmula para niños pequeños, una fórmula de continuación, una fórmula de crecimiento, un producto nutricional enteral, un fórmula nutricional para el cuidado de la salud, una fórmula de alimentación por sonda oral, una fórmula para bebés prematuros, un reforzante de la leche humana.

El término "producto nutricional líquido terminado" se refiere a las composiciones nutricionales de la presente invención preparadas en forma líquida o, si se han preparado como formulaciones secas, a la forma reconstituida.

La proteína hidrolizada contenida en los productos nutricionales de la presente invención puede tener un grado de hidrólisis comprendido en el intervalo aproximado del 5 - 20%, por ejemplo del 8 - 15%, del 8 - 10%.

En una forma de ejecución el producto nutricional de las invenciones contiene productos de conversión de la lecitina tales como lisolecitinas y ácidos grasos libres, y esfingomielina no hidrolizada procedente de la lecitina láctea.

El producto nutricional es preferiblemente una emulsión, con mayor preferencia una emulsión de aceite en agua.

Así, en una forma de ejecución, el producto nutricional de la presente invención contiene al menos proteína hidrolizada, grasa, lisolecitina y ácidos grasos libres procedentes de la lecitina láctea.

En otra forma de ejecución, la presente invención se refiere al uso de un producto nutricional según la misma para la prevención o el tratamiento de la dermatitis atópica. A este respecto, el producto nutricional de la presente invención se puede considerar un alimento médico.

Combinación de las revelaciones

Debe tenerse en cuenta que las formas de ejecución y las características descritas en el contexto de un aspecto de la presente invención también son aplicables a los demás aspectos de la misma.

Los métodos para elaborar la composición proteica y los productos nutricionales según la presente invención, así como la composición proteica y los productos nutricionales en sí, se describen aquí mediante varios parámetros, tales como ingredientes, etc. Debe tenerse en cuenta que las formas de ejecución y las características descritas en el contexto de la composición según la presente invención también se pueden combinar con formas de ejecución y características descritas en el contexto de los productos nutricionales de la presente invención, a menos que se indique expresamente lo contrario.

Todas las menciones de patentes y no patentes aludidas en la presente solicitud, se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

La presente invención se describirá ahora con mayor detalle en los siguientes ejemplos y figuras no limitantes.

Ejemplos

Ejemplo 1- Composición nutricional preparada por hidrólisis de lotes

Materiales

Se usó tripsina de 1250 USP-U/mg y lecitasa de 10.000 UI/mg de Novozymes. El suero de leche líquido, definido como un concentrado de proteína de suero lácteo al 30-35% aproximadamente de materia seca en líquido desmineralizado parcialmente, o el concentrado de proteína de suero lácteo en polvo era de Foremost Farms, Baraboo, WI, EUA. La lactosa monohidrato en polvo era de Meggle (Alemania).

Método

En 54 kg de agua desmineralizada se disolvieron 16 kg de concentrado de proteína de suero lácteo en polvo y 11 kg de lactosa monohidrato en polvo y el pH se ajustó a 7,4 añadiendo KOH al 30% p/p.

El contenido de proteína se calculó multiplicando la concentración total de nitrógeno por el factor 6,25. Basándose en este cálculo, se necesitaron 65 g de tripsina.

Se añadió tripsina a una concentración final de 0,8 g por kg de hidrolizado de proteína.

La mezcla de proteína reconstituida se puso a 55°C y se añadieron 13 g de tripsina, manteniendo el pH de 7,4 durante al menos 30 minutos mediante la adición de KOH al 30% p/p. La mezcla prehidrolizada se trató luego térmicamente a 94°C durante 5 minutos y después se enfrió a 55°C aproximadamente. Se añadió una porción de 52 g de tripsina y en la variante B 195 mg de lecitasa, para iniciar la segunda hidrólisis. El pH se mantuvo a 7,4 durante aproximadamente 3 horas y la reacción se concluyó por inactivación térmica de los enzimas. Por último se agregaron y homogeneizaron 9 kg de maltodextrina, 13 kg de mezcla de grasas y 1,4 kg de minerales y vitaminas. La mezcla final se sometió luego a tratamiento UHT, se homogeneizó, se envasó asépticamente o se esterilizó para producir una forma líquida aséptica de la composición que es estable al almacenamiento a temperatura ambiente, o se secó por pulverización para obtener una composición en polvo.

Ejemplo 2- Comparación de las variantes de ensayo

Se prepararon cuatro variantes diferentes mediante el método descrito en el ejemplo 1.

A. Variante de referencia obtenida según el método descrito en el ejemplo 1, empleando un preparado de tripsina con actividad de fosfolipasa nativa relativamente baja.

B. La variante se preparó añadiendo 3 µg de fosfolipasa 10L (fosfolipasa A2 pancreática de Novozymes, 10.000 UI/ml) por g de tripsina, equivalentes a unos 3 mg u 11 unidades por g de tripsina, agregada a la segunda etapa de hidrólisis.

C. Variante preparada de la misma manera que A, pero con la adición de 1,2% de almidón con alto contenido de amilasa y 0,03% de carragenano kappa como estabilizantes.

D. Variante preparada de la misma manera que A, pero empleando un preparado de tripsina con una actividad de fosfolipasa nativa relativamente alta.

Variante B: se añadieron 3 µg de fosfolipasa 10L (fosfolipasa A2 pancreática de Novozymes, 10.000 UI/ml) por g de tripsina, equivalentes aproximadamente a 3 mg o 30 unidades por g de tripsina, a la segunda etapa de hidrólisis. Esto corresponde a 27 µg o 270 miliunidades por 40 mg de fosfolípidos presentes en 100 g de una fórmula final que contiene aproximadamente 1,5 g de equivalente proteico. Equivalente proteico significa proteínas, péptidos y aminoácidos. Suero de leche líquido se refiere a un concentrado de proteína de suero lácteo líquido parcialmente desmineralizado, con un 30-35% aproximadamente de materia seca.

Al contrario que en los procesos conocidos, se ha visto que un proceso según una forma de ejecución de la presente invención produce típicamente un fuerte aumento de lisolecitinas detectado por HPLC.

El grado de conversión de lecitina detectado por HPLC subió del 24% (variante A) hasta el 81% (variante B). El grado de homogeneización resultante aumentó del 75% (variante A) hasta el 92% (variante B). El grado de homogeneización se muestra en la figura 3.

Se analizaron las variantes A-D para determinar el grado de homogeneización, el valor del sedimento y el tamaño medio de partícula de grasa ponderado en volumen [4,3]; los resultados se indican en la siguiente tabla 4.

El grado de homogeneización se mide comparando la concentración de grasa en las fórmulas antes y después de la centrifugación (1600 xg, durante 15 minutos, tomando la muestra de la parte central), expresada en porcentaje. Cuanto mayor sea el valor, mejor será la calidad/estabilidad de la emulsión del producto. Este método se usa para predecir la separación de la emulsión de grasa (llamada "formación de crema") durante el almacenamiento del producto.

El valor del sedimento es representativo de las partes sólidas secas de la muestra que quedan en el fondo del tubo de centrifugación después de determinar el grado de homogeneización. En general se desea que este valor sea bajo.

La media ponderada en volumen del tamaño de partícula [4,3] se basa en la determinación del tamaño de partícula por difracción de luz láser. El tamaño de partícula basado en el volumen es igual al diámetro de la esfera que tiene el mismo volumen que una determinada partícula, lo cual equivale a $2 \cdot (3 \cdot \text{volumen (partícula)} / 4 \cdot \pi)^{1/3}$. Se supone que esta matriz de productos está relacionada principalmente con partículas/agregados de grasa.

En general, cuanto más bajos son los valores del tamaño de partícula, mayor es la estabilidad de la emulsión.

Tabla 4

	Grado de homogeneización %	Valor del sedimento %	Tamaño medio de partícula volumétrico [4,3] micrómetros (µm)	Valor pH
A	75,4	0,06	0,515 µm	6,85
B	91,5	0,03	0,310 µm	6,82
C	44,8	5,43	3,276 µm	6,90
D	86,2	0,09	0,436 µm	6,88

El grado de conversión de lecitina se muestra en la figura 4 y en la tabla 5 presentando lecitinas no hidrolizadas frente a lisolecitinas. Liso-lecitinas se refiere a uno de los productos de escisión de la lecitina con fosfolipasa A2. Para una buena estabilidad de la emulsión la conversión de lecitina nativa debe ser alta. Por tanto las concentraciones de lecitina no hidrolizada deben ser bajas y la concentración de productos de conversión de lecitina mediante fosfolipasa, como la lisolecitina, debe ser alta.

La conversión de lecitina se calcula como porcentaje de Liso-L (liso-lecitina LPE y LPC) respecto a la suma de L-nativa (lecitinas no hidrolizadas excepto SPH, suma de PI, PE, PC) y Liso-L.

Tabla 5

mg/100 g de fórmula	A	B	D
Liso-L	8	20	12
Lecitina no hidrolizada	25,8	4,8	18,3
L total	33,8	24,8	30,3
Grado de conversión de lecitina	24%	81%	40%

C no se analizó porque se espera que la composición de fosfolípidos de esta variante sea similar a la de A.

Las variantes A-D se siguieron analizando y los resultados se muestran en las figuras 1, 2 y 3.

La figura 1 muestra las variantes A – D; en las variantes A, C y D hubo una gran formación de suero y crema, mientras que la B solo presentó una ligera formación de crema.

La figura 2 muestra imágenes de microscopía de las mismas variantes A - D, siendo la B la que muestra las gotitas de grasa más pequeñas, sin ninguna agregación sustancial de las mismas, seguida de la D con algunas gotitas de grasa ligeramente más grandes, y finalmente la A y la C, que muestran gotitas de grasa más grandes con agregación parcial de las mismas.

La figura 3 representa una visión general de los valores del grado de homogeneización de los productos mostrados en la tabla 2. Para tener una emulsión aceptable es preferible que los valores de estabilidad al almacenamiento sean al menos del 75%.

Ejemplo 3 - Producto enteral - Composición nutricional preparada por hidrólisis de lotes - Producto que tiene un grado moderado de hidrólisis proteica

Se preparó una composición nutricional según un método de la presente invención, destinada a la nutrición enteral o alimentación por sonda de pacientes que no pueden ingerir ningún o suficiente alimento a causa de una enfermedad o de una disminución del apetito, dificultades para tragar o algún tipo de cirugía que interfiere con la alimentación.

Se empleó suero de leche líquido o suero lácteo en polvo disuelto en agua a 60°C para formar una solución. El pH se ajustó a 7,4 para la reacción de hidrólisis, añadiendo una solución alcalina. La temperatura de la mezcla se ajustó a 55°C aproximadamente y se añadió un 0,6% de un preparado comercial del enzima tripsina - proporción de proteasa basada en el sustrato proteico - para catalizar la hidrólisis de las proteínas en la mezcla. El pH se ajustó a 7,4 para la reacción de hidrólisis y se mantuvo durante al menos 30 minutos a este valor de pH añadiendo una solución alcalina. Al cabo de unas 4 horas se completó la reacción de hidrólisis y los enzimas se inactivaron térmicamente. Se añadió grasa, se homogeneizó y la composición hidrolizada se terminó agregando otros ingredientes tales como minerales, oligoelementos, carbohidratos y vitaminas. La mezcla final se sometió además a un tratamiento UHT, se homogeneizó, se envasó asépticamente y se esterilizó para producir una forma líquida de la composición, o se secó por pulverización.

para producir una forma en polvo de la composición.

La proporción de fosfolipasa puede incluirse en el preparado de tripsina en forma de fosfolipasa A2 pancreática nativa o agregarse antes de la adición de proteasa. Opcionalmente se puede agregar fosfolipasa en etapas posteriores del proceso, pero siempre antes de una etapa final de inactivación enzimática.

En este ejemplo la fosfolipasa formaba parte del preparado de tripsina como fosfolipasa A2 pancreática nativa.

Tabla 6 - Grado de homogeneización de las fórmulas nutricionales enterales

Fórmulas nutricionales enterales	Grado de homogeneización
Producto regular sin fosfolipasa	49%
Producto de ensayo con fosfolipasa	95%

La tabla 6 muestra el grado de homogeneización de las fórmulas nutricionales enterales según el ejemplo 3.

Ejemplo 4 - Composición nutricional preparada por hidrólisis continua - Producto con grado de hidrólisis proteica medio - bajo

Se preparó una composición nutricional fácilmente digerible según un método de la presente invención.

Se empleó suero de leche líquido o suero lácteo en polvo disuelto en agua a 60°C para formar una solución. El pH se ajustó a 7,8 para la reacción de hidrólisis, añadiendo una solución alcalina. La temperatura de la mezcla se ajustó a unos 55°C, se añadió en continuo al flujo de producto un 1% aproximadamente de un preparado enzimático microbiano comercial - proporción de proteasa basada en el sustrato proteico - y se mantuvo durante unos 10 minutos a 50 hasta 65°C aproximadamente, mientras pasaba a través de tubos de retención para hidrolizar las proteínas en la mezcla. El preparado enzimático microbiano estaba basado en subtilisina, p.ej. Alcalasa de Novozymes. Su actividad proteolítica es de 2,4 UA/g aproximadamente, en comparación con las 6,0 UA/g de la tripsina.

La reacción enzimática se terminó inactivando el enzima por tratamiento térmico. Se añadió grasa, se homogeneizó y la composición hidrolizada se terminó agregando otros ingredientes como minerales, oligoelementos, carbohidratos y vitaminas. La mezcla final se sometió además a un tratamiento UHT, se homogeneizó, se envasó asépticamente y se esterilizó para producir una forma líquida de la composición, o se secó por pulverización para producir una forma en polvo de la composición.

La cantidad de fosfolipasa puede formar parte del preparado enzimático o se puede incluir tras la adición de proteasa. Opcionalmente se puede agregar fosfolipasa en etapas posteriores del proceso, pero siempre antes de una etapa final de inactivación enzimática.

Ejemplo 5

Se prepara una composición nutricional tal como se describe en el ejemplo 1, pero realizando la hidrólisis proteica con proteasas microbianas.

Ejemplo 6

Se prepara una composición nutricional tal como se describe en el ejemplo 3, pero realizando la hidrólisis proteica con una mezcla de una endopeptidasa similar a la tripsina procedente de *Fusarium oxysporum* o de *Kutzneria albida* y una endopeptidasa similar a la quimotripsina procedente de *Nocardiosis sp.* o de *Metarhizium anisopliae*.

Ejemplo 7

Se prepara una composición nutricional tal como se describe en el ejemplo 4, pero realizando la hidrólisis proteica con una mezcla de una endopeptidasa similar a la tripsina procedente de *Fusarium oxysporum* o de *Kutzneria albida* y una endopeptidasa similar a la quimotripsina procedente de *Nocardiosis sp.* o de *Metarhizium anisopliae*.

REIVINDICACIONES

1. Un método para elaborar una composición proteica que contenga proteína hidrolizada, el cual consta de las siguientes etapas:
 - 5 a) preparar una mezcla de ingredientes que contenga al menos una proteína consistente en un concentrado o una fracción de proteína de suero de leche, y lecitina láctea, en una proporción de 20 hasta 100 mg por 100 g de la mezcla de ingredientes;
 - b) añadir al menos una fosfolipasa que sea fosfolipasa A1 y/o fosfolipasa A2, y efectuar la conversión de la lecitina láctea;
 - 10 c) realizar la hidrólisis de dicha proteína.
2. El método según la reivindicación 1, en el cual la hidrólisis proteica se realiza al mismo tiempo que la conversión de la lecitina láctea.
- 15 3. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el cual la lecitina láctea es lecitina de leche nativa.
4. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que además incluye las etapas de
 - 20 d) adición de aceite
 - e) secado
5. Una composición proteica que contiene proteína hidrolizada, obtenible mediante los métodos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 25 6. Un método para preparar un producto nutricional, que consta de las siguientes etapas
 - a) preparar la composición proteica según la reivindicación 5
 - b) añadir uno o más nutrientes.
- 30 7. Un producto nutricional obtenible por el método según la reivindicación 6.
8. El producto nutricional según la reivindicación 7, caracterizado porque los únicos emulsionantes contenidos en el producto nutricional proceden de la lecitina láctea.
- 35 9. El producto nutricional según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en que la composición es una emulsión, preferiblemente del tipo aceite-en-agua.
10. El producto nutricional según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en que la composición es de tipo enteral u oral.
- 40 11. El producto nutricional según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en que la composición es un producto nutricional hipoalergénico tal como una fórmula infantil o una fórmula nutricional hipoalergénica para el cuidado de la salud.
- 45 12. El producto nutricional según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, en el cual el grado de conversión de la lecitina es al menos del 20%.
13. Uso de la composición proteica según la reivindicación 5 en la preparación de un producto nutricional.

Figura 1

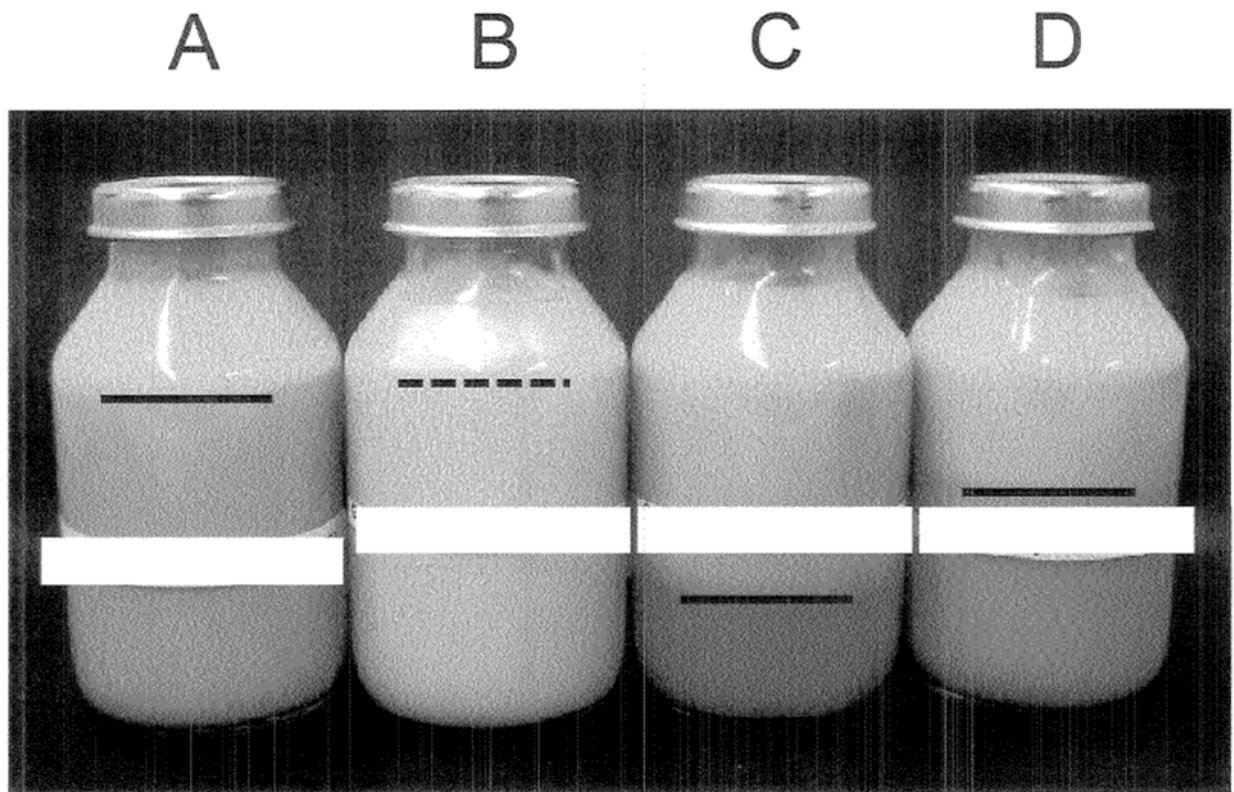


Figura 2

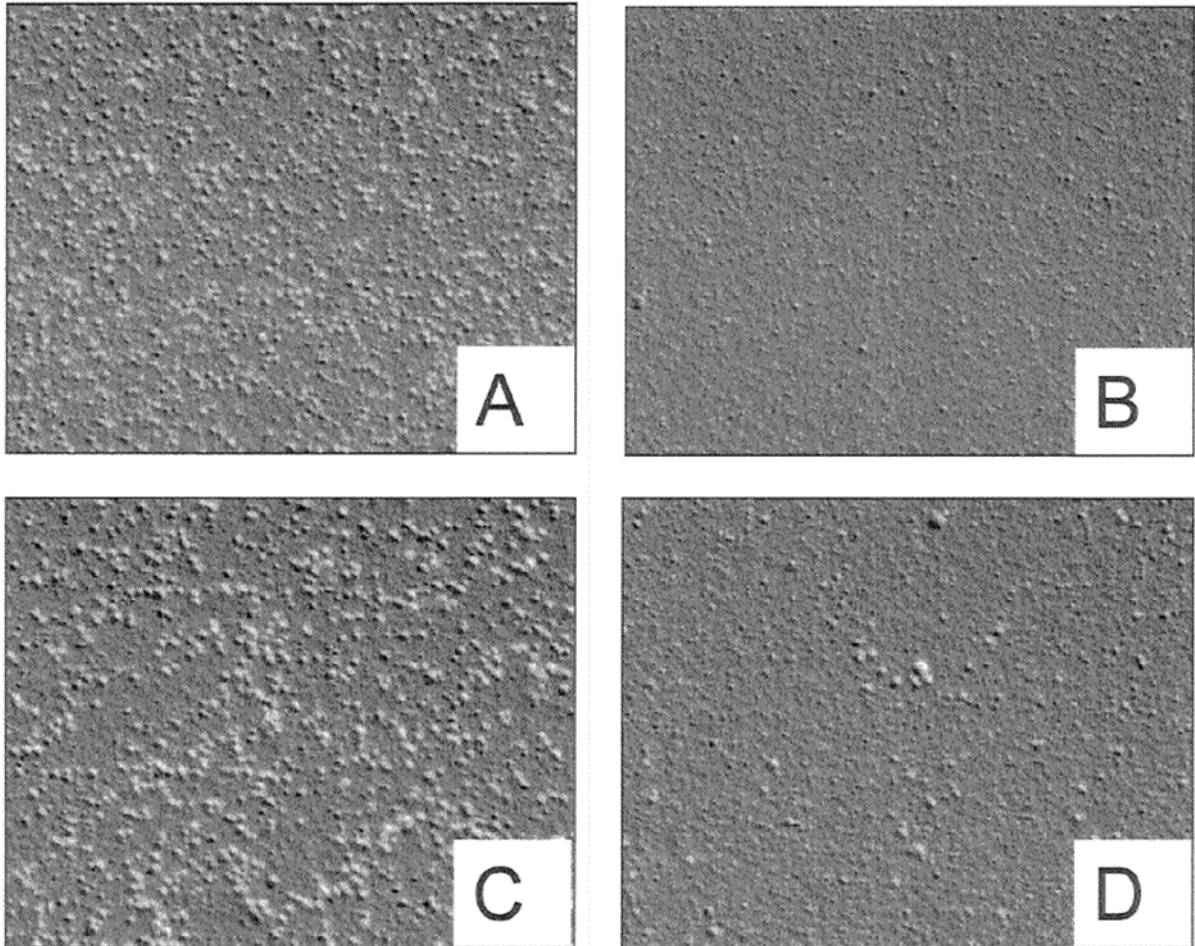


Figura 3

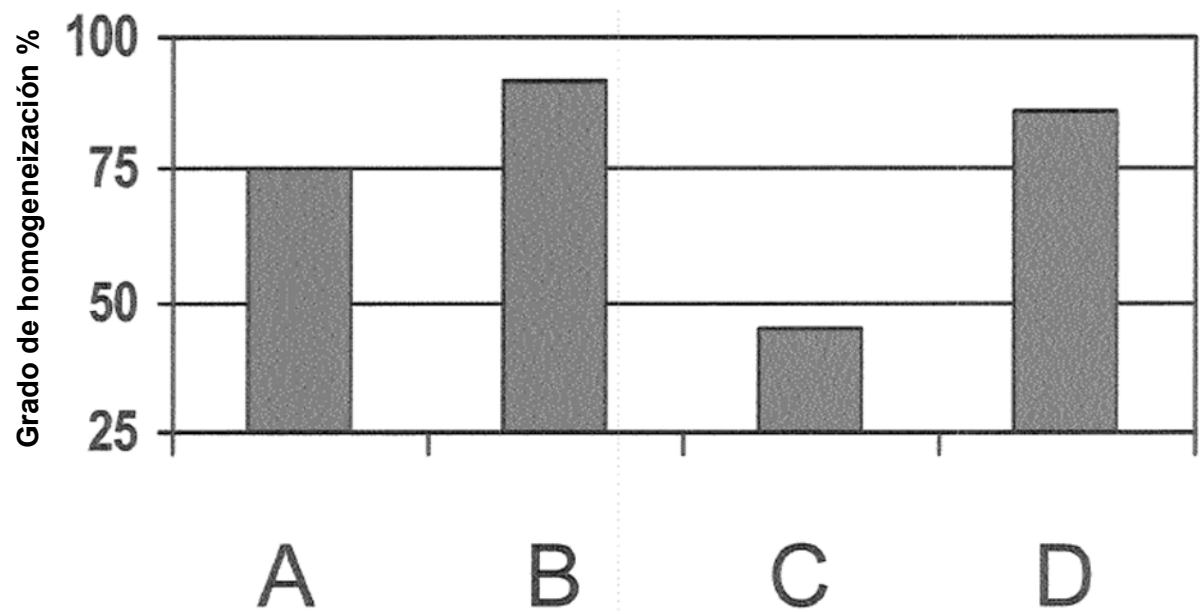


Figura 4

