

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 874 630**

51 Int. Cl.:

<b>A23C 9/13</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/6615</b>	(2006.01)
<b>A23L 2/52</b>	(2006.01)	<b>A61K 33/02</b>	(2006.01)
<b>A23L 23/10</b>	(2006.01)	<b>A61K 33/26</b>	(2006.01)
<b>A23L 33/105</b>	(2006.01)	<b>A23L 29/00</b>	(2006.01)
<b>A23L 33/16</b>	(2006.01)		
<b>A23L 33/17</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/295</b>	(2006.01)		
<b>A23L 33/165</b>	(2006.01)		
<b>A23L 33/175</b>	(2006.01)		
<b>A23C 9/152</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.09.2016 PCT/EP2016/070659**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **09.03.2017 WO17037200**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.09.2016 E 16758224 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.03.2021 EP 3344053**

54 Título: **Composición alimentaria enriquecida con hierro**

30 Prioridad:

**03.09.2015 EP 15183695**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**05.11.2021**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**GALAFFU, NICOLA;  
HABEYCH NARVAEZ, EDWIN ALBERTO;  
MERINAT, SYLVIE JOËLLE y  
REY, BRIGITTE**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 874 630 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Composición alimentaria enriquecida con hierro

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones para enriquecer alimentos y/o bebidas con hierro. Más específicamente, la presente invención se refiere a composiciones que comprenden Fe (III), ácido fítico y un compuesto amino, que proporcionan fuentes estables y solubles de hierro para enriquecer alimentos y/o bebidas.

10

## Antecedentes de la invención

Las deficiencias de minerales nutricionales (también denominadas desnutrición de micronutrientes) afectan a una gran proporción de la población humana y están particularmente extendidas en los países en desarrollo. La deficiencia de hierro es especialmente común, afecta a más de dos mil millones de personas en todo el mundo y es la única deficiencia de nutrientes que prevalece significativamente en los países industrializados. La deficiencia de hierro está asociada con una variedad de problemas de salud, que incluyen deterioro del desempeño laboral, aumento de la mortalidad materna e infantil y desarrollo cognitivo deficiente en los niños.

15

Las deficiencias de hierro se originan cuando los requisitos fisiológicos no se satisfacen mediante la absorción de minerales de la dieta, por ejemplo, debido a la baja biodisponibilidad del hierro. La biodisponibilidad del hierro en la dieta puede ser baja, por ejemplo, en poblaciones que tienen dietas monótonas a base de plantas con poca carne. De hecho, una de las principales causas de la baja biodisponibilidad del hierro está relacionada con la presencia de factores antinutricionales que están presentes de forma natural en los cereales y las legumbres. Estos factores forman complejos insolubles con el hierro e interfieren con su absorción.

20

El enriquecimiento de alimentos con hierro es un enfoque bien conocido para aumentar la ingesta de hierro en la dieta, pero puede plantear una serie de dificultades. Un problema importante es causado por la incompatibilidad general entre la biodisponibilidad y la estabilidad de los compuestos de hierro. Normalmente, los compuestos de hierro más biodisponibles son los más reactivos dentro de la matriz alimentaria. Como tal, el enriquecimiento de los alimentos con hierro puede provocar una serie de cambios indeseables en las propiedades del alimento, en particular en las propiedades organolépticas del alimento. Por ejemplo, el hierro puede acelerar las reacciones de oxidación, alterando negativamente el sabor de un alimento, y el hierro también puede formar complejos con compuestos cromóforos fenólicos, lo que provoca cambios de color no deseados en el alimento.

30

Por ejemplo, el sulfato ferroso (es decir, Fe (II)), que es un compuesto de hierro de referencia para el enriquecimiento de alimentos en humanos, provoca cambios sensoriales en el vehículo alimentario en presencia de polifenoles o grandes cantidades de lípidos. Por el contrario, las fuentes de hierro más estables, que normalmente son insolubles en agua (por ejemplo, pirofosfato férrico (es decir, Fe (III))), tienen una biodisponibilidad relativamente baja en comparación con los compuestos solubles en agua.

35

Se han adoptado varios enfoques durante los intentos de mejorar el enriquecimiento de los alimentos con hierro. Se ha considerado el sulfato ferroso encapsulado porque podría proporcionar una fuente de hierro altamente biodisponible mientras mantiene la estabilidad mediante la encapsulación de la formulación. Sin embargo, la biodisponibilidad depende en gran medida del revestimiento utilizado y, en muchos casos, se reduce la biodisponibilidad de la fuente de hierro revestido. La encapsulación también aumenta los costos de producción. Además, la mayoría de los recubrimientos utilizados para el encapsulado, que están basados en lípidos, dan lugar a problemas asociados con la fusión durante las diferentes etapas de tratamiento térmico de la fabricación de muchos productos alimenticios.

40

En enfoques alternativos se han utilizado nanopartículas que contienen hierro que se han estabilizado con biopolímeros (EP 1743530), o EDTA férrico (ácido etilendiaminotetraacético), que tiene buena biodisponibilidad y estabilidad (US 10/969,434; publicado como US 2005/0053696), para el enriquecimiento con hierro. Sin embargo, el uso de nanotecnología y EDTA en productos alimenticios está encontrando una creciente resistencia de los consumidores. Además, el EDTA de hierro y sodio es caro y no estable en todas las matrices alimentarias (por ejemplo, caldo de pollo).

45

El documento WO01/67897 describe un producto alimenticio enriquecido que comprende una cantidad enriquecida de un compuesto inorgánico preparado a partir de fuentes de hierro férrico, fosfato y amonio. El documento WO 2013/092336 describe un método para preparar una composición de comida o bebida que contiene iones de hierro. Dicha composición es útil para mejorar la estabilidad del color de un alimento o bebida. Grafe et al., J. Nutr 1192-1198 (1984) describen que los complejos de fitato de hierro férrico tienen una buena biodisponibilidad a altas proporciones de fitato a metal, independientemente del pH y que el ácido fítico no tiene un efecto sustancial sobre la absorción de Fe (III).

50

55

60

65

Por consiguiente, sigue existiendo una necesidad significativa de composiciones y métodos que permitan el enriquecimiento de alimentos y bebidas con hierro. En particular, sigue existiendo la necesidad de composiciones y métodos que proporcionen una fuente de hierro soluble, preferiblemente biodisponible, que tenga un efecto mínimo sobre las propiedades organolépticas de los alimentos.

5

#### Resumen de la invención

Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que se pueden preparar complejos solubles en agua de Fe (III) usando ácido fítico en presencia de compuestos amino. Aunque se conocen complejos de Fe (II): ácido fítico solubles en agua, los complejos de Fe (III) con ácido fítico se consideraba anteriormente altamente insoluble. De hecho, anteriormente se había evitado el uso de ácido fítico en productos alimenticios debido a su potencial para unirse a cationes multivalentes. Los complejos resultantes suelen ser insolubles en condiciones fisiológicas, con el resultado de que la digestión por parte de los humanos es difícil. En consecuencia, el ácido fítico se ha considerado tradicionalmente como antinutricional.

10

Además, los presentes inventores han descubierto que las composiciones de la presente invención pueden usarse para enriquecer alimentos y bebidas con poco efecto sobre sus propiedades organolépticas. En particular, los presentes inventores han descubierto que los alimentos y caldos que contienen frutas o verduras, que anteriormente se consideraban difíciles de enriquecer con hierro, pueden enriquecerse con las composiciones de la presente invención con un efecto mínimo sobre su color. Si bien no se desea ceñirse a la teoría, esto puede deberse a que Fe (III) presenta una mayor estabilidad que las composiciones solubles de Fe (II) que se usan comúnmente (por ejemplo, sulfato ferroso).

15

Por consiguiente, en un aspecto, la presente invención proporciona una composición para enriquecer alimentos y/o bebidas que comprende un complejo de Fe (III), ácido fítico e hidróxido de amonio, como se define en las reivindicaciones.

20

La composición de la invención puede comprender iones Fe (III) de los cuales algunos o todos están en forma de un complejo soluble en agua con parte o todo el ácido fítico.

25

La composición además comprende histidina. La combinación de aminoácidos comprendidos en la composición puede ser histidina y lisina. La combinación de aminoácidos comprendidos en la composición puede ser histidina y arginina. La combinación de aminoácidos comprendidos en la composición puede ser histidina y glicina. La combinación de aminoácidos comprendidos en la composición puede ser histidina y glutamina.

30

Las composiciones solubles en agua de la invención incluyen composiciones que son casi completamente solubles en solución acuosa, es decir, se disuelven hasta el punto de producir una solución que retiene la turbidez. En una realización, al menos el 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% en peso de la composición se disuelve en solución acuosa. Preferiblemente, la composición se disuelve completamente en solución acuosa.

35

Las proporciones molares de los componentes de la composición pueden ser cualquier proporción que proporcione una composición soluble en agua.

En una realización, la relación molar de Fe (III) respecto al ácido fítico es de aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 4:1. En otra realización, la relación molar de Fe (III) respecto al ácido fítico es de aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 2,5:1. En otra realización, la relación molar de Fe (III) respecto al ácido fítico es de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 2,4:1. En otra realización, la relación molar de Fe (III) respecto al ácido fítico es de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 2:1. En otra realización, la relación molar de Fe (III) respecto al ácido fítico es de aproximadamente 1,2:1 a aproximadamente 1,6:1. Preferiblemente, la relación molar de Fe (III) respecto al ácido fítico es aproximadamente 2:1.

40

En una realización, la relación molar del compuesto amino respecto al ácido fítico es de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 20:1. En otra realización, la relación molar del compuesto amino respecto al ácido fítico es de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 20:1. En otra realización, la relación molar del compuesto amino respecto al ácido fítico es de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 20:1. En otra realización, la relación molar del compuesto amino respecto al ácido fítico es de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 15:1. En otra realización, la relación molar del compuesto amino respecto al ácido fítico es de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 10:1. En otra realización, la relación molar del compuesto amino respecto al ácido fítico es de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 3,5:1.

45

En una realización, la relación molar del compuesto amino a Fe (III) es de aproximadamente 4:1 a aproximadamente 30:1. En otra realización, la relación molar del compuesto amino a Fe (III) es de aproximadamente 4,4:1 a aproximadamente 15:1. En otra realización, la relación molar del compuesto amino a Fe (III) es de aproximadamente 4,4:1 a aproximadamente 10:1. En otra realización, la relación molar del compuesto amino a Fe (III) es de aproximadamente 4,4:1 a aproximadamente 7,5:1.

50

- 5 En una realización, la relación molar del aminoácido al ácido fólico es de aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 15:1. En otra realización, la relación molar del aminoácido al ácido fólico es de aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 10:1. En otra realización, la relación molar del aminoácido al ácido fólico es de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 10:1. En otra realización, la relación molar del aminoácido al ácido fólico es de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 10:1. En otra realización, la relación molar del aminoácido al ácido fólico es de aproximadamente 4:1 a aproximadamente 10:1. En otra realización, la relación molar del aminoácido al ácido fólico es de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 5:1.
- 10 La relación molar entre el total del compuesto amino más el aminoácido y el ácido fólico es superior a aproximadamente 4,5:1. En otra realización, la relación molar del total del compuesto amino más el aminoácido al ácido fólico es de aproximadamente 4,5:1 a aproximadamente 25:1. En otra realización, la relación molar del total del compuesto amino más aminoácido a ácido fólico es de aproximadamente 4,5:1 a aproximadamente 20:1, por ejemplo de aproximadamente 4,5:1 a aproximadamente 15:1 o aproximadamente 4,5:1 a aproximadamente 10:1.
- 15 En otra realización, la relación molar del total del compuesto amino más el aminoácido al ácido fólico es de aproximadamente 5,5:1 a aproximadamente 25:1, por ejemplo de aproximadamente 5,5:1 a aproximadamente 20:1, de aproximadamente 5,5:1 a aproximadamente 15 :1, aproximadamente 5,5:1 a aproximadamente 10:1, aproximadamente 7:1 a aproximadamente 25:1, aproximadamente 7:1 a aproximadamente 20:1, aproximadamente 7:1 a aproximadamente 15:1 o aproximadamente 7:1 a aproximadamente 10:1.
- 20 En una realización, la relación molar del total del compuesto amino más el aminoácido respecto a Fe (III) es de aproximadamente 4,5:1 a aproximadamente 25:1. En otra realización, la relación molar del total del compuesto amino más aminoácido respecto a Fe (III) es de aproximadamente 4,5:1 a aproximadamente 15:1. En otra realización, la relación molar del total del compuesto amino más aminoácido respecto a Fe (III) es de aproximadamente 4,5:1 a aproximadamente 10:1. En otra realización, la relación molar del total del compuesto amino más aminoácido respecto a Fe (III) es de aproximadamente 4,5:1 a aproximadamente 7,5:1.
- 25 En una realización, la relación molar de ácido fólico respecto al Fe (III) puede ser de 1 a entre 0,5 y 2, y la relación molar de ácido fólico respecto al aminoácido puede ser de 1 a entre 0,5 y 2,5. En una realización adicional, la composición puede comprender glicina e histidina como aminoácidos; la relación molar de ácido fólico respecto al Fe (III) es de 1 a entre 1,5 y 2, la relación molar de ácido fólico respecto a glicina es de 1 a entre 1,5 y 2,5 glicina, la relación molar de ácido fólico respecto a histidina es de 1 a entre 0,3 y 1, y el compuesto amino es hidróxido de amonio añadido en una cantidad para ajustar el pH entre 5,5 y 6,0. Dichas composiciones son eficaces para enriquecer alimentos y/o bebidas sin un costo excesivo de ingredientes.
- 30 En una realización, la composición está en forma de una solución acuosa o un sólido soluble en agua. La composición en forma de solución acuosa puede comprender altas concentraciones del complejo y permanecer estable. Por ejemplo, la composición en forma de solución acuosa puede comprender al menos 10% en peso de complejo en solución, por ejemplo al menos 20% en peso de complejo en solución, por ejemplo al menos 30% en peso de complejo en solución,
- 35 La composición de la solución acuosa puede estar en forma de una solución madre concentrada para la adición a productos alimenticios y/o bebidas, tales como agua (por ejemplo, agua embotellada).
- 40 La composición sólida puede estar en forma de polvo o gránulos. Una composición en polvo puede estar contenida en un sobre. Puede usarse una composición en polvo de acuerdo con la presente invención para espolvorear sobre un alimento o bebida. En una realización, la composición tiene la forma de un sobre que contiene un polvo, en el que el polvo se puede dispersar en una bebida (por ejemplo, agua, zumo de frutas o leche) para proporcionar un líquido nutriente agradable para la administración oral.
- 45 En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición para enriquecer alimentos y/o bebidas, en la que la composición se prepara (por ejemplo, se puede obtener) mezclando un compuesto Fe (III), ácido fólico y un compuesto amino como se define en las reivindicaciones.
- 50 En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de la composición de la invención para enriquecer un producto alimenticio o bebida con hierro.
- 55 En una realización, el uso de las composiciones de la invención reduce el efecto del enriquecimiento con hierro sobre las propiedades organolépticas del alimento o bebida (por ejemplo, en comparación con otras composiciones de hierro, tales como sulfato ferroso o pirofosfato férrico). Por ejemplo, el uso de las composiciones de la invención puede mejorar la estabilidad del color de la comida o bebida enriquecida con hierro (por ejemplo, reducir el cambio de color de la comida o bebida como resultado del enriquecimiento con hierro con las composiciones de la invención en comparación con otras composiciones de hierro, como sulfato ferroso o pirofosfato férrico).
- 60 Se puede considerar que un cambio de color es una diferencia de color de magnitud suficiente para que un observador humano perciba la diferencia entre dos muestras mostradas una tras otra, pero no simultáneamente. Por
- 65

ejemplo, se puede considerar que un cambio de color es una diferencia de color CIELAB  $\Delta E_{ab}^*$  mayor que 2, por ejemplo, mayor que 3. En una realización, las composiciones de la invención causan una diferencia de color CIELAB  $\Delta E_{ab}^*$  menor que 7, por ejemplo, inferior de 6,5, 5, 4,5, 4, 3,5, 3, 2,5, 2 o 1,5, cuando se usa para enriquecer un producto alimenticio o bebida, tal como un producto descrito en el presente documento.

5 En otra realización, el uso de las composiciones de la invención aumenta la biodisponibilidad del hierro, en particular del Fe (III), en un alimento o bebida, por ejemplo, en comparación con otras composiciones de hierro, como el pirofosfato férrico.

10 En otro aspecto, la presente invención proporciona un producto alimenticio o bebida que ha sido enriquecido con la composición de la presente invención, por ejemplo, un producto alimenticio o bebida obtenible por enriquecimiento con la composición de la presente invención.

15 En una realización, el producto alimenticio o bebida es un yogur, caldo, agua (por ejemplo, agua embotellada), condimento, salsa, leche en polvo, bebida láctea, postre a base de leche, comida para mascotas, cereales, pasta, fideos o productos alimenticios para bebés. Preferiblemente, el producto alimenticio o bebida es un yogur, caldo o agua (por ejemplo, agua embotellada).

20 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para preparar una composición soluble en agua, como se define en las reivindicaciones.

25 En una realización, el método comprende además el paso de eliminar el agua del producto obtenido en el paso (a) o (b) para proporcionar una composición sólida. El agua puede eliminarse mediante cualquier técnica de secado estándar, como liofilización o secado por aspersión. Preferiblemente, el agua se elimina mediante liofilización.

En una realización, la fuente de Fe (III) se selecciona del grupo que consiste en sulfato de Fe (III), citrato de Fe (III), citrato de colina de Fe (III), citrato de amonio de Fe (III) y cloruro de Fe (III). Preferiblemente, la fuente de Fe (III) es sulfato de Fe (III).

30 En una realización, el paso (b) del método comprende calentar la mezcla hasta al menos 60°C. En otra realización, el paso (b) del método comprende calentar la mezcla hasta al menos 70°C. En otra realización, el paso (b) del método comprende calentar la mezcla hasta al menos 80°C.

35 Las relaciones molares de los componentes individuales mezclados en el paso (a) pueden ser como se describe en el presente documento para las composiciones de la invención.

40 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para enriquecer un producto alimenticio o bebida que comprende añadir la composición de la invención al producto alimenticio o bebida. En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición de la invención para su uso en el tratamiento de la anemia por deficiencia de hierro (ADH).

Breve descripción de los dibujos

45 La Figura 1 es un gráfico del porcentaje de bioaccesibilidad relativa frente al tiempo en minutos, como se describe en el Ejemplo 10; FeSO<sub>4</sub> ■, pirofosfato de Fe ●, Exp. 21 ○, Exp. 22 ◆ y Exp. 23 ▲.

Descripción detallada de la invención

50 Se describirán ahora varias características y realizaciones preferidas de la presente invención a modo de ejemplos no limitativos.

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de química, bioquímica, biología molecular, microbiología e inmunología, que están dentro de las capacidades de un experto en la técnica. Estas técnicas se explican en la literatura. Véase, por ejemplo, Sambrook, J., Fritsch, E.F. y Maniatis, T. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, F.M. et al. (1995 y suplementos periódicos) *Current Protocols in Molecular Biology*, Cap. 9, 13 y 16, John Wiley & Sons; Roe, B., Crabtree, J. y Kahn, A. (1996) *DNA Isolation and Sequencing: Essential Techniques*, John Wiley & Sons; Polak, J.M. y McGee, J.O'D. (1990) *In Situ Hybridization: Principles and Practice*, Oxford University Press; Gait, M.J. (1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press; Lilley, D.M. y Dahlberg, J.E. (1992) *Methods in Enzymology: DNA Structures Part A: Synthesis and Physical Analysis of DNA*, Academic Press; Damodaran, S., Parkin, K.L., Fennema, O.R. (2007) *Fennema's Food Chemistry*, 4ª edición, CRC Press; Gispert, J.R. (2008) *Coordination Chemistry*, Wiley-VCH; Crichton, R. (2001) *Inorganic Biochemistry of Iron Metabolism*, 2ª edición, Wiley; y Kaim, W., Schwederski, B., Klein, A. (2013) *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life*, 2ª edición, Wiley.

65

En un aspecto, la presente invención proporciona una composición para enriquecer alimentos y/o bebidas que comprende un complejo de Fe (III), ácido fítico y un compuesto amino como se define en las reivindicaciones.

5 Las composiciones de la invención pueden ser cualquier composición que sea adecuada para la ingestión por animales, preferiblemente humanos. Las composiciones pueden ingerirse directamente, sin embargo, preferiblemente, las composiciones de la invención se utilizan para enriquecer alimentos y/o bebidas con hierro, es decir, aumentar la cantidad de hierro biodisponible en el alimento o bebida.

10 Los productos alimenticios o bebidas a los que se puede añadir la composición de la invención incluyen cualquier producto que pueda ser enriquecido con hierro. Los productos alimenticios o bebidas de ejemplo incluyen yogur, caldo, agua (por ejemplo, agua embotellada), condimentos, salsa, leche en polvo, bebida láctea, postre a base de leche, alimento para mascotas, cereales, pasta, fideos o productos alimenticios para bebés.

15 La ingesta dietética de referencia (IDR) de hierro varía típicamente de 8 mg de hierro/persona/día para hombres adultos a 18 mg de hierro/persona/día para mujeres que menstrúan. El IDR es mucho mayor para las mujeres embarazadas, es decir, 27 mg de hierro/persona/día. Para las madres que amamantan, el IDR es de 9-10 mg de hierro/persona/día.

20 El límite superior de hierro es de 45 mg de hierro/persona/día para adultos ( $\geq 19$  años) y adolescentes (14-18 años), y 40 mg de hierro/persona/día para bebés (0-12 meses) y niños (1-13 años).

Las composiciones de la invención pueden ser útiles para lograr la IDR para el hierro durante el curso de la ingesta de un sujeto.

25 Las composiciones de la invención pueden reducir el efecto del enriquecimiento con hierro sobre las propiedades organolépticas (por ejemplo, color o sabor) del alimento o bebida en comparación con otras composiciones de enriquecimiento con hierro. Por ejemplo, el uso de las composiciones de la invención puede mejorar la estabilidad del color de la comida o bebida enriquecida con hierro (por ejemplo, reducir el cambio de color de la comida o bebida como resultado del enriquecimiento con hierro con las composiciones de la invención en comparación con otras composiciones de hierro, como sulfato ferroso o pirofosfato férrico).

35 El experto en la materia puede medir fácilmente las propiedades organolépticas de los alimentos y bebidas. Por ejemplo, el color de los alimentos se puede medir utilizando la escala de colores CIE 1976  $L^* a^* b^*$  (CIELAB) propuesta por la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE; CIE Technical Report, Colorimetry 2nd Edition, CIE 15.2 (1986, reimpresión corregida 1996)). El espacio de color CIELAB se produce trazando las cantidades  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  en coordenadas rectangulares. La coordenada  $L^*$  de un objeto es la intensidad de la luminosidad medida en una escala de 0 (negro) a 100 (blanco absoluto). Las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$  no tienen límites numéricos específicos. El parámetro  $a^*$  va del verde puro (negativo  $a^*$ ) al rojo puro (positivo  $a^*$ ), mientras que  $b^*$  va del azul puro (negativo  $b^*$ ) al amarillo puro (positivo  $b^*$ ).

40 En el espacio de color CIELAB, la diferencia de color puede calcularse como un valor único teniendo en cuenta las diferencias entre los valores  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de dos muestras. La diferencia de color  $\Delta E_{ab^*}$  se calcula de la siguiente manera:

45 
$$\Delta E_{ab^*} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

50 Las composiciones de la invención pueden usarse para evitar el cambio de color durante la vida útil de un producto alimenticio o bebida. Por ejemplo, la diferencia de color CIELAB  $\Delta E_{ab^*}$  entre un producto alimenticio enriquecido con hierro en el momento de su fabricación y el final de su vida útil en las condiciones de almacenamiento recomendadas puede ser inferior a 3, por ejemplo, inferior a 2.

55 La vida útil es el período de tiempo recomendado durante el cual se pueden almacenar alimentos, bebidas y muchos otros artículos perecederos durante el cual la calidad definida de una proporción específica de los productos sigue siendo aceptable bajo las condiciones esperadas (o especificadas) de distribución, almacenamiento y exhibición. Normalmente, se imprime una "fecha de consumo preferente" (FCP) en los alimentos perecederos envasados junto con las condiciones de almacenamiento recomendadas. Cuando se indica tal FCP, la vida útil es el tiempo entre la fabricación y el FCP. Cuando no se indique un FCP, la vida útil es el período equivalente habitual para el tipo de producto correspondiente.

60 Las composiciones de la invención pueden usarse para prevenir el cambio de color durante el tratamiento térmico de un producto alimenticio o bebida. Por ejemplo, el producto alimenticio enriquecido con hierro puede tener un valor de  $\Delta E_{ab^*}$  menor que 3, por ejemplo menor que 2, después de un tratamiento térmico de 2 minutos a 105 °C.

## Hierro

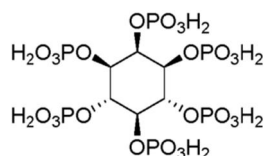
La persona experta tendrá un conocimiento detallado y completo de la química y bioquímica del hierro, y el uso del hierro en la suplementación nutricional. Brevemente, los iones Fe (III) son iones de hierro del estado de oxidación +3. También pueden denominarse iones  $Fe^{3+}$  o iones férricos. Los iones Fe (II) son iones de hierro del estado de oxidación +2. También pueden denominarse iones  $Fe^{2+}$  o iones ferrosos.

Las fuentes de Fe (III) que pueden usarse para producir los complejos o composiciones de la presente invención no están particularmente limitadas, siempre que sean adecuadas para la ingestión por animales, preferiblemente humanos (por ejemplo, no tóxicas). Las fuentes de ejemplo de Fe (III) incluyen sulfato de Fe (III), citrato de Fe (III), citrato de colina de Fe (III), citrato de amonio de Fe (III) y cloruro de Fe (III). Preferiblemente, la fuente de Fe (III) es sulfato de Fe (III).

## Ácido fítico

El ácido fítico es un compuesto de origen natural que se encuentra, por ejemplo, en cereales, legumbres, semillas y frutos secos en forma de fitatos o del propio ácido fítico. Los compuestos de ácido fítico proporcionan la principal forma de almacenamiento de fósforo en las plantas.

Como se usa en este documento, "ácido fítico" se refiere a un fosfato de mioinositol, es decir, monofosfato de mioinositol (InsP), bisfosfato de mioinositol (InsP<sub>2</sub>), trifosfato de mioinositol (InsP<sub>3</sub>), tetraquisfosfato de mioinositol (InsP<sub>4</sub>), pentaquisfosfato de mioinositol (InsP<sub>5</sub>) o hexakisfosfato de mioinositol (InsP<sub>6</sub>). Preferiblemente, el ácido fítico es hexakisfosfato de mioinositol. El hexakisfosfato de mioinositol tiene la estructura:



Ventajosamente, el ácido fítico puede considerarse un ingrediente natural para suministrar hierro altamente biodisponible, porque puede obtenerse fácilmente de fuentes naturales. Por ejemplo, las fuentes de ácido fítico incluyen cereales (por ejemplo, trigo, maíz, avena, cebada, sorgo, mijo, arroz y salvado), alubias (por ejemplo, guisantes, lentejas, alubia blanca y soja), tubérculos (por ejemplo, patata, ñame, boniato y remolacha azucarera), frutas (p. ej., plátano, dátiles, fresa y aguacate), verduras de hoja (p. ej., espinacas, col lombarda, quimbombó, coliflor, zanahorias y tomate), frutos secos (p. ej., avellanas, nueces, almendras y anacardos) y otros alimentos como coco, sésamo e semillas y cilantro.

## Compuesto amino

Como se usa en este documento, "compuesto amino" se refiere a un compuesto que comprende un grupo funcional amina, es decir, un átomo de nitrógeno unido por enlaces simples a átomos de hidrógeno, grupos alquilo y/o grupos arilo.

El compuesto amino es hidróxido de amonio.

## Método de preparación

En un aspecto, la presente invención proporciona un método para preparar una composición soluble en agua, como se define en las reivindicaciones.

Después de la combinación de todos los componentes en el paso (a), puede ser necesario continuar mezclando hasta que la composición se disuelva. Por ejemplo, puede ser necesario continuar mezclando durante al menos 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 o 48 horas. El tiempo que tarda la composición en disolverse puede reducirse calentando la mezcla, por ejemplo, hasta al menos 50 °C, 60 °C, 70 °C u 80 °C.

A modo de ejemplo, el método puede comprender añadir la fuente de Fe (III) (por ejemplo, sulfato de Fe (III)) a una solución acuosa de ácido fítico con agitación. Normalmente, el fitato de Fe (III) precipitará en un período de tiempo corto. El compuesto amino y opcionalmente el aminoácido se pueden añadir a la solución en las cantidades necesarias para proporcionar la proporción deseada de componentes. A continuación, la composición se puede agitar hasta que los componentes se hayan disueltos.

## Productos alimenticios y bebidas

Las composiciones de la invención son adecuadas para enriquecer productos alimenticios y/o bebidas. Además, la invención también incluye productos alimenticios o bebidas que han sido enriquecidos con las composiciones de la presente invención.

Se puede enriquecer una amplia gama de productos alimenticios o bebidas con hierro usando las composiciones de la invención y a continuación se describe una gama de ejemplos no limitantes.

5 Los productos alimenticios o bebidas pueden ser, por ejemplo, productos seleccionados de yogur, caldo, agua (por ejemplo, agua embotellada), condimentos, salsa, leche en polvo, bebida láctea, postre a base de leche, comida para mascotas, cereales, pasta, fideos o productos alimenticios para bebés.

10 Las bebidas son líquidos que se consumen para refrescarse o nutrirse e incluyen bebidas alcohólicas y no alcohólicas, bebidas carbonatadas, jugos de frutas o verduras y bebidas calientes, como café o té.

15 Las composiciones o productos alimenticios o bebidas de la presente invención pueden contener (por ejemplo, pueden haber sido suplementados con) vitaminas, minerales y micronutrientes adicionales, incluidos oligoelementos, de acuerdo con las recomendaciones (por ejemplo, pautas de ingesta diaria recomendada) del gobierno.

#### Productos de frutas

20 Los productos alimenticios o bebidas pueden comprender fruta o un componente de la misma. Por ejemplo, los productos pueden comprender zumos de frutas como, entre otros, zumos derivados de naranja, manzana, mango, melocotón, plátano, dátil, albaricoque, uva, papaya, piña, frambuesa, fresa, pera, mandarina y/o cereza.

Los productos alimenticios o bebidas pueden ser, por ejemplo, zumos de frutas o pueden estar en forma de puré de frutas que comprende zumo de frutas entre otros componentes de frutas.

25 Los productos alimenticios o bebidas pueden comprender fruta o un componente de la misma.

30 El problema del cambio de color cuando se enriquecen los alimentos con hierro es particularmente evidente con las composiciones alimenticias que contienen frutas. El color de muchas frutas se deriva de los compuestos cromóforos fenólicos y, por lo tanto, la adición de hierro conduce a un desplazamiento bathocrómico en el color de los compuestos cromóforos fenólicos que resulta en un cambio indeseable en el color del alimento.

35 Las frutas son la estructura carnosa asociada a semillas de una planta que son dulces y comestibles en estado crudo, como manzanas, naranjas, uvas, fresas y plátanos. Las frutas se comen a menudo como postres en las culturas europeas. El término fruta en la especificación actual incluye frutas sin semillas, como uvas sin semillas y variedades comunes de plátanos.

40 La fruta puede seleccionarse, por ejemplo, del grupo que consiste en grosella negra, arándano, baya del saúco, grosella roja, mora, uva, cereza, naranja, limón, lima, mandarina, clementina, pomelo, piña, mango, papaya, maracuyá, kiwi, guayaba, higo, dátil, manzana, ciruela, fresa, frambuesa, arándano, mora, albaricoque, pera, plátano, membrillo, baya de goji y mezclas de los mismos.

La fruta puede estar, por ejemplo, en forma de fruta fresca, trozos de fruta fresca, fruta en polvo, fruta seca o puré de fruta.

45 La fruta proporciona intrínsecamente una buena fuente de nutrientes dietéticos beneficiosos y, por lo tanto, es una buena base para proporcionar beneficios nutricionales adicionales a los alimentos. Por tanto, existe la necesidad de proporcionar composiciones alimenticias reforzadas con hierro que contengan frutas que no presenten cambios de color indeseables.

#### 50 Yogur

Los productos alimenticios o bebidas de la invención pueden ser yogures o comprender yogures.

55 En el contexto de la presente invención, el término "yogur" se refiere a un alimento que no es una bebida producida a partir de la acidificación de la leche. La acidificación se logra mediante la adición de un ácido, como jugo de limón o vinagre; por fermentación bacteriana; o por una combinación conjunta de adición de ácido y fermentación bacteriana. El término "yogur" puede incluir, pero no se limita a, materiales que cumplan con las regulaciones locales de etiquetado de alimentos con respecto al término "yogur".

60 El yogur es una buena fuente de calcio, que ayuda a formar y mantener los huesos fuertes. El yogur también se puede enriquecer con otros minerales beneficiosos como magnesio y zinc. Sin embargo, el enriquecimiento del yogur con hierro presenta un problema si el yogur contiene compuestos cromóforos fenólicos, como los que se encuentran en los yogures que contienen fruta.

65 Por ejemplo, un yogur de arándanos, coloreado por las antocianinas de los arándanos, cambiará de color después de la adición de hierro; las antocianinas experimentan un desplazamiento bathocrómico. De manera similar, un

yogur de plátano, que inicialmente tenía un color amarillo pálido, puede desarrollar un color azul grisáceo poco atractivo al agregarle hierro. Los plátanos comprenden polifenoles como ácido gálico, catequina, epicatequina y epigallocatequina.

- 5 La presente invención proporciona productos alimenticios o bebidas enriquecidos con hierro que comprenden yogur en los que no se producen estos problemas de cambio de color.

#### Caldo

- 10 Los productos alimenticios o bebidas de la invención pueden ser caldos.

Los caldos se utilizan comúnmente como aromatizantes durante la cocción. Pueden prepararse calentando (por ejemplo, a fuego lento) ingredientes como carne y/o huesos (por ejemplo, de ternera o aves), verduras y/o hierbas en agua. Los caldos se consideran particularmente difíciles de enriquecer con hierro sin afectar sus propiedades organolépticas.

- 15 Los caldos pueden estar en forma de caldos deshidratados, por ejemplo caldos en cubos o caldos granulados. Estos productos se usan comúnmente para agregar sabor durante la cocción.

- 20 Otros productos

Los productos alimenticios o bebidas de la invención pueden ser productos de galletas, pasteles o pastelería; una barra de cereal; cereales, como cereales para el desayuno; un producto de helado; un postre; una comida preparada; un suplemento nutricional o un producto alimenticio para mascotas.

- 25 Todos estos productos pueden presentar problemas de cambio de color cuando se enriquecen con hierro. Por ejemplo, los productos de galletas, pasteles y pastelería pueden colorearse con colores naturales como antocianinas o carmin; los productos pueden tener rellenos o revestimientos de colores. Los cereales para el desayuno pueden contener frutas, por ejemplo, inclusiones de frutas o rellenos de frutas. Las barras de cereales pueden contener frutas de colores, como arándanos, o inclusiones de colores que contienen vitaminas y minerales añadidos, como pequeños trozos de gelatina masticables. Los helados y postres pueden estar coloreados por antocianinas, particularmente cuando tienen sabor a frutas. Las comidas preparadas y los suplementos nutricionales pueden contener frutas o verduras, por ejemplo, en forma de polvo vegetal, o pueden colorearse mediante la adición de colores naturales para hacerlas más atractivas. Los alimentos para mascotas, como las golosinas para perros, pueden contener frutas, por ejemplo, bayas. Todos estos productos pueden ser sensibles al cambio de color con la adición de hierro, que puede reducirse o eliminarse utilizando las composiciones de la invención.

#### Composición nutricional terapéutica

- 40 Los productos alimenticios o bebidas de la invención pueden estar en forma de una composición nutricional terapéutica. La composición puede ser una fórmula nutricional completa, que incluye, por ejemplo, una fuente de proteínas, carbohidratos y grasas.

#### Ejemplos

- 45 Materiales y métodos

El fitato de dodecasodio se obtuvo de A & Z Food Additives CO., LTD (China); se obtuvo una solución de ácido fítico al 50% de Tsuno Rice Inc .; el sulfato férrico al 80% se obtuvo de Dr. P. Lohmann GmbH KG; el monohidrato de lisina se obtuvo de Evonik Industries AG; la arginina y la histidina se obtuvieron de Kyowa Hakko Europe GmbH; el HCl al 37% se obtuvo de Merck; el hidróxido de amonio al 26% y glicina se obtuvieron de Sigma Aldrich.

#### Solución de ácido fítico

- 55 En una preparación típica, se disolvió fitato de dodecasodio (18 g, 19,5 mmol) en 300 g de agua MilliQ y HCl al 37% (11,6 g, 0,11 mol) para dar un pH final de 1,6 unidades y una concentración del 3,9% en peso de ácido fítico.

#### Sulfato férrico

- 60 Se disolvió sulfato férrico puro al 80% (3,34 g, 8 mmol) en una botella de vidrio de 500 ml en 100 g de agua MilliQ para dar una concentración del 5% en peso de sulfato férrico.

## ES 2 874 630 T3

### Soluciones de aminoácidos

Los aminoácidos se disolvieron en botellas de vidrio de 500 ml como se describe en la Tabla 1.

Tabla 1

Aminoácidos	Proveedor	Cantidad (g)	Cantidad (mmol)	Cantidad de agua (g)	Concentración (% en peso)
Lisina monohidrato (PM 164,2)	Evonik	64,3	400	100	40%
Arginina (PM 174,2)	Kyowa Hakko Europe GmbH	75,1	430	500	13%
Histidina (MW 155,15)	Kyowa Hakko Europe GmbH	75,8	488	2000	3,65%

#### 5 Solución de hidróxido de amonio

Se diluyó hidróxido de amonio al 26% (500 ml) con 500 ml de agua MilliQ en una botella de vidrio de 1 l para dar una concentración del 13% en peso.

Tabla 2

Exp Nº	Solución de ácido fólico (PA)			Solución de sulfato férrico			Solución de aminoácidos (AA)			Solución de hidróxido de amonio		Complejo Conc. (%)		
	Conc. (%)	Cantidad (g)	Cantidad (mmol)	Proporción respecto a PA	Conc. (%)	Cantidad (g)	Cantidad Fe <sup>2+</sup> (mmol)	AA	Proporción respecto a PA	Cantidad (g)	Cantidad (mmol)		Proporción respecto a PA	Cantidad (g)
1	4,0	45	2,75	0,5	2,6	10	1,3	-	-	-	-	2,3	1,7	4,0
2	4,0	45	2,75	0,5	2,6	10	1,3	Arg	4,2	15,5	11,5	-	-	5,8
3	4,0	45	2,75	0,5	2,6	10	1,3	Lys	5	5	13,5	-	-	6,8
4	4,0	45	2,75	0,5	2,6	10	1,3	Hls	14,2	150,5	39	-	-	3,7
5	3,9	67,2	4	1	5,2	15	3,9	-	-	-	-	7,4	7,9	4,9
6	3,9	67,2	4	1	5,2	15	3,9	Arg	12	64	47	-	-	8,0
7	3,9	67,2	4	1	5,2	15	3,9	Arg	6	32	23,5	4	4,15	6,8
8	3,9	67,2	4	1	5,2	15	3,9	Lys	12	20	48	-	-	11,2
9	3,9	160	9,4	1	5	37,5	9,4	Hls	1	40	9,4	3,5	9	4,4
10	3,9	160	9,4	1	5	37,5	9,4	Hls	2	80	18,8	3,5	9	3,9
11	3,9	160	9,4	1	5	37,5	9,4	-	4	160	37,6	3,4	8,5	4,1
12	3,9	160	9,4	0,75	5	28,0	7,05	-	-	-	-	3,3	8,1	4,0

Tabla 3

Exp. Nº	Ácido nítrico (P.A)		Hierro				Ammonios				hidróxido de amonio		
	[P.A]	Cantidad (g)	Cantidad (mmol)	Proporción respecto a P.A	[Estándar mmol]	Cantidad soluble (g)	Cantidad Fe <sup>3+</sup> (mmol)	Tipo	Proporción molar respecto a P.A	Cantidad soluble (g)	Cantidad (mmol)	Proporción respecto a P.A	Cantidad de soluble (g)
13	3,9%	160g	9,4	1	5%	37,5g	9,4	Hidrolita	0,5	20 g	4,7	3,5	9g
14	3,9%	160g	9,4	1	5%	37,5g	9,4	Hidrolita	1	40 g	9,4	3,5	9g
15	3,9%	160g	9,4	1	5%	37,5g	9,4	Hidrolita	2	80 g	18,8	3,5	9g
16	3,9%	160g	9,4	1	5%	37,5g	9,4	Hidrolita	4	160 g	37,6	3,5	8,5g

Los ejemplos sin histidina como aminoácido no están de acuerdo con la invención reivindicada.

Ejemplo 1 - Fe: ácido fítico: complejo de aminoácidos

5 La solución de sulfato férrico se añadió gota a gota a la solución de ácido fítico a pH 1,6 en una botella de vidrio de 500 ml. La solución se volvió turbia y se observó un precipitado blanco después de unos segundos tras la adición. A continuación, se añadieron las soluciones de aminoácidos y/o hidróxido de amonio a esta solución lechosa usando las cantidades indicadas en la Tabla 2 hasta que se alcanzó un pH final de  $7 \pm 1$ . Después de agitar entre 24 y 48 h, la solución se volvió transparente y el producto se liofilizó para proporcionar un polvo amarillo claro/blanco.

10

Ejemplo 2 - Fe: ácido fítico: complejo de aminoácidos con calentamiento

15 La solución de sulfato férrico se añadió gota a gota a la solución de ácido fítico a pH 1,6 en una botella de vidrio de 500 ml. La solución se volvió turbia y se observó un precipitado blanco después de unos segundos tras la adición. A continuación, se añadieron las soluciones de aminoácidos y/o hidróxido de amonio a esta solución lechosa usando las cantidades indicadas en la Tabla 3 hasta que se alcanzó el pH final de  $7 \pm 1$ .

20 A continuación, se colocó la botella en un baño de agua a diferentes temperaturas de 60, 70 y 80 °C para acelerar la disolución. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

El nivel de hierro en el Exp. 13 era demasiado alto para ser soluble con una relación molar de aminoácido a ácido fítico de 0,5, pero a una cantidad relativa más baja de hierro, esta relación molar de aminoácido a ácido fítico es soluble (ver Exp. 20 en el ejemplo 8).

25 Tabla 4 - Tiempo de disolución versus temperatura

Exp. nº	Temperatura ambiente a las 24 h	A	B	C
		60 °C	70 °C	80 °C
13	No soluble	No soluble	No soluble	No soluble
14	No soluble	8 horas	8 horas	NA
15	No soluble	4 horas	4 horas	3 horas
16	No soluble	2 horas	2 horas	1 hora

Ejemplo 3 - Fe: ácido fítico: complejo de aminoácido con diferentes proporciones de Fe

30 Se solubilizó sulfato férrico puro al 80% en 50 ml de agua MilliQ en una botella de vidrio de 500 ml (en las cantidades variables que se muestran en la Tabla 5) y se añadió gota a gota a una solución de ácido fítico al 4,5% a pH 2,1 (100 ml, 6,8 mmol).

35 Se añadió luego histidina (8,42 g, 54 mmol) gota a gota en combinación con hidróxido de amonio al 13% (20-30 ml) hasta que se alcanzó un pH final de 7-7,5. La solución se agitó durante 24 a 48 horas. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5

Exp. nº	17	18	19	20
Relación de Fe: ácido fítico	1,2	1,6	2,0	2,4
Cantidad de sulfato férrico (g/50 mL de agua MilliQ)	2	2,7	3,4	4
Cantidad de Fe <sup>3+</sup> (mmol)	8	11	13,5	16
Contenido final de Fe (%)	2,3	3,1	3,9	4,6
Resultados después de 24-48 h a temperatura ambiente	Soluble	Soluble	Parcialmente soluble	Parcialmente soluble

40

Ejemplo 4 - Aumento del porcentaje de contenido sólido total en el complejo de la preparación

45 En una botella de vidrio de 200 ml, se añadió sulfato férrico (9,4 g) a la solución de ácido fítico con agitación mecánica. La solución se volvió turbia y se observó un precipitado blanco después de unos segundos. A continuación, se añadió el aminoácido a la suspensión y la solución se agitó durante 2 h más a temperatura ambiente. Después de este período, se añadió una solución de hidróxido de amonio al 26% hasta que se alcanzó un pH final de 7-8. La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 24-48 h hasta que se volvió transparente.

Fuente de ácido fólico	Cantidad utilizada	Aminoácido	% sólido total final
Ácido fólico 50% en peso	50 g	Lisina 5,5 g	61,5
		Arginina 6,6 g	62,1
		Glicina 2,8 g	59,9
Fitato de sodio 35% en HCl 1 M	100 g	Lisina 5,5 g	28,2
		Arginina 6,6 g	28,9
		Glicina 2,8 g	26,5

Ejemplo 5 - Cambio de color en yogur de fresa y plátano enriquecido con hierro

5 El yogur comercial de fresa/plátano Nestle Jogolino™ que contiene un 15% de puré de plátano y un 10% de puré de fresa se enriqueció con hierro mediante la adición de diferentes ingredientes de hierro como se indica en la Tabla 6. Las cantidades se eligieron para proporcionar aproximadamente 0,8 mg de hierro por 100 g de yogur. Paralelamente, el yogur también se enriqueció con los complejos de Fe solubles descritos anteriormente. Cada ingrediente de hierro se añadió al yogur y se agitó bajo argón durante 20 minutos. También se preparó otra muestra sin enriquecimiento con hierro de la misma manera. Todas las muestras fueron tratadas térmicamente a 105 °C durante 2 minutos y las mediciones de color se llevaron a cabo después de que las muestras volvieron a temperatura ambiente.

Tabla 6 - Preparación de Jogolino enriquecido

Ensayo	ingrediente de Fe	Fe %	Cantidad utilizada (mg)/140 g de yogur
Blanco	-	-	-
A	Pirofosfato férrico	21	5,3
B	Exp. nº 2	1,36	82,4
C	Exp. nº 3	1,43	78,3
D	Exp. nº 4	0,72	155,6
E	Exp. nº 10	3,29	34,0
F	Exp. nº 11	2,70	41,5

15 Se realizaron mediciones de color en cubetas de poliestireno de 131 cm usando un colorímetro XRite ColorEye 7000A. El colorímetro se configuró con una fuente de luz D65, ángulo de observación de 10 grados y componente especular incluido. La diferencia de color entre la bebida sin hierro y con las bebidas fortificadas con hierro se midió y expresó como  $\Delta E_{ab}^*$  utilizando la escala de colores CIELAB (Tabla 7).

20

Tabla 7 - Resultados sobre la estabilidad del color de Jogolino

Ensayo	ingrediente de Fe	$\Delta E_{ab}^*$
A	Pirofosfato férrico	1,91
B	Exp. nº 2	1,28
C	Exp. nº 3	1,62
D	Exp. nº 4	1,56
E	Exp. nº 10	2,48
F	Exp. nº 11	1,27

Ejemplo 6: cambio de color en el caldo de pollo Maggi enriquecido con hierro

25 El caldo de pollo comercial Maggi que contiene curcumina se enriqueció con hierro mediante la adición de diferentes ingredientes de hierro como se indica en la Tabla 8. Las cantidades se eligieron para proporcionar aproximadamente 5,5 mg de hierro por 6,55 g de caldo en polvo. Paralelamente, el caldo también se enriqueció con los complejos de Fe solubles descritos anteriormente. Otra muestra sin enriquecimiento con hierro también se preparó de la misma manera. Todas las muestras se reconstituyeron en 250 mL de agua hirviendo y se mantuvieron a 60 °C durante un mínimo de 30 minutos.

30

Tabla 8 - Preparación de cubos de caldo enriquecidos

Ensayo	Ingrediente de Fe	% Fe	Cantidad usada (mg)/6,55 g de caldo
Blanco	-	-	-
A	Sulfato ferroso	20,0	27,5
B	Pirofosfato férrico	21,0	26,2
C	Exp. nº 2	1,36	404,5
D	Exp. nº 3	1,43	384,75

(continuación)

E	Exp. nº 4	0,72	764,2
F	Exp. nº 10	3,29	167,2
G	Exp. nº 11	2,70	203,8
H	Exp. nº. 12	2,00	271,0
I	Exp. nº. 14B	0,91	603,3
J	Exp. nº. 14C	0,91	603,3
K	Exp. nº 15A	0,785	700,9
L	Exp. nº 15C	0,785	700,9
M	Exp. nº 16C	0,645	854,3

5 Se realizaron mediciones de color en cubetas de cuarzo de 2,6 x 1 cm usando un colorímetro XRite ColorEye 7000A. El colorímetro se configuró con una fuente de luz D65, ángulo de observación de 10 grados, componente especular incluido y Vista de área grande (LAV). La diferencia de color entre la bebida sin sales de hierro y las bebidas fortificadas con hierro se midió para cada sal ferrosa y se expresó como  $\Delta E_{ab}$  \* utilizando la escala de colores CIELAB (Tabla 9).

Tabla 9 - Resultados sobre la estabilidad del caldo de pollo Maggi

Ensayo	Ingrediente de Fe	$\Delta E_{ab}$ *
A	Sulfato ferroso	11,5
B	Pirofosfato férrico	6,4
C	Exp. nº 2	5,2
D	Exp. nº 3	4,4
E	Exp. nº 4	3,5
F	Exp. nº. 10	5,8
G	Exp. nº 11	4,5
H	Exp. nº 12	6,2
I	Exp. nº 14B	5,5
J	Exp. nº 14C	4,1
K	Exp. nº 15A	4,8
L	Exp. nº 15C	5,6
M	Exp. nº 16C	6,3

10

## Ejemplo 7 - Enriquecimiento del agua

15 El agua procesada enriquecida con 20-30 ppm de sodio y potasio (600 ml) se enriqueció con hierro mediante la adición de diferentes ingredientes de hierro como se indica en la Tabla 10. Las cantidades se eligieron para proporcionar aproximadamente 2,1 mg de hierro por litro de agua. El agua se almacenó en un horno a 40 °C durante 18 semanas. El contenido de hierro se midió para cada muestra mediante ICP-AES.

Tabla 10

Ensayo	Enriquecedor	Semana 1	Semana 18
A	FeSO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O	0 (Precipitado)	0 (Precipitado)
B	Exp. nº 18	1,95	2,01

20

Mientras que el sulfato ferroso precipita casi instantáneamente, el complejo de hierro soluble permaneció en solución durante hasta 18 semanas sin dar ningún signo de descomposición o precipitación.

## Ejemplo 8 - Fe: complejos de ácido fítico con hidróxido de amonio y diferentes aminoácidos

25 En una botella de vidrio de 250 ml, se solubilizó sulfato férrico puro al 80% en 25 ml de agua MilliQ (ver tabla) y se añadió gota a gota a una solución al 50% de ácido fítico a pH 2,1 (12 g, 9 mmol) previamente diluido en 15 ml de agua desionizada.

Exp.	20	21	22	23
Proporción de PA:Fe:AA	1:0,5:0,5	1:1:2	1:1:2	1:1,7:2,5
Fe Cantidad en g/25 mL MilliQ	1,9	3,78	3,78	6,78
Histidina (g)	1,2	2,4	2,4	1,2
Glicina (g)			1,1	2,3
Glutamina (g)		4,4		
Resultados después del tratamiento térmico	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
Contenido de Fe	2,1%	3,5%	3,6%	5,9%

Después de que se añadieran los aminoácidos (como en la tabla), las botellas se agitaron durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación continua. El pH se ajustó a 5,5 con una solución al 26% de hidróxido de amonio. La temperatura se elevó a 65 °C durante 35 minutos.

5 Ejemplo 9: Producción de grandes cantidades secadas por pulverización con maltodextrina

Exp 24	Ácido fítico	Sulfato Férrico	Histidina	Glicina	Maltodextrina
	g	g	g	g	g
	1000	189	117,6	113,8	400

10 Se añadió ácido fítico (1000 g) a un reactor de 5 L y se diluyó con agua desmineralizada (1 L) y se enfrió a 0 °C. Se disolvió sulfato férrico en agua desmineralizada fría (1 L) y se añadió mientras se agitaba con una bomba peristáltica durante 1 h. Se añadieron histidina y glicina y la mezcla se agitó durante 1 h. El pH se ajustó a pH 5,5 con NH<sub>4</sub>OH al 26%. Después de este período, la temperatura se aumentó a 15 °C y se añadió maltodextrina DE21. La mezcla se pasteurizó a 65 °C durante 35 minutos y se secó por pulverización directamente usando condiciones comunes. El contenido de Fe se determinó mediante ICP-AES para proporcionar un contenido de hierro del 2,6%.

15 Ejemplo 10 - Ensayos de bioaccesibilidad in vitro

Las pruebas de bioaccesibilidad se realizaron en una versión modificada del modelo de digestión propuesto por Forbes et al. (Comparison of in vitro, animal, and clinical determinations of iron bioavailability: International Nutritional Anemia Consultative Group Task Force report on iron bioavailability, Am J Clin Nutr 1989; 49: 225-38.)

20 Las muestras se mantuvieron a pH 1,7 durante los 6 minutos iniciales para simular la digestión del estómago y luego a pH 7 para simular el tracto intestinal.

25 Los compuestos de hierro se pesaron como se describe en la tabla siguiente.

Nombre de la muestra	% Fe	Cantidad de sal (mg)
Sulfato ferroso	20%	100
Pirofosfato férrico	21%	95
Exp 21	3,5%	571
Exp 22	3,6%	769
Exp 23	5,9%	339

30 Cada sal se disolvió en HCl 0,02 M caliente a 37 °C (250 ml) en un matraz cónico de 500 ml y 250 ml. Estos matraces se agitaron suavemente en un lote de agua a 37°C durante 180 min. Se tomaron muestras (2 mL) a los 0, 15, 30, 60 y 90 minutos. Después de esto, el pH se ajustó a 7 añadiendo unas gotas de hidróxido de amonio al 13%. Se tomaron muestras a los 100 y 120 minutos. Todas las muestras se diluyeron a 15 ml en un tubo de ensayo con HNO<sub>3</sub> 1 M. El contenido de Fe se midió mediante espectroscopía de emisión atómica y la bioaccesibilidad relativa se calculó sobre la base de la ceniza de sulfato ferroso que se muestra en la Figura 1.

35 De la figura 1, el FeSO<sub>4</sub> es fácilmente soluble a pH ácido pero la precipitación se produce a pH neutro. FePP no es soluble en ninguno de los dos niveles de pH. La solubilidad de los complejos de aminoácidos PA:Fe no se ven alterados por la variación del pH. Como la solubilidad es un factor significativo en la biodisponibilidad, esto indica una mejor disponibilidad potencial para los complejos de aminoácidos PA: Fe que para FeSO<sub>4</sub> y FePP.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición para enriquecer alimentos y/o bebidas que comprende un complejo de Fe (III), ácido fólico y un compuesto amino, donde el aminoácido que está comprendido en la composición es histidina y donde la relación molar del total del compuesto de amino más aminoácido respecto al ácido fólico es mayor de aproximadamente 4,5:1, y en el que el compuesto de amino es hidróxido de amonio.
2. La composición de la reivindicación 1, en la que:
- 10 (a) la relación molar de Fe (III) respecto al ácido fólico es de aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 4:1; y/o  
(b) la relación molar del compuesto amino respecto al ácido fólico es de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 20:1.
- 15 3. La composición de cualquier reivindicación anterior que está en forma de una solución acuosa o un sólido soluble en agua.
4. Una composición para enriquecer alimentos y/o bebidas, donde la composición se puede obtener mezclando un compuesto Fe (III), ácido fólico y un compuesto amino, donde el aminoácido que está comprendido en la composición es histidina y donde la relación molar del total del compuesto amino más el aminoácido hasta el ácido fólico es mayor de aproximadamente 4,5:1, y en el que el compuesto amino es hidróxido de amonio.
- 20 5. El uso de la composición de cualquier reivindicación anterior para enriquecer un producto alimenticio o bebida con hierro.
- 25 6. Un producto alimenticio o bebida que se puede obtener mediante el enriquecimiento con la composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, preferiblemente en el que el producto alimenticio o bebida es un yogur, caldo, agua, condimento, salsa, leche en polvo, bebida láctea, postre a base de leche, alimentos para mascotas, cereales, pastas, fideos o productos alimenticios para bebés.
- 30 7. Un método para preparar una composición soluble en agua, en el que el método comprende los pasos:
- (a) mezclar en una solución acuosa una fuente de Fe (III), ácido fólico, un compuesto amino e histidina; y  
(b) calentar la mezcla,
- 35 en la que el compuesto amino es hidróxido de amonio y en la que la relación molar del total del compuesto amino más aminoácido con respecto al ácido fólico es superior a aproximadamente 4,5:1.
- 40 8. El método de la reivindicación 7 que comprende además el paso de eliminar el agua del producto obtenido en el paso (a) o (b) para proporcionar una composición sólida.
9. El método de cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en el que:
- (a) la relación molar de Fe (III) a ácido fólico es de aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 4:1; y/o  
(b) la relación molar del compuesto amino respecto al ácido fólico es de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 45 20:1.

**Fig. 1**

