

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 858 799**

51 Int. Cl.:

A23L 33/00 (2006.01)

A23L 33/135 (2006.01)

A23L 33/185 (2006.01)

A61P 37/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.09.2017 PCT/EP2017/073046**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.03.2018 WO18050710**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.09.2017 E 17777185 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.12.2020 EP 3512355**

54 Título: **Composición nutricional fermentada para sujetos alérgicos a las proteínas de leche de vaca**

30 Prioridad:

13.09.2016 US 201662393790 P

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

30.09.2021

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**THEVENIER, ANNE;
SCHUH, SUSANNE;
JOHNSON, KATJA;
VIKAS, MARTIN;
KUSLYS, MARTINAS;
RAN-RESSLER, RINAT y
RADE-KUKIC, KORALJKA**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 858 799 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 nutricional fermentada para sujetos alérgicos a las proteínas de leche de vaca

5 Campo de la invención

La presente invención se relaciona con composiciones nutricionales. En particular, la invención se relaciona con fórmulas infantiles que son adecuadas para sujetos con alergia a las proteínas de la leche de vaca.

10 Antecedentes de la invención

La leche materna y la lactancia materna se consideran la forma óptima de nutrición para los bebés sanos durante los primeros meses de vida. Sin embargo, existe la necesidad de fuentes nutricionales que puedan usarse además de la leche materna. Además, no todos los bebés pueden ser amamantados y las necesidades de los bebés más vulnerables, tal como los prematuros, no se pueden satisfacer con la leche materna, por lo que también se necesitan alternativas a la leche materna.

15 Las composiciones nutricionales que satisfacen los requisitos nutricionales de los lactantes se pueden utilizar como sustituto o complemento de la leche materna humana. Preferiblemente, las fórmulas para bebés deben tener un sabor aceptable y ser hipoalergénicas cuando se dirigen a bebés alérgicos o con riesgo de alergia.

20 Las fórmulas para bebés se formulan típicamente con proteína de leche de vaca. Por ejemplo, la caseína y/o la proteína de suero bovino se utilizan a menudo como fuente de proteínas en las fórmulas para bebés. Sin embargo, algunos bebés exhiben alergia a las proteínas de la leche de vaca, lo que hace que estas fórmulas no sean adecuadas. Las alergias a la leche de vaca y a las fórmulas infantiles que contienen proteínas de la leche de vaca pueden deberse a las diferencias entre las proteínas de la leche de vaca y las de la leche humana. Los principales alérgenos de la leche de vaca reconocidos son la alfa-lactoalbúmina (aLA), la beta-lactoglobulina (bLG) y la albúmina de suero bovino (BSA).

25 Para reducir la alergenidad, las proteínas de la leche de vaca pueden hidrolizarse (por ejemplo, enzimáticamente) ya sea de forma parcial o en el caso de productos destinados al tratamiento de la alergia a las proteínas de la leche de vaca (APLV), de forma extensa. Sin embargo, estas proteínas deben estar altamente procesadas para proporcionar suficiente hidrólisis para reducir el riesgo de una reacción alérgica. Tal procesamiento puede verse desfavorablemente con una tendencia creciente a proporcionar dietas más naturales y un proceso de hidrólisis fuerte también tiende a tener un impacto negativo en el sabor. Además, el procesamiento extensivo aumenta el coste de las fórmulas del producto.

30 Pueden usarse alternativas a la proteína de la leche de vaca en composiciones nutricionales, por ejemplo, proteínas de soja y arroz. Sin embargo, las composiciones nutricionales con base en soja no son recomendadas por la European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) para bebés (0-12 meses), debido al riesgo de una respuesta alérgica cruzada. Las composiciones nutricionales con base en arroz requieren la adición de numerosos aminoácidos libres para proporcionar el perfil de aminoácidos correcto para las fórmulas infantiles, debido a la distribución de aminoácidos naturales incompleta en las proteínas de arroz. Esto aumenta el coste y puede proporcionar a la fórmula resultante un sabor menos agradable. Además, las proteínas de arroz son generalmente insolubles y requieren al menos una hidrólisis parcial para su solubilización. Las fórmulas para bebés no fermentadas que pueden comprender proteína de patata en forma intacta o hidrolizada, y también pueden comprender un probiótico, se divulgan en el documento US 2015/0305359.

35 Las fórmulas infantiles se pueden formular enteramente a partir de aminoácidos libres para bebés con casos graves de alergias múltiples. Sin embargo, las directrices de la ESPGHAN indican que tales fórmulas no deben utilizarse como solución de primera línea en el caso de bebés alérgicos a la proteína de la leche de vaca. Además, la prescripción excesiva de fórmulas con base en aminoácidos aumenta la carga de costes sobre los sistemas nacionales de salud, ya que las fórmulas con base en aminoácidos son incluso más caras que las fórmulas ampliamente hidrolizadas. Por consiguiente, existe una necesidad significativa de composiciones nutricionales, tales como fórmulas para bebés, que comprendan menos alérgenos potenciales y, preferiblemente, que requieran un procesamiento mínimo, tengan buen sabor y sean de bajo coste. En particular, existe la necesidad de composiciones nutricionales, tales como fórmulas para bebés, que sean adecuadas para la administración a sujetos con alergia a la proteína de la leche de vaca.

Resumen de la invención

60 Los inventores han desarrollado una composición nutricional fermentada con base en proteína de patata como principal fuente de proteína, que está naturalmente ausente en los principales alérgenos que se encuentran en la leche y la soja. Por consiguiente, la composición nutricional proporciona una fórmula para bebés o un producto nutricional naturalmente hipoalergénico (por ejemplo, un producto similar al yogur) que es adecuado para sujetos con alergia a la proteína de la leche de vaca. De acuerdo con la invención, la composición nutricional se selecciona de una fórmula para bebés o un producto nutricional similar al yogur adecuado para alimentar a los bebés, y se puede obtener fermentando una mezcla que comprende proteínas, carbohidratos y grasas, en la que la fracción más grande de la

proteína total en peso en dicha composición hay proteína de patata, y en la que la mezcla es fermentada por bacterias productoras de ácido láctico.

5 En particular, los inventores han descubierto que es posible fermentar con éxito una base de composición nutricional (por ejemplo, una base de fórmula para bebés) que comprende proteína de patata como fuente principal de proteína. Dependiendo de la fuente particular de proteína de patata utilizada, la estructura del producto lograda se puede adaptar para que sea más parecida a un pudín (por ejemplo, usando una fracción de proteína de patata de alta masa molecular, tal como más de 35 kDa) o bastante líquida (por ejemplo, usando una fracción de proteína de patata de baja masa molecular, tal como menos de 35 kDa). Además, dependiendo de la duración de la fermentación y la cepa utilizada, se pueden lograr diferentes sabores.

15 Las composiciones nutricionales fermentadas pueden tener un pH ácido, que proporciona una mejora en la seguridad alimentaria, en particular en lugares donde se puede usar una calidad de agua inadecuada con alta carga microbiana para la preparación de una fórmula para bebés a partir de su forma en polvo. Como beneficio adicional, se ha demostrado que la acidificación de las fórmulas para bebés tiene un efecto beneficioso tanto en la incidencia como en la duración de la diarrea, y en la prevención de la proliferación microbiana en los bebés durante los estudios clínicos (Chouraqi, J.P. et al. (2004) J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 38: 288-292). Específicamente, en un estudio multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, paralelo y controlado por referencia en una población de 255 bebés, se observaron menos casos de fiebre y diarrea en bebés alimentados con una fórmula para bebés acidificada en comparación con una fórmula estándar. Además, la necesidad de tratamiento con antibióticos fue menor en los bebés alimentados con fórmulas para bebés acidificadas. Las fórmulas para bebés con base en proteína de patata fermentada de la presente invención proporcionan acceso a los mismos efectos beneficiosos.

25 Además, los inventores han descubierto que la proteína de patata tiene un perfil de aminoácidos bien equilibrado, que se acerca más al de la leche humana que a la proteína de arroz o de soja. Por consiguiente, se requiere menos adición de aminoácidos libres para proporcionar una composición con el perfil nutricional requerido, lo que hace que el producto resultante sea más rentable y le da un sabor más agradable. Como resultado de su perfil de alérgenos más bajo, los componentes de la proteína de patata no requieren una hidrólisis extensa, lo que proporciona beneficios significativos en términos de coste y para el desarrollo de un bebé, ya que las proteínas intactas o ligeramente hidrolizadas facilitan una mejor maduración intestinal.

Además, el uso de proteína de patata proporciona una buena aceptación, por ejemplo, en términos de sabor y textura de la composición nutricional.

35 Por consiguiente, en un aspecto, la invención proporciona una composición nutricional que se puede obtener fermentando una mezcla que comprende proteína, carbohidrato y grasa, en la que la fuente principal de proteína es proteína de patata y en la que la mezcla es fermentada por bacterias productoras de ácido láctico.

40 En una realización particularmente preferida, la composición nutricional no comprende proteína láctea.

En una realización preferida, la principal fuente de proteína en la composición nutricional es la proteína de patata y la proteína restante es la proteína vegetal. En una realización preferida, la principal fuente de proteína en la mezcla (es decir, la mezcla que se fermenta) es proteína de patata y la proteína restante es proteína vegetal.

45 La expresión "fuente principal de proteína es la proteína de patata" indica que la fracción más grande de la proteína total en peso en una composición (por ejemplo, la mezcla que se fermenta y/o la composición nutricional final) se origina a partir de proteína de patata.

50 En una realización, al menos aproximadamente 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, preferiblemente 75 %, en peso de la proteína total en la composición nutricional es proteína de patata. En una realización, al menos aproximadamente 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, preferiblemente 75 %, en peso de la proteína total en la mezcla (es decir, la mezcla que se fermenta) es proteína de papa.

55 En una realización preferida, el 100 % en peso de la proteína total en la composición nutricional es proteína de patata. En otra realización preferida, el 100 % en peso de la proteína total en la mezcla (es decir, la mezcla que se fermenta) es proteína de patata. La fuente de proteína de patata puede ser, por ejemplo, una fracción de proteína de patata de masa molecular alta (por ejemplo, mayor de 35 kDa) o baja (por ejemplo, menos de 35 kDa), preferiblemente una fracción de proteína de patata de masa molecular baja (por ejemplo, menos de 35 kDa) .

60 En una realización preferida, la proteína (en particular, la proteína de patata) es una proteína intacta. Preferiblemente, la proteína no se ha sometido a hidrólisis artificial.

65 En otra realización, la proteína (en particular, la proteína de patata) es una proteína parcialmente hidrolizada.

En otra realización, la proteína (en particular, la proteína de patata) es una proteína extensamente hidrolizada.

- En una realización, las bacterias productoras de ácido láctico son bacterias de ácido láctico.
- En una realización, las bacterias productoras de ácido láctico comprenden bacterias de los géneros *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium* y/o *Lactobacillus*.
- 5 En una realización, las bacterias productoras de ácido láctico comprenden *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus helveticus* y/o *Bifidobacterium lactis*.
- 10 En una realización preferida, las bacterias productoras de ácido láctico comprenden *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*.
- 15 En otra realización preferida, las bacterias productoras de ácido láctico comprenden *Lactococcus lactis*.
- En una realización, las bacterias productoras de ácido láctico comprenden *Streptococcus thermophilus* ST496, *Lactococcus lactis* NCC 2415 y/o *Bifidobacterium longum* BL999.
- 20 En otra realización, las bacterias productoras de ácido láctico comprenden *Bifidobacterium lactis* BL818, *Lactobacillus paracasei* ST11, *Lactobacillus rhamnosus* LPR y/o *Lactobacillus johnsonii* La1.
- Preferiblemente, las bacterias productoras de ácido láctico comprenden *Streptococcus thermophilus* ST496 y/o *Lactococcus lactis* NCC 2415.
- 25 En una realización particularmente preferida, las bacterias productoras de ácido láctico comprenden *Streptococcus thermophilus* ST496.
- En una realización, se usa una única especie de bacterias productoras de ácido láctico en la fermentación.
- 30 En otra realización, se usa una combinación de 2, 3, 4, 5 o más, preferiblemente 2, especies de bacterias productoras de ácido láctico en la fermentación.
- En una realización, una combinación de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* se utilizan en la fermentación.
- 35 En otra realización, una combinación de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* y *Lactobacillus acidophilus* se utilizan en la fermentación.
- 40 En una realización, la composición nutricional comprende además aminoácidos libres.
- En una realización, la composición nutricional no comprende otro emulsificante. La proteína de patata puede proporcionar una función suficiente como un emulsificante.
- 45 De acuerdo con la invención, la composición nutricional es una fórmula para bebés o un producto nutricional similar al yogur adecuado para alimentar a un bebé.
- Preferiblemente, la composición nutricional es una fórmula para bebés.
- 50 En una realización preferida, la composición nutricional (por ejemplo, la fórmula para bebés) es para un sujeto (por ejemplo, un bebé) con alergia a la proteína de la leche de vaca.
- En una realización, la fórmula para bebés está en forma de polvo o líquido. El líquido puede ser, por ejemplo, una fórmula para bebés líquida concentrada o una fórmula lista para consumir. En una realización, la fórmula para bebés está en forma de fórmula para bebés reconstituida (es decir, una fórmula para bebés líquida que se ha reconstituido a partir de la forma en polvo). Preferiblemente, la fórmula para bebés está en forma de polvo.
- 55 La composición nutricional (por ejemplo, la fórmula para bebés) puede comprender además lactosa. La mezcla (es decir, la mezcla que se fermenta) además comprende lactosa.
- 60 En una realización, la composición nutricional (por ejemplo, la fórmula para bebés) comprende además probióticos. En una realización, la composición nutricional (por ejemplo, la fórmula para bebés) no comprende probióticos.
- En una realización, la composición nutricional (por ejemplo, la fórmula para bebés) comprende además nucleótidos. En una realización, la composición nutricional (por ejemplo, la fórmula infantil) no comprende nucleótidos.
- 65 En una realización, la fórmula para bebés comprende:

- (a) 1.8-3.2 g de proteína por 100 kcal;
- (b) 9-14 g de carbohidratos por 100 kcal; y
- (c) 4.0-6.0 g de lípidos por 100 kcal.

5 En una realización, la composición nutricional tiene un pH de aproximadamente 4-5.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para producir una composición nutricional que comprende los pasos:

- 10 (a) proporcionar una solución que comprende proteína, carbohidrato y grasa, en la que la fracción más grande de la proteína total en peso en dicha composición nutricional es proteína de patata;
- (b) añadir una bacteria productora de ácido láctico; y
- (c) fermentar la solución del paso (b).

15 Preferiblemente, la composición nutricional, la proteína y/o las bacterias productoras de ácido láctico son las divulgadas en el presente documento. En una realización preferida, la composición nutricional es una fórmula para bebés divulgada en el presente documento.

20 En una realización, la fermentación del paso (c) es de aproximadamente 1-20, 1-15, 1-10, 2-20, 2-15, 2-10, 3-20, 3-15, 3-10, 4-20, 4-15 o 4-10 horas, preferiblemente 4-10 horas.

En una realización, la fermentación del paso (c) se realiza a una temperatura de aproximadamente 20-45 °C o 30-45 °C, preferiblemente 30-45 °C.

25 En una realización, la fermentación del paso (c) es durante aproximadamente 4-10 horas a una temperatura de aproximadamente 20-45 °C, preferiblemente aproximadamente 30-45 °C.

En una realización, la fermentación del paso (c) comprende agitación. En una realización, la mezcla no se agita durante la fermentación del paso (c).

30 En una realización, la fermentación del paso (c) se continúa hasta que la solución alcanza un pH de aproximadamente 3.8-5.5. Preferiblemente, la fermentación del paso (c) continúa hasta que la solución alcanza un pH de aproximadamente 4.8-5.2.

35 En una realización, la solución se ajusta a un pH de aproximadamente 4.5-7.5, preferiblemente de aproximadamente 5.8-5.9 al comienzo de la fermentación del paso (c).

En otro aspecto, la invención proporciona una composición nutricional que se puede obtener mediante el método de la invención.

40 En otro aspecto, la invención proporciona el uso de bacterias productoras de ácido láctico para la fabricación de una composición nutricional fermentada seleccionada de una fórmula para bebés o un producto similar al yogur, en la que la principal fuente de proteína en la composición nutricional es proteína de patata.

45 Las bacterias productoras de ácido láctico, la composición nutricional y/o la proteína pueden ser como se divulgan en el presente documento.

Otro aspecto, que no forma parte de la invención, se relaciona con un método para alimentar a un sujeto que comprende administrar al sujeto la composición nutricional de la invención.

50 En una realización preferida, el sujeto es un bebé. Particularmente preferiblemente, el sujeto tiene alergia a las proteínas de la leche de vaca.

55 Otro aspecto, que tampoco forma parte de la presente invención, se relaciona con la composición nutricional de la invención para su uso en la alimentación de un sujeto, preferiblemente un bebé, que tiene alergia a la proteína de la leche de vaca.

Descripción de los dibujos

60 Figura 1

Comparación de los niveles de aminoácidos esenciales entre la proteína de papa y arroz y las recomendaciones de la FAO 2013.

65 Figura 2

Perfiles de fermentación de dos variantes (un experimento de referencia con base en leche y un experimento que usa proteína de patata, ambos fermentados con *Streptococcus thermophilus* ST496) por duplicado. Una de cada variante se detuvo después de 4 horas.

5 Figura 3

Recuento de células de *S. thermophilus* en diferentes momentos durante la fermentación para dos variantes (un experimento de referencia con base en leche y un experimento que usa proteína de patata).

10 Figura 4

Recuentos celulares de *S. thermophilus* en diferentes momentos durante la fermentación utilizando proteína de papa.

Figura 5

15 Perfiles de fermentación de un experimento utilizando proteína de patata por duplicado. Una fermentación se detuvo después de 4 h, otra se detuvo cuando se alcanzó un pH de 4.95.

Figura 6

20 Perfiles de fermentación de la base de la fracción de proteína de patata de masa molecular baja (menos de 35 kDa) fermentada con cuatro cepas diferentes (*L. rhamnosus* LPR, *B. lactis* BL818, *B. longum* BL999 y *L. paracasei* ST11).

Figura 7

25 Perfiles de fermentación de la base de la fracción de proteína de patata de bajo peso molecular (menos de 35 kDa) fermentada con tres cepas diferentes (*S. thermophilus* ST496, *L. johnsonii* La1 y *L. lactis* NCC 2415).

Figura 8

30 Recuentos celulares de cuatro cepas diferentes (*L. rhamnosus* LPR, *B. lactis* BL818, *B. longum* BL999 y *L. paracasei* ST11) en diferentes momentos durante la fermentación.

Figura 9

35 Recuentos celulares de tres cepas diferentes (*S. thermophilus* ST496, *L. johnsonii* La1 y *L. lactis* NCC 2415) en diferentes momentos durante la fermentación.

Descripción detallada de la invención

40 Se describirán ahora diversas 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 una persona con conocimientos ordinarios 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*, 2da Edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, F.M. et al. (1995 and periodic supplements) *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; y Lilley, D.M. y Dahlberg, J.E. (1992) *Methods in Enzymology: DNA Structures Part A: Synthesis and Physical Analysis of DNA*, Academic Press. Cada uno de estos textos generales se incorpora aquí como referencia.

55 Alergia

El término "alergia" se refiere a una hipersensibilidad del sistema inmunológico a una sustancia que normalmente se tolera. La alergia puede ser una alergia detectada por un médico.

60 El término "alergia alimentaria" se refiere a una alergia con respecto a una composición nutricional.

Las fórmulas para bebés se formulan típicamente con proteína de leche de vaca. Por ejemplo, la caseína y/o la proteína de suero bovino se utilizan a menudo como fuente de proteínas en las fórmulas para bebés. Sin embargo, algunos bebés exhiben alergia a las proteínas de la leche de vaca, lo que hace que estas fórmulas no sean adecuadas.

65 Las alergias a la leche de vaca y a las fórmulas para bebés que contienen proteína de la leche de vaca pueden deberse a las diferencias entre las proteínas de la leche de vaca y las de la leche humana. Los principales alérgenos de la

leche de vaca reconocidos son la alfa-lactoalbúmina (aLA), la beta-lactoglobulina (bLG) y la albúmina de suero bovino (BSA).

Sujetos

5 Los sujetos a los que se hace referencia en la presente divulgación como el objetivo de las composiciones nutricionales divulgadas en el presente documento son sujetos humanos. Preferiblemente, los sujetos son bebés.

10 El término "bebé" se relaciona con un niño menor de 12 meses, por ejemplo, un niño entre 0 y 6 meses de edad.

En otra realización, los sujetos tienen entre 12 y 36 meses de edad. Las composiciones nutricionales de la invención que pueden usarse para tales sujetos se pueden seguir en las fórmulas.

Composición nutricional

15 El término "composición nutricional" se refiere a una composición que proporciona nutrición. La composición incluye preferiblemente proteínas, carbohidratos, grasas y/u otros componentes (por ejemplo, vitaminas y minerales) útiles para la nutrición de un sujeto. Los niveles de los componentes individuales en una composición nutricional pueden seleccionarse para proporcionar una ingesta nutricional personalizada para un individuo.

20 En una realización preferida, la composición nutricional es una fórmula para bebés.

En otra realización, la composición nutricional es un producto similar al yogur, preferiblemente un producto similar al yogur adecuado para alimentar a los bebés.

25 En otra realización, la composición nutricional es una fórmula de seguimiento.

Fórmula para bebés

30 El término "fórmula para bebés" puede referirse a un alimento destinado a un uso nutricional particular por parte de los bebés durante el primer año de vida y que satisface por sí mismo los requisitos nutricionales de esta categoría de personas, tal como se define en la European Commission Directive 2006/141/EC de 22 de diciembre de 2006.

35 Los bebés pueden alimentarse únicamente con fórmulas para bebés o la fórmula para bebés se puede utilizar como complemento de la leche materna.

El término "fórmula para bebés" incluye fórmulas para bebés hipoalérgicas. Una composición hipoalérgica es una composición que es poco probable que cause reacciones alérgicas.

40 La fórmula para bebés de la invención puede estar en forma de polvo o líquido. El líquido puede ser, por ejemplo, una fórmula para bebés líquida concentrada o una fórmula lista para consumir. La fórmula para bebés puede estar en la forma de una fórmula para bebés reconstituida (es decir, una fórmula infantil líquida que se ha reconstituido a partir de la forma en polvo). Preferiblemente, la fórmula para bebés está en forma de polvo.

45 Preferiblemente, el polvo puede reconstituirse en una composición líquida adecuada para alimentar a un bebé, por ejemplo, mediante la adición de agua. De manera similar, la fórmula para bebés líquida concentrada se puede diluir preferiblemente en una composición líquida adecuada para alimentar a un bebé, por ejemplo, mediante la adición de agua.

50 En una realización, la fórmula para bebés tiene una densidad energética de aproximadamente 60-70 kcal por 100 mL, cuando se formula según las instrucciones.

Proteína

55 El término "proteína" se refiere a polímeros de aminoácidos e incluye polipéptidos y péptidos. El término "proteína" no incluye aminoácidos libres, que también pueden estar presentes en la composición nutricional (por ejemplo, fórmula para bebés) de la invención.

60 El contenido de proteína de la fórmula para bebés de la invención está preferiblemente en el intervalo de 1.8 a 3.2 g de proteína por 100 kcal. En una realización preferida, el contenido de proteína de la fórmula para bebés de la invención está en el intervalo de 1.8 a 2.8 g de proteína por 100 kcal. Las composiciones nutricionales de la invención comprenden proteína de patata como principal fuente de proteína.

65 En una realización, al menos aproximadamente el 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, preferiblemente al menos aproximadamente 75 %, más preferiblemente 100 %, en peso de la proteína total en la composición nutricional es proteína de patata. En una realización, al menos aproximadamente 50 %, 55 %, 60 %, 65

%, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, preferiblemente al menos aproximadamente 75 %, más preferiblemente 100 %, en peso de la proteína total en la mezcla (es decir, la mezcla que se fermenta) es proteína de patata.

5 La proteína restante en la composición nutricional de la invención puede ser cualquier proteína que sea adecuada para su uso en una composición nutricional, en particular una fórmula para bebés.

En una realización particularmente preferida, la composición nutricional no comprende proteína láctea. Por consiguiente, en una realización preferida, el 100 % en peso de la proteína total es proteína no láctea.

10 En una realización preferida, el 100 % en peso de la proteína total es proteína vegetal.

Las proteínas vegetales de ejemplo que se pueden usar opcionalmente en la fórmula para bebés de la invención, además de la proteína de patata, incluyen proteínas de guisante, arroz, quínoa, avena, girasol o coco, o combinaciones de las mismas.

15 Otros ejemplos de proteínas no lácteas para su uso en la fórmula para bebés de la invención incluyen proteína de algas o proteína de hoja.

20 En una realización preferida, la principal fuente de proteína en la composición nutricional es la proteína de patata y la proteína restante es la proteína vegetal. En una realización preferida, la principal fuente de proteína en la mezcla (es decir, la mezcla que se fermenta) es proteína de patata y la proteína restante es proteína vegetal.

25 En una realización preferida, el 100 % en peso de la proteína total en la composición nutricional es proteína de patata. En otra realización preferida, el 100 % en peso de la proteína total en la mezcla (es decir, la mezcla que se fermenta) es proteína de patata.

La proteína de patata para su uso en las composiciones nutricionales de la invención es fácilmente accesible o está disponible, por ejemplo, como concentrados o aislados, por ejemplo, de fuentes comerciales.

30 La proteína de patata puede extraerse del jugo de tubérculo de patata, que a su vez puede separarse de los sólidos de patata mediante cualquiera de varias técnicas adecuadas conocidas en la técnica. Se pueden utilizar técnicas cromatográficas para purificar las proteínas de patata del jugo del tubérculo de manera similar al aislamiento de las proteínas de la leche. Una vez aislada, la proteína de patata se puede concentrar y someter a tratamiento de temperatura y/o ajuste de pH. Otros pasos pueden incluir, por ejemplo, la eliminación de triglicocalcoides, secado por pulverización y/o tratamiento con rayos UV.

35 Las fuentes de proteína de patata adecuadas incluyen extracto de proteína de patata completo (es decir, extracto no sometido a fraccionamiento por masa molecular); y proteína de patata fraccionada por masa molecular, por ejemplo, una fracción de masa molecular alta (por ejemplo, mayor de 35 kDa); o una fracción de masa molecular baja (por ejemplo, menos de 35 kDa). En una realización, la fuente de proteína de patata es una fracción de proteína de patata de bajo peso molecular de menos de 35 kDa.

45 La proteína puede ser, por ejemplo, proteína intacta o proteína hidrolizada (por ejemplo, proteína parcialmente hidrolizada). Preferiblemente, la proteína es una proteína intacta.

50 En general, la hidrólisis de proteínas puede denominarse "parcial" o "extensa" dependiendo del grado en que se lleve a cabo la hidrólisis. Los hidrolizados de proteínas pueden tener un grado de hidrólisis que se caracteriza por NPN/TN%, que se refiere al nitrógeno no proteico dividido por el nitrógeno total $\times 100$. El nitrógeno no proteico se refiere al nitrógeno amino que está libre para reaccionar con un reactivo tal como el ácido trinitrobencenosulfónico (TNBS). El NPN/TN% puede medirse como se describe en Adler-Nissen (Adler-Nissen, J. (1979) J. Agric. Food Chem. 27: 1256-1262).

55 El término "hidrólisis extensa" puede referirse a la hidrólisis que proporciona una proteína que tiene un NPN/TN% superior al 95 %. El término "hidrólisis parcial" puede referirse a la hidrólisis que proporciona una proteína que tiene un NPN/TN% en el intervalo del 70-85 %.

En una realización, la proteína tiene un NPN/TN% entre 25-90 %, 70-90 % o 70-85 %, preferiblemente entre 70-85 %. En otra realización, la proteína tiene un NPN/TN% entre 25-55 %, 25-50 % o 50-55 %.

60 En una realización, el 60-70 % de la población de proteínas tiene una masa molecular de menos de 5000 Da.

En otra realización, la proteína tiene un NPN/TN% superior al 95%. Estos son hidrolizados "extensivos".

65 En una realización, el 60-70 % de la población de proteínas tiene una masa molecular de menos de 3000 Da. En una realización, al menos el 95 % de la población de proteínas tiene una masa molecular de menos de 3000 Da.

Las proteínas para usar en la composición nutricional de la invención se pueden hidrolizar mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, las proteínas pueden hidrolizarse enzimáticamente, por ejemplo, utilizando una proteasa.

- 5 Por ejemplo, la proteína se puede hidrolizar usando alcalasa (por ejemplo, en una relación enzima:sustrato de aproximadamente 2-15 % en peso y durante una duración de aproximadamente 1-5 horas).

Aminoácidos libres

- 10 Las composiciones y mezclas nutricionales (es decir, la mezcla que se fermenta) divulgadas en el presente documento pueden comprender además aminoácidos libres. Estos aminoácidos libres proporcionan una fuente de proteína equivalente.

- 15 Se pueden incorporar aminoácidos libres en las composiciones y mezclas nutricionales (es decir, la mezcla que se fermenta) divulgadas en el presente documento para complementar los aminoácidos comprendidos en la proteína. Los niveles de aminoácidos libres pueden elegirse para proporcionar un perfil de aminoácidos que sea suficiente para la nutrición de un sujeto específico, en particular un perfil de aminoácidos que satisfaga las regulaciones nutricionales (por ejemplo, la European Commission Directive 2006/141/EC). Preferiblemente, los niveles de aminoácidos libres se eligen para proporcionar suficiente nutrición infantil.

- 20 Ejemplos de aminoácidos libres para su uso en las composiciones y mezclas nutricionales (es decir, la mezcla que se fermenta) divulgadas en el presente documento incluyen histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, cisteína, fenilalanina, tirosina, treonina, triptófano, valina, alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina, serina, carnitina, taurina y mezclas de los mismos.

25 Carbohidratos

- El contenido de carbohidratos de la fórmula para bebés de la invención está preferiblemente en el intervalo de 9-14 g de carbohidratos por 100 kcal.

- 30 El carbohidrato puede ser cualquier carbohidrato que sea adecuado para su uso en una composición nutricional, en particular una fórmula para bebés.

- 35 Los carbohidratos de ejemplo para usar en las composiciones y mezclas nutricionales (es decir, la mezcla que se fermenta) divulgadas en el presente documento incluyen lactosa, sacarosa, maltodextrina y almidón. Se pueden usar mezclas de carbohidratos.

- 40 En una realización, al menos el 40 %, 50 %, 60 % del 70 %, 80 %, 90 % o 95 % en peso del carbohidrato total en la composición nutricional es lactosa. En otra realización, el 100 % en peso del carbohidrato total en la composición nutricional es lactosa. La mezcla (es decir, la mezcla que se fermenta) además comprende lactosa. En una realización, al menos el 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 95 % en peso del carbohidrato total en la mezcla (es decir, la mezcla que se fermenta) es lactosa. En otra realización, el 100 % en peso del carbohidrato total en la mezcla (es decir, la mezcla que se fermenta) es lactosa.

- 45 En una realización, el carbohidrato comprende lactosa y maltodextrina.

En una realización, el carbohidrato comprende maltodextrina.

50 Grasa

- El contenido de grasa de la fórmula para bebés de la invención está preferiblemente en el intervalo de 4.0 a 6.0 g de lípidos por 100 kcal.

- 55 La grasa puede ser cualquier lípido o grasa que sea adecuado para su uso en una composición nutricional, en particular una fórmula para bebés.

- 60 Ejemplos de grasas para usar en las composiciones y mezclas nutricionales (es decir, la mezcla que se fermenta) divulgadas en el presente documento incluyen aceite de girasol, aceite de colza con bajo ácido erúcico, aceite de cártamo, aceite de canola, aceite de oliva, aceite de coco, aceite de semilla de palma, aceite de soja, aceite de pescado, aceite de palma oleico, aceite de girasol con alto oleico y aceite de cártamo con alto oleico, y aceite de fermentación microbiana que contiene ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

- 65 La grasa también puede estar en forma de fracciones derivadas de estos aceites, tales como oleína de palma, triglicéridos de cadena media y ésteres de ácidos grasos tales como ácido araquidónico, ácido linoleico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido docosahexaéonico, ácido linolénico, ácido oleico, ácido láurico, ácido cáprico, ácido caprílico, ácido caproico y similares.

Otros ejemplos de grasas incluyen lípidos estructurados (es decir, lípidos que se modifican química o enzimáticamente con el fin de cambiar su estructura). Preferiblemente, los lípidos estructurados son lípidos estructurados sn2, que comprenden, por ejemplo, triglicéridos que tienen un nivel elevado de ácido palmítico en la posición sn2 del triglicérido.

5 También se pueden añadir aceites que contienen altas cantidades de ácido araquidónico y/o ácido docosahexaenoico preformados, tales como aceites de pescado o aceites microbianos.

Pueden añadirse ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, tales como ácido dihomo- γ -linolénico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico. Willemsen et al. mostró que la adición de tales ácidos grasos apoyaba la integridad de la barrera epitelial y reducía la permeabilidad mediada por IL-4 (Willemsen, L.E. et al. (2008) Eur. J. Nutr. 47(4): 183-191).

Pueden añadirse u omitirse lípidos estructurados. Pueden añadirse o omitirse triglicéridos de cadena media.

15 Otros ingredientes

La composición nutricional de la invención preferiblemente también contiene algunas o todas las vitaminas y minerales que se entienden esenciales en la dieta diaria en cantidades nutricionalmente significativas. Se han establecido requisitos mínimos para determinadas vitaminas y minerales.

20 Los ejemplos de vitaminas, minerales y otros nutrientes para usar en la composición nutricional de la invención incluyen vitamina A, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B12, vitamina E, vitamina K, vitamina C, vitamina D, ácido fólico, inositol, niacina, biotina, ácido pantoténico, colina, calcio, fósforo, yodo, hierro, magnesio, cobre, zinc, manganeso, cloro, potasio, sodio, selenio, cromo, molibdeno, taurina y L-carnitina.

25 Los minerales se añaden habitualmente en forma de sal.

La composición nutricional de la invención también puede comprender al menos un probiótico. El término "probiótico" se refiere a preparaciones de células microbianas o componentes de células microbianas con efectos beneficiosos sobre la salud o el bienestar del huésped (Salminen, S. et al. (1999) Trends Food Sci. Technol. 10: 107-10).

30 En particular, los probióticos pueden mejorar la función de barrera intestinal (Rao, R.K. (2013) Curr. Nutr. Food Sci. 9: 99-107).

35 Los probióticos preferidos son aquellos que en su conjunto son seguros y tienen una vida útil aceptable para los productos que deben permanecer estables y efectivos hasta por 24 meses.

Los ejemplos de microorganismos probióticos para su uso en la composición nutricional de la invención incluyen levaduras, tales como *Saccharomyces*, *Debaromyces*, *Candida*, *Pichia* y *Torulopsis*; y bacterias, tales como los géneros *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Melissococcus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacillus*, *Pediococcus*, *Micrococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Oenococcus* y *Lactobacillus*.

45 Ejemplos específicos de microorganismos probióticos adecuados son: *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbrückii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus sakei*, *Lactococcus lactis*, *Micrococcus varians*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus halophilus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus thermophilus*, *Staphylococcus carnosus* y *Staphylococcus xylosum*.

50 Las cepas bacterianas probióticas preferidas incluyen *Lactobacillus rhamnosus* LPR (CGMCC 1.3724); *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BL818 (CNCM I-3446); y *Bifidobacterium longum* BL999 (ATCC BAA-999).

55 La composición nutricional de la invención también puede contener otras sustancias que pueden tener un efecto beneficioso tales como oligosacáridos de leche humana, prebióticos, lactoferrina, fibras, nucleótidos, nucleósidos y similares.

60 Bacterias productoras de ácido láctico

El término "bacterias productoras de ácido láctico" se refiere a bacterias que son capaces de producir ácido láctico durante la fermentación.

65 El término "bacterias del ácido láctico" se refiere a bacterias que están en el orden Lactobacillales. Esto incluye los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*, así como *Carnobacterium*,

Enterococcus, Oenococcus, Tetragenococcus, Vagococcus y Weisella. Las bacterias del ácido láctico también son capaces de producir ácido láctico. Bifidobacterium generalmente no se conoce como bacteria del ácido láctico debido a diferencias genéticas. Sin embargo, el hábitat de Bifidobacterium se superpone con las bacterias del ácido láctico y produce ácido láctico como producto de la fermentación.

5 Las bacterias que producen ácido L-(+) láctico son preferibles a las que producen ácido D-(-) láctico para la fermentación.

Método de fabricación

10 La composición nutricional de la invención se puede preparar de cualquier manera adecuada. Por ejemplo, un método para producir la composición nutricional puede comprender los pasos:

15 (a) proporcionar una solución que comprende proteína, carbohidrato y grasa, en la que la fracción más grande de la proteína total en peso en dicha composición nutricional es proteína de patata;
 (b) añadir una bacteria productora de ácido láctico; y
 (c) fermentar la solución del paso (b).

20 En una realización alternativa, la grasa se puede añadir después del paso de fermentación. Por ejemplo, un método para producir la composición nutricional puede comprender los pasos:

25 (a) proporcionar una solución que comprende proteína y carbohidrato, en la que la fracción más grande de la proteína total en peso en dicha composición nutricional es proteína de patata;
 (b) añadir una bacteria productora de ácido láctico;
 (c) fermentar la solución del paso (b); y
 (d) añadir una grasa a la composición fermentada del paso (c).

30 La composición nutricional, la proteína y/o las bacterias productoras de ácido láctico son como se divulgan en el presente documento. En una realización preferida, la composición nutricional es una fórmula infantil divulgada en el presente documento.

En una realización, la fermentación del paso (c) es de aproximadamente 1-20, 1-15, 1-10, 2-20, 2-15, 2-10, 3-20, 3-15, 3-10, 4-20, 4-15 o 4-10 horas, preferiblemente 4-10 horas.

35 En una realización, la fermentación del paso (c) es a una temperatura de aproximadamente 20-45 °C o 30-45 °C, preferiblemente 30-45 °C.

40 En una realización, la fermentación del paso (c) es durante aproximadamente 4-10 horas a una temperatura de aproximadamente 20-45 °C, preferiblemente aproximadamente 30-45 °C.

En una realización preferida, la fermentación del paso (c) es durante aproximadamente 4-10 horas a una temperatura de aproximadamente 30-45 °C.

45 En una realización, la fermentación del paso (c) comprende agitación. En una realización, la mezcla no se agita durante la fermentación del paso (c).

50 En una realización, la fermentación del paso (c) es continua hasta que la solución alcanza un pH de aproximadamente 3.8-5.5. Preferiblemente, la fermentación del paso (c) es continua hasta que la solución alcanza un pH de aproximadamente 4.9-5.2.

En una realización, la solución del paso (a) se pasteuriza antes de la adición de las bacterias productoras de ácido láctico.

55 En una realización, el producto del paso (c) se pasteuriza después de la fermentación.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Comparación nutricional entre proteína de papa y proteína de arroz

60 La proteína de patata contiene niveles más altos de los siguientes aminoácidos esenciales en comparación con la proteína de arroz (Figura 1): valina; isoleucina; leucina; lisina; treonina y aminoácidos aromáticos.

65 Las concentraciones de triptófano y los aminoácidos que contienen azufre son similares entre las proteínas de la patata y del arroz.

Sin embargo, la proteína de arroz contiene concentraciones más altas de histidina que la proteína de patata.

En general, las concentraciones de aminoácidos esenciales en la proteína de patata son mejores que las de la proteína de arroz y pueden requerir niveles más bajos de fortificación adicional de aminoácidos.

5 La proteína de patata contiene más aminoácidos esenciales de acuerdo con las recomendaciones de la FAO 2013 en comparación con la proteína de arroz (Tabla 1).

Tabla 1. Concentraciones de aminoácidos en las proteínas de la patata y el arroz que cumplen con las recomendaciones de la FAO de 2013 para bebés de 0-6 meses.

Aminoácido	Patata	Arroz
Val	✓	x
Ile	x	x
Leu	x	x
Lis	x	x
His	x	✓
Tre	✓	x
Trp	x	x
Met+Cis	✓	✓
Fen+Tir	✓	x

10 Aunque los niveles de histidina son más bajos en la proteína de patata que en la proteína de arroz, y son más bajos que las recomendaciones de la FAO 2013 para bebés de 0-6 meses, la proteína de patata aún entregará niveles de histidina que cumplen con los 214 mg/d histidina sugerida por el Institute of Medicine of the National Academies Adequate Intake (AI) para bebés de 0-6 meses.

15 Además, aunque las concentraciones de isoleucina, leucina, lisina y triptófano son más bajas en la patata en comparación con las recomendaciones de la FAO 2013, estos niveles son similares o más altos que los niveles en el arroz. Además, la proteína de patata cumplirá con las recomendaciones del Institute of Medicine of the National Academies AI para estos aminoácidos, mientras que la proteína de arroz no cumplirá con las recomendaciones de isoleucina y lisina.

20 Las concentraciones de isoleucina, leucina y lisina tomadas de los datos del proveedor indican que los niveles de estos aminoácidos cumplirán con la WHO 2007, 2013 y EC Directive 2006/141/EC, y el estándar del Codex (CODEX STAN 72-1981), además de las recomendaciones del Institute of Medicine of the National Academies AI.

25 Aminoácidos de cadena ramificada (BCAA)

30 Los aminoácidos de cadena ramificada (BCAA; leucina, isoleucina y valina) tienen un papel importante en la síntesis de proteínas. La leucina es un activador de mTOR y promueve la síntesis de proteínas y suprime el catabolismo de proteínas, lo que resulta en el mantenimiento de la proteína muscular durante la ingesta dietética restringida. Los niños con alergias alimentarias siguen restricciones dietéticas, por lo que corren el riesgo de desarrollar desnutrición, por lo que el consumo de proteína vegetal con altos niveles de BCAA puede ayudar a mantener las proteínas musculares.

35 Además, las mejores fuentes alimentarias de BCAA son la carne, el pescado, los productos lácteos y los huevos, que pueden no consumirse en absoluto, o al menos consumirse en cantidades más pequeñas por bebés y niños pequeños con alergias alimentarias. La suma de BCAA en la patata es más cercana a la de la leche y, por lo tanto, proporciona una ventaja a los niños con alergia a la proteína de la leche de vaca. En consecuencia, proporcionar una fuente de proteínas con niveles más altos de BCAA puede beneficiar a esta población pediátrica.

40 Lisina y treonina

45 La lisina y la treonina son el primer y segundo aminoácidos más limitantes, respectivamente, para la síntesis de proteínas en sujetos humanos que consumen una dieta predominantemente con base en cereales, tal como el trigo y el arroz. Las funciones principales de la lisina y la treonina se encuentran en la síntesis de proteínas. A diferencia de otras fuentes de proteínas vegetales tal como las proteínas del arroz y el trigo, la proteína de la patata tiene niveles más altos de estos dos aminoácidos, con niveles de lisina cercanos a los requisitos establecidos por las recomendaciones de la FAO 2013 y niveles de treonina que los superan.

50 Las mejores fuentes alimenticias de treonina y lisina son la soja, productos lácteos, nueces y pescado, ternera o pollo. Estas fuentes de alimentos pueden no ser consumidas en absoluto, o al menos consumidas en cantidades más

pequeñas por bebés y niños pequeños con alergias alimentarias. Por lo tanto, proporcionar una fuente de proteína no animal con altas concentraciones de estos dos aminoácidos beneficiará a esta población pediátrica.

Aminoácidos aromáticos

5 La fenilalanina es un precursor de la tirosina, los neurotransmisores dopamina, norepinefrina y adrenalina, y el pigmento de la piel melanina. La proteína de patata excede los requisitos establecidos por las recomendaciones de la FAO de 2013 para bebés de 0 a 6 meses, mientras que el arroz no alcanza el nivel recomendado.

10 Las mejores fuentes alimenticias de fenilalanina son los huevos, pollo, hígado, ternera, leche y soja. Estas fuentes de alimentos pueden no ser consumidas en absoluto, o al menos consumidas en cantidades más pequeñas por bebés y niños pequeños con alergias alimentarias. Sin embargo, los niveles combinados de fenilalanina y tirosina en la proteína de la patata son similares a los de la leche, lo que proporciona una ventaja a los bebés y niños con alergia a la proteína de la leche de vaca.

15 Ejemplo 2 - Fermentación de fórmulas para bebés con proteína de patata

Material y métodos

20 Prueba 1 de laboratorio

Se prepararon las bases de fórmula para bebés para dos variantes (referencia y fracción de proteína de patata de masa molecular alta (mayor de 35 kDa) mezclando la proteína relevante con carbohidratos (lactosa y maltodextrina) y fuentes de grasas, y con minerales.

25 Se aplicó un tratamiento térmico a 72 °C durante 15 segundos en un baño de agua.

Se utilizó leche desnatada (leche desnatada líquida disponible comercialmente) como la fuente de proteína en la receta de referencia.

30 El cultivo iniciador utilizado fue *Streptococcus thermophilus* ST496 (CNCM I-3915).

35 La fermentación se realizó por duplicado para ambas variantes en botellas de vidrio de 250 mL colocadas en un baño de agua y monitorizadas por un sistema CINAC (medición continua de pH y rata de acidificación). Para una botella de cada variante, la fermentación se detuvo después de 4 horas. En las dos botellas restantes, se continuó la fermentación durante una hora más con el objetivo de alcanzar un pH más bajo.

Prueba 2 de laboratorio

40 En el segundo ensayo, solo se probó la base de proteína de patata. En esta prueba, la base se preparó a mayor escala (planta piloto) y luego se fermentó nuevamente en el laboratorio. Por lo demás, la preparación y fermentación de la base fue similar a la realizada en la Prueba de 1 laboratorio.

Prueba 3 de laboratorio

45 En la tercera prueba de laboratorio, se ensayó una proteína de patata diferente (fracción de masa molecular baja (menos de 35 kDa)), que tiene mejor solubilidad a pH bajo. Además, se probaron diferentes cepas (Tabla 1) para la fermentación.

50 Se aumentó la rata de inoculación objetivo a 1.0×10^8 cfu/g para conseguir una acidificación más rápida sin tener que realizar una fermentación iniciadora de antemano. Las temperaturas de fermentación se eligieron entre 30-40 °C dependiendo de las temperaturas óptimas para las diferentes cepas. Por lo demás, la preparación y fermentación de la base fue similar a la realizada en la Prueba 1 de laboratorio.

55 Tabla 2. Cepas utilizadas para la fermentación en la Prueba 3 de laboratorio.

Abreviación de deformación	Especies	Número de colección de cultivo
LPR	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	CGMCC 1.3724
ST11	<i>Lactobacillus paracasei</i>	CNCM I-2116
BL818	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	CNCM I-3446
BL999	<i>Bifidobacterium longum</i>	ATCC BAA-999

(continuación)

Abreviación de deformación	Especies	Número de colección de cultivo
La1	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	CNCM I-1225
ST496	<i>Streptococcus thermophilus</i>	CNCM I-3915
NCC 2415	<i>Lactococcus lactis</i>	CNCM I-1962

Análisis

- 5 El análisis del recuento de células se realizó mediante métodos clásicos de siembra en placa para todas las pruebas (resumidos en James Monroe Jay, Martin J. Loessner, David A. Golden. 2005. *Modern food microbiology*. 7ª edición, Springer Science, Nueva York, N.Y).

Resultados y discusión

- 10 Prueba de laboratorio 1
- Antes de la fermentación
- 15 Las mezclas de base antes de la fermentación diferían en apariencia. La referencia era un líquido lechoso, algo translúcido, con una capa de aceite en la parte superior (no se hizo homogeneización) y espumaba después de agitar. La variante con la fracción de proteína de patata de alto peso molecular era más viscosa, de color gris-beige y no translúcida. El aceite no se separó en esta variante y no se formó espuma después de la agitación.
- 20 El pH de las mezclas de base antes del tratamiento térmico fue 6.51 a 34.7 °C para la referencia y 6.08 a 34.8 °C para la variante de proteína de patata.

Fermentación

- 25 La Figura 2 muestra los perfiles de fermentación (cambio de pH y rata de acidificación a lo largo del tiempo) de ambas variantes por duplicado.

El pH inicial fue diferente para las dos variantes diferentes, pero las ratas de acidificación fueron muy similares.

- 30 El análisis del recuento de células (Figura 3) mostró el recuento de células inicial esperado (teóricamente $1.0-2.0 \times 10^7$ cfu/g) y un crecimiento comparable en ambas variantes.

En general, el rendimiento de fermentación de la referencia con base en leche y la variante con base en patata fue muy similar.

- 35 Evaluación de la muestra después de la fermentación.

- 40 La fermentación con *S. thermophilus* ST496 en ambas variantes condujo a una producción de ácido láctico a partir de la lactosa presente (pH decreciente durante la fermentación). En la variante con base en leche, el ácido láctico indujo la coagulación de las proteínas de la leche y se formó una textura típica de yogur. Sin embargo, en la variante con base en papa, pareció que las proteínas y la textura se mantuvieron prácticamente sin cambios.

- 45 No estaba claro si *S. thermophilus* ST496 podría crecer en una base de proteína de patata. Dado que la cepa creció tan bien en el medio con base en proteína de patata como en el medio con base en leche y no se agregó ninguna otra fuente de nitrógeno, parece que *S. thermophilus* ST496 puede usar la proteína de patata como fuente de nitrógeno para el crecimiento.

Prueba 2 de laboratorio

- 50 Antes de la fermentación
- La base de proteína de patata (fracción de alto peso molecular) se preparó en la planta piloto. La apariencia fue similar a la de la prueba 2 de laboratorio.

- 55 Fermentación

La Figura 5 muestra el perfil de fermentación de la base de proteína de patata. La fermentación procedió a una rata similar a la de la primera prueba de laboratorio, alcanzando un pH de 5.7 después de aproximadamente 5 horas de

fermentación. Una fermentación se detuvo después de 4 horas, mientras que la segunda se continuó hasta alcanzar un pH de 4.95.

La Figura 4 muestra los recuentos de células de *S. thermophilus* durante la fermentación.

Evaluación de la muestra después de la fermentación.

Las muestras se evaluaron después de la fermentación (Tabla 2).

Tabla 3. Prueba 2 de laboratorio - Evaluación sensorial.

Cual	Visual	Olor /Sabor
Patata (fracción de alto peso molecular) 4 horas de fermentación no pasteurizada	color grisáceo	fuerte sabor a patata, no dulce textura en boca polvorienta / arenosa
Patata (fracción de alto peso molecular) 9 horas de fermentación no pasteurizada	color más blanco gris / blanco	olor a yogur sabor a yogur con textura en boca polvorienta / arenosa

Después de 2 días de almacenamiento en el refrigerador, las muestras fermentadas durante 4 horas (pasteurizadas y no pasteurizadas) tenían algo de grumos, mientras que la muestra fermentada durante 9 horas permanecía suave con un claro olor a yogur.

Prueba 3 de laboratorio

Antes de la fermentación

Debido a las diferentes proteínas de patata utilizadas en esta prueba (fracción de masa molecular baja), la base era más ácida con un pH de 5.1 antes de la fermentación. Con el fin de tener algo de espacio para que tuviera lugar la fermentación, se aumentó el pH de la base a aproximadamente pH 5.8-5.9 con NaOH. La base era mucho menos viscosa y más blanca que en las 2 pruebas anteriores, lo que puede deberse al uso de la fracción de proteína de patata de masa molecular baja en lugar de alta. Como no se llevó a cabo ninguna homogeneización y la viscosidad era baja, se formó una capa de aceite en la parte superior con una capa de espuma en la parte superior.

Fermentación

En todas las muestras, la capa de aceite y espuma permaneció sobre la parte superior de la base durante la fermentación.

La Figura 6 y la Figura 7 muestran los perfiles de fermentación de las muestras fermentadas con *L. rhamnosus* LPR, *B. lactis* BL818, *B. longum* BL999 y *L. paracasei* ST11, y con *S. thermophilus* ST496, *L. johnsonii* La1 y *L. Lactis* NCC 2415. En todos los casos, solo se muestra uno de los duplicados en los gráficos - los otros duplicados se detuvieron después de aproximadamente 4.5 horas de fermentación para el análisis del recuento celular. El aumento de pH al principio en la Figura 6 se debió al ajuste de pH que se llevó a cabo después de que se encontró que el pH ya era bastante bajo con esta proteína de patata. Para el experimento que se muestra en la Figura 7, el ajuste del pH se realizó antes de la inoculación. Dependiendo de los tipos de sales minerales utilizadas en la composición nutricional, este ajuste de pH puede ser necesario o no.

Con *L. rhamnosus* LPR y *L. paracasei* ST11, la fermentación procedió inicialmente bastante bien, pero se detuvo después de aproximadamente 3-4 horas. Esto probablemente se debió a que ambas cepas no pueden crecer con lactosa (aunque muchas cepas de estas especies pueden usar lactosa), pero estaban usando cantidades limitadas de otros azúcares disponibles de la maltodextrina. Ambas cepas mostraron cierto crecimiento (consúltese la Figura 8 para ver los recuentos de células). BL999 creció bien y se acidificó a pH 4.8 en 9.5 horas .

S. thermophilus ST496 confirmó de nuevo que crece y se acidifica bien en esta fórmula. Debido a la mayor tasa de inoculación en esta prueba en comparación con los ensayos anteriores, la acidificación fue más rápida - se alcanzó un pH de 4.8 en menos de 4 h. La fermentación continuó hasta aproximadamente 9 horas de tiempo de fermentación, momento en el cual el pH fue de 4.44, sin embargo, no parece haber ocurrido ningún crecimiento en esta última parte de la fermentación -probablemente debido al bajo pH.

Para *L. lactis* la inoculación fue mucho menor que para las otras cepas (Figura 9), debido al uso de una solución madre de glicerol no concentrada en lugar de un concentrado congelado. Aún así, el cultivo alcanzó un pH de 5.08 después de un tiempo de fermentación de 11.5 h y se recuperó en términos de recuentos de células mediante un crecimiento rápido.

La Tabla 4 resume los hallazgos sobre el rendimiento de acidificación y el crecimiento de todas las cepas. En este sentido, las mejores cepas son *B. longum* BL999, *S. thermophilus* ST496 y *L. lactis* (NCC 2415).

5 Tabla 4. Prueba 3 de laboratorio - Resumen del rendimiento de fermentación y crecimiento de las diversas cepas en fórmulas con base en patata (fracción de proteína de patata de baja masa molecular). 0 = ninguno, + = algo, ++ = bueno, +++ = muy bueno.

Deformación	Acidificación	Crecimiento
<i>L. rhamnosus</i> LPR	+	+
<i>L. paracasei</i> ST11	+	+
<i>B. lactis</i> BL818	0	0
<i>B. longum</i> BL999	++ (uso de lactosa)	++
<i>L. johnsonii</i> La1	+	0
<i>S. thermophilus</i> ST496	+++ (uso de lactosa)	++
<i>Lactococcus lactis</i> NCC 2415	++ (uso de lactosa)	+++

10 Las muestras se evaluaron después de la fermentación. Las muestras aparecieron sin cambios visuales después de la fermentación y todavía estaban líquidas. Para la degustación se eligieron las muestras más prometedoras (final de fermentación con *B. longum* BL999, *S. thermophilus* ST496 y *L. lactis* NC 2415) y una muestra sin fermentación de lactosa como control negativo (*L. paracasei* ST11). Además, se evaluó la base no fermentada y sin ajustar el pH. Para *S. thermophilus* ST496, además, se evaluó la muestra después de 4.5 horas de fermentación, ya que el pH de la muestra de final de fermentación era bastante bajo.

15 Las muestras fermentadas con *S. thermophilus* durante 4.5 horas fermentadas con *L. lactis* tenían un agradable sabor a yogur dulce sin textura en boca o regusto a polvo/arena, mientras que la mezcla no fermentada tenía un sabor neutro y una textura en boca ligeramente polvorosa/arenosa.

20 Las otras muestras fermentadas tenían un sabor algo inferior. Después de considerar la degustación, las cepas más prometedoras son *S. thermophilus* ST496 y *L. lactis* NCC 2415.

Conclusiones

25 Se ha demostrado que es posible fermentar una fórmula con base en proteína de patata (fracción de alta masa molecular) con *S. thermophilus* ST496 igualmente bien que una fórmula con base en leche. Se podría lograr un olor y sabor agradablemente fresco a yogur para la fórmula con base en patata por fermentación. Se descubrió que una fracción de proteína de patata de bajo peso molecular era una mejor opción que una fracción de alto peso molecular debido a su menor viscosidad, apariencia de leche y sensación en la boca sin polvo. La fermentación de esta fórmula con *S. thermophilus* ST496 o *L. lactis* NCC 2415 dio lugar a un agradable sabor y olor a yogur.

30

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición nutricional seleccionada de una fórmula para bebés o un producto similar al yogur, que se puede obtener fermentando una mezcla que comprende proteínas, carbohidratos y grasas, en la que la fracción más grande de la proteína total en peso en dicha composición nutricional es la proteína de patata, y en la que la mezcla es fermentada por bacterias productoras de ácido láctico.
- 10 2. La composición nutricional de la reivindicación 1, en la que al menos aproximadamente el 75 % en peso de la proteína total es proteína de patata, preferiblemente en la que el 100 % en peso de la proteína total es proteína de patata.
- 15 3. La composición nutricional de la reivindicación 1 o 2, en la que las bacterias productoras de ácido láctico comprenden bacterias de los géneros *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium* y/o *Lactobacillus*.
- 20 4. La composición nutricional de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que las bacterias productoras de ácido láctico comprenden *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus helveticus* y/o *Bifidobacterium lactis*, preferiblemente *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* y/o *Lactococcus lactis*.
- 25 5. La composición nutricional de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que las bacterias productoras de ácido láctico comprenden *Streptococcus thermophilus* ST496, *Lactococcus lactis* NCC 2415 y/o *Bifidobacterium longum* BL999, preferiblemente *Streptococcus thermophilus* ST496 y/o *Lactococcus lactis* NCC 2415.
- 30 6. La composición nutricional de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la bacteria productora de ácido láctico comprende *Streptococcus thermophilus* ST496.
- 35 7. La composición nutricional de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición nutricional es una fórmula para bebés.
- 40 8. La fórmula para bebés de la reivindicación 7, en la que la fórmula para bebés está en forma de polvo o líquido, preferiblemente en forma de polvo.
- 45 9. La fórmula para bebés de la reivindicación 7 u 8, en la que la fórmula para bebés está en forma de fórmula para bebés reconstituida.
- 50 10. La fórmula para bebés de una cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en la que la fórmula para bebés comprende:
 - (a) 1.8-3.2 g de proteína por 100 kcal;
 - (b) 9-14 g de carbohidratos por 100 kcal; y
 - (c) 4.0-6.0 g de lípidos por 100 kcal.
- 55 11. Un método para producir la composición nutricional de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 que comprende los pasos:
 - (a) proporcionar una solución que comprende proteína y carbohidrato, en el que la fracción más grande de la proteína total en peso en dicha composición nutricional es proteína de patata;
 - (b) añadir las bacterias productoras de ácido láctico; y
 - (c) fermentar la solución del paso (b).
- 60 12. El método de la reivindicación 11, en el que la fermentación del paso (c) es durante aproximadamente 4-10 horas a una temperatura de aproximadamente 20-45 °C, preferiblemente aproximadamente 30-45 °C, con agitación opcional.
- 65 13. El método de la reivindicación 11 o 12, en el que la fermentación del paso (c) se continúa hasta que la solución alcanza un pH de aproximadamente 3.8-5.5, preferiblemente aproximadamente 4.8-5.2.
- 70 14. Una composición nutricional seleccionada de una fórmula para bebés o un producto nutricional similar al yogur adecuado para alimentar a un bebé, obtenible mediante el método de una cualquiera de las reivindicaciones 11-13.
- 75 15. Uso de bacterias productoras de ácido láctico para la fabricación de una composición nutricional fermentada en la que la composición nutricional es una fórmula para bebés o un producto nutricional similar al yogur adecuado para alimentar a un bebé, y en la que la mayor fracción de la proteína total en peso en dicha composición nutricional es proteína de patata.

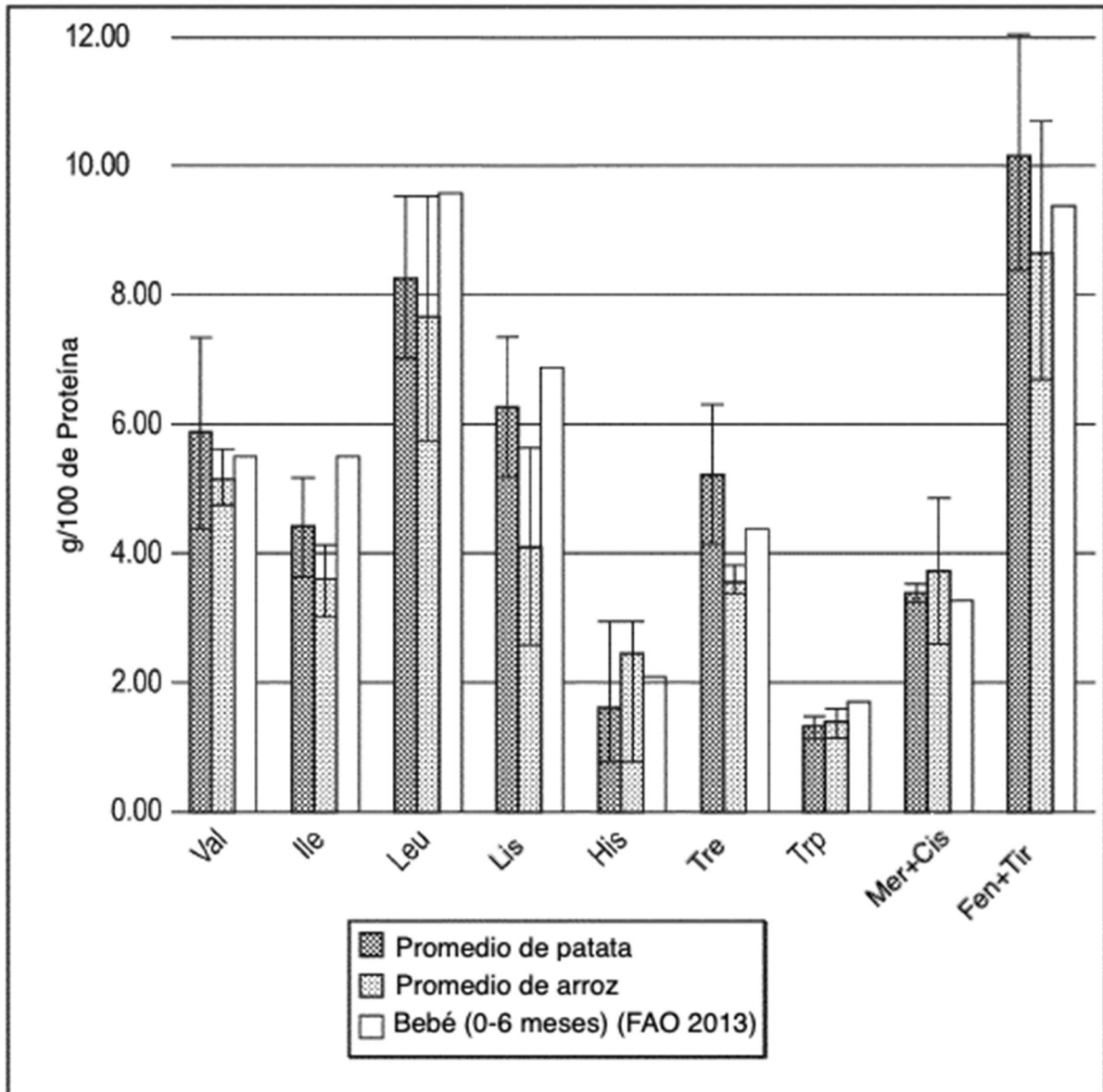


FIG. 1

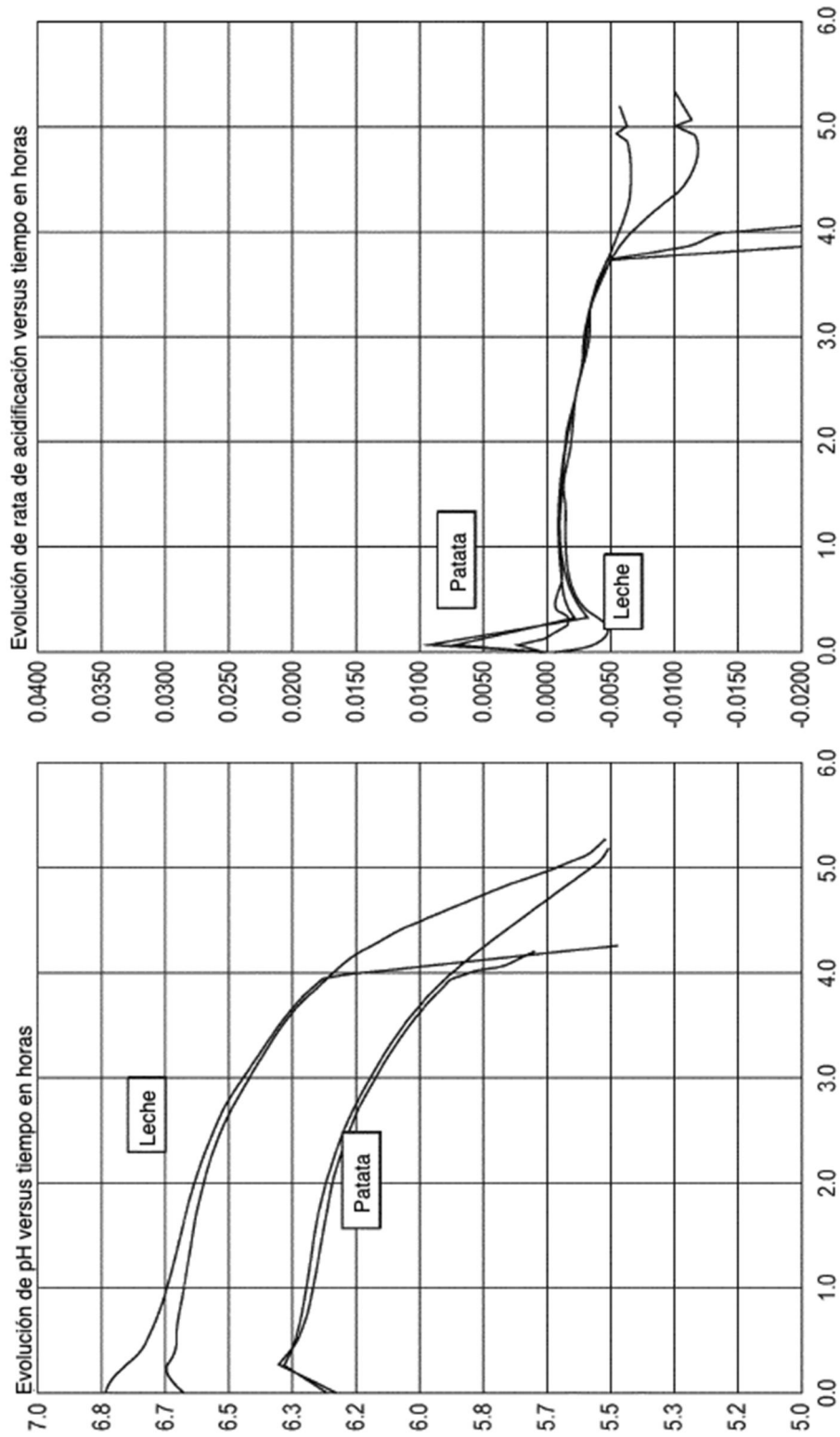


FIG. 2

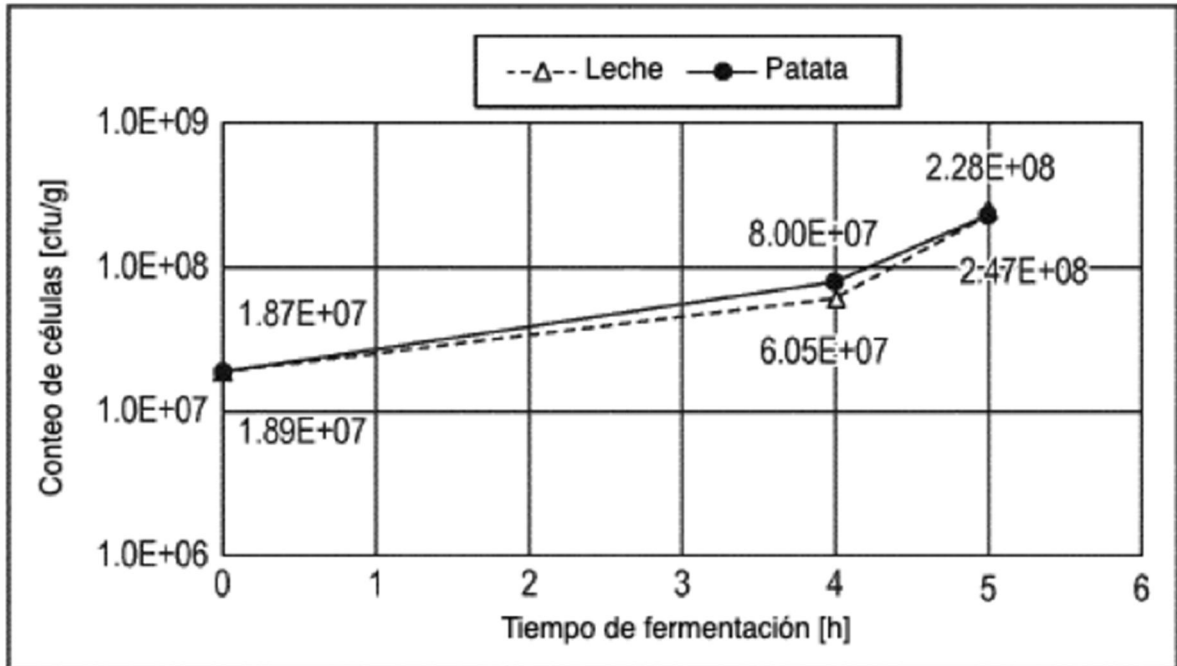


FIG. 3

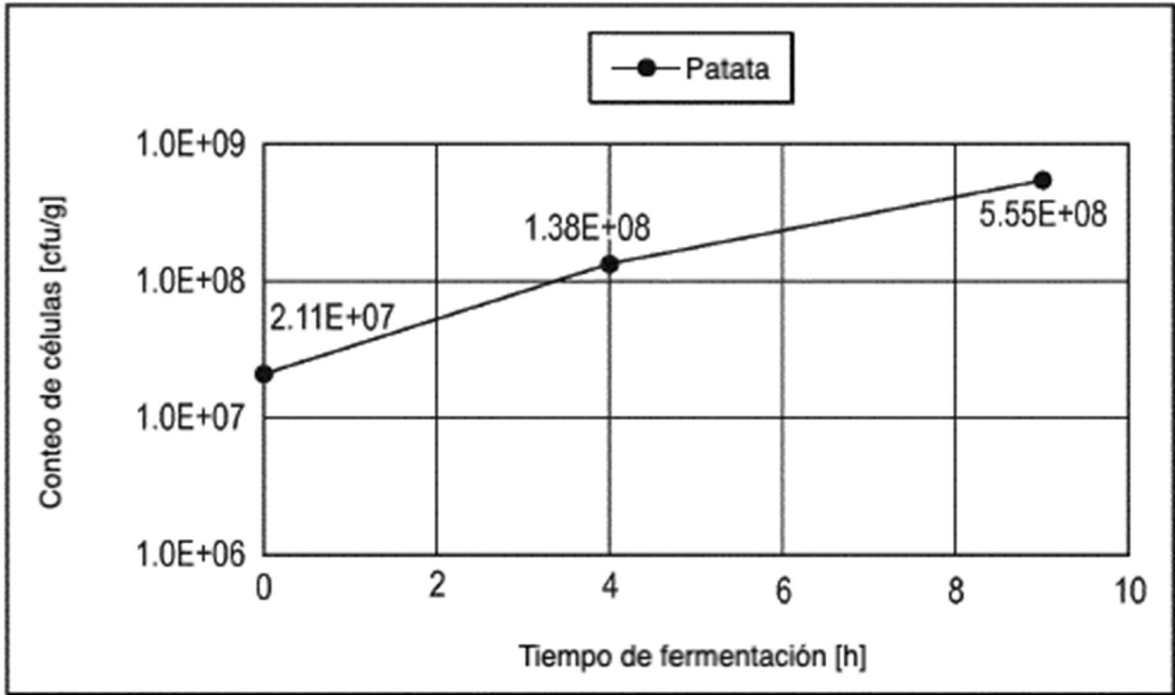


FIG. 4

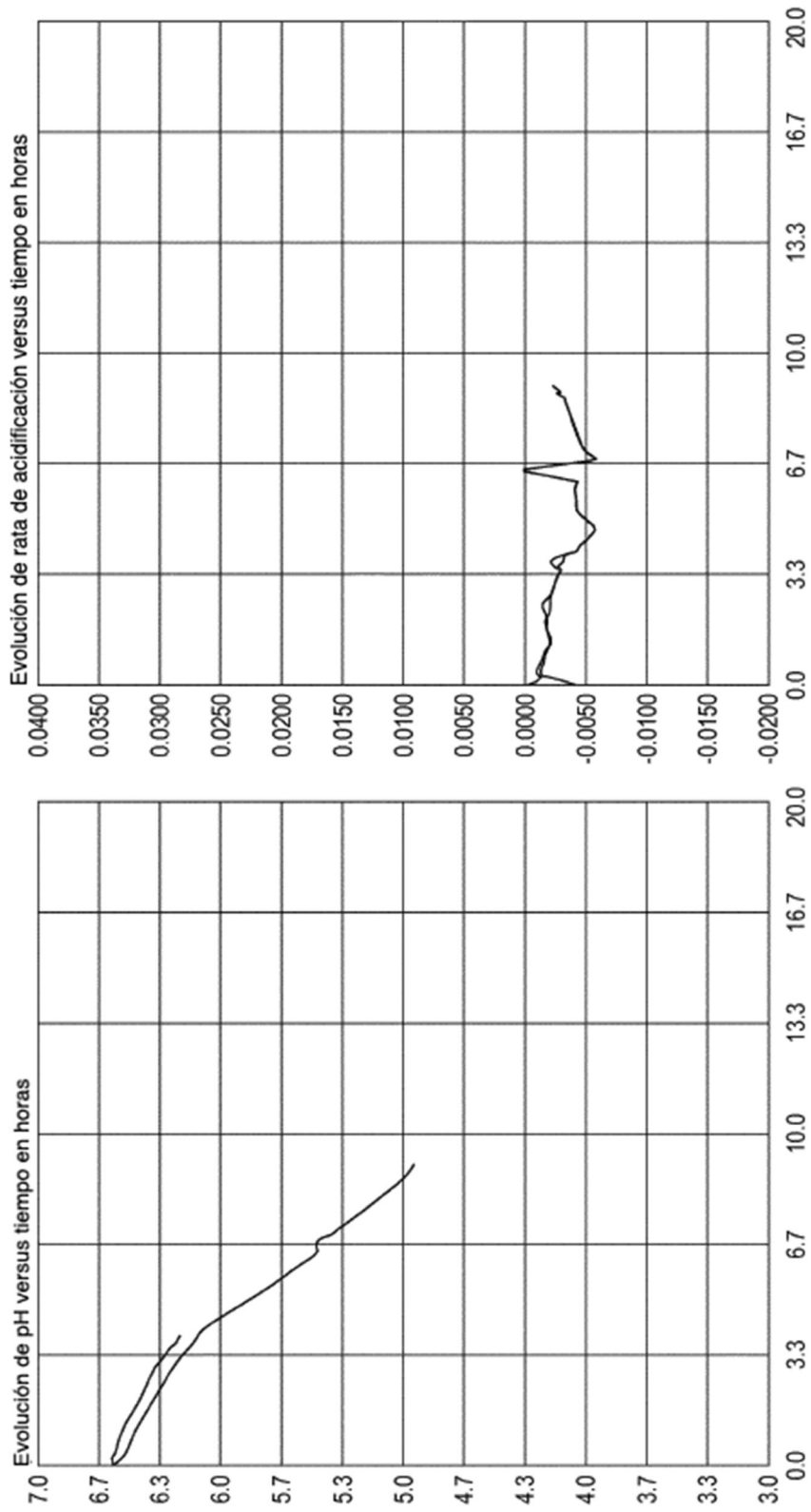


FIG. 5

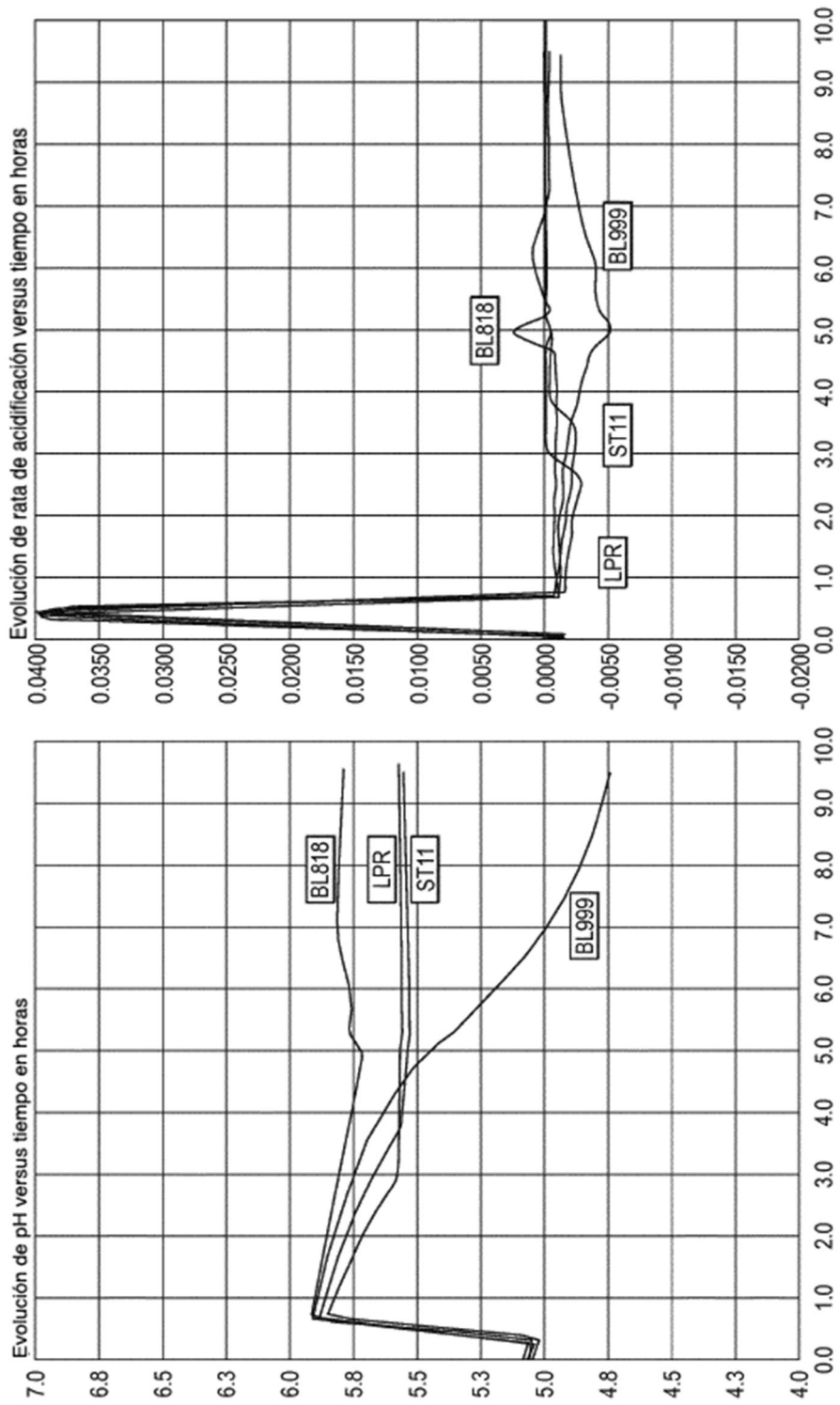


FIG. 6

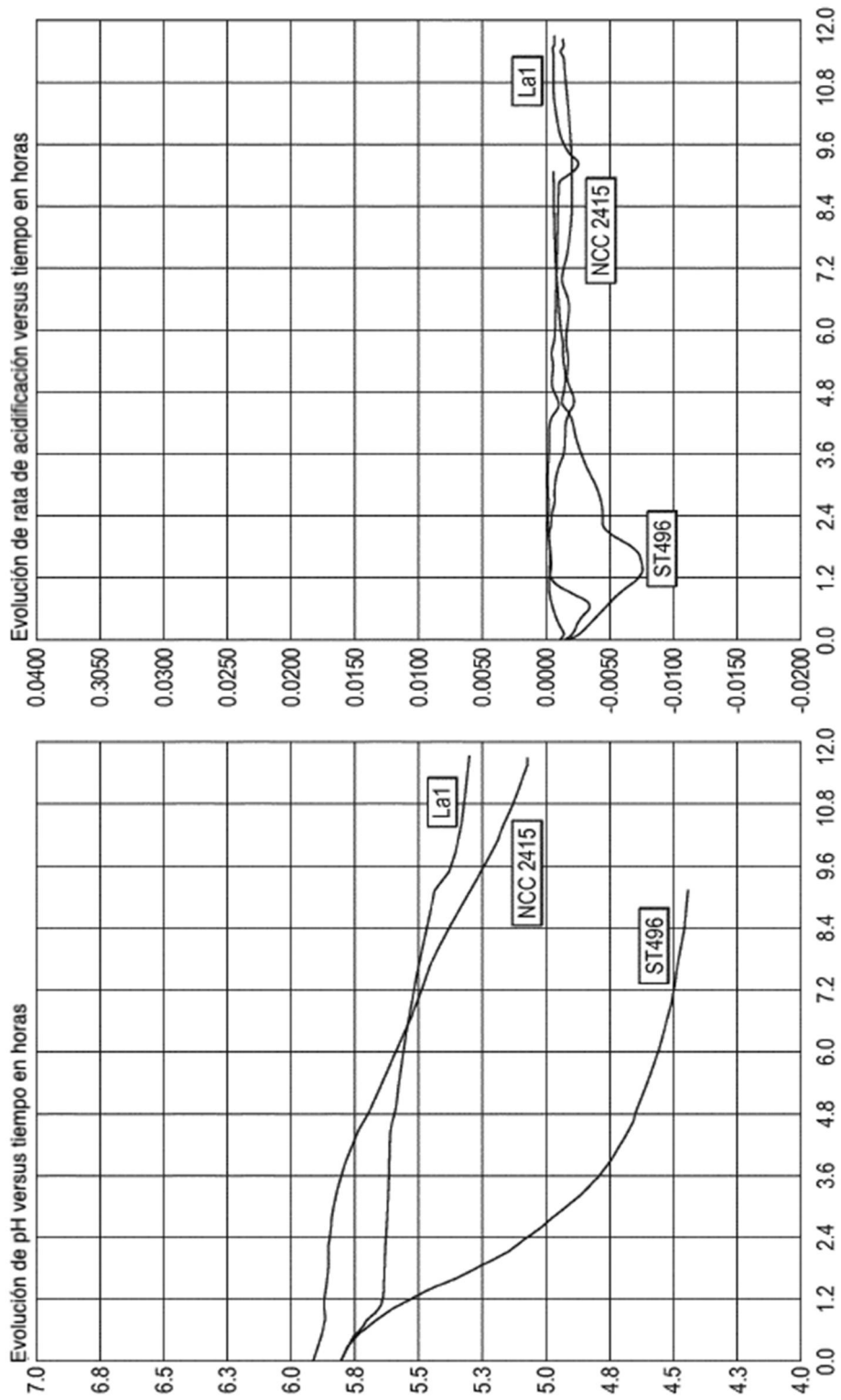


FIG. 7

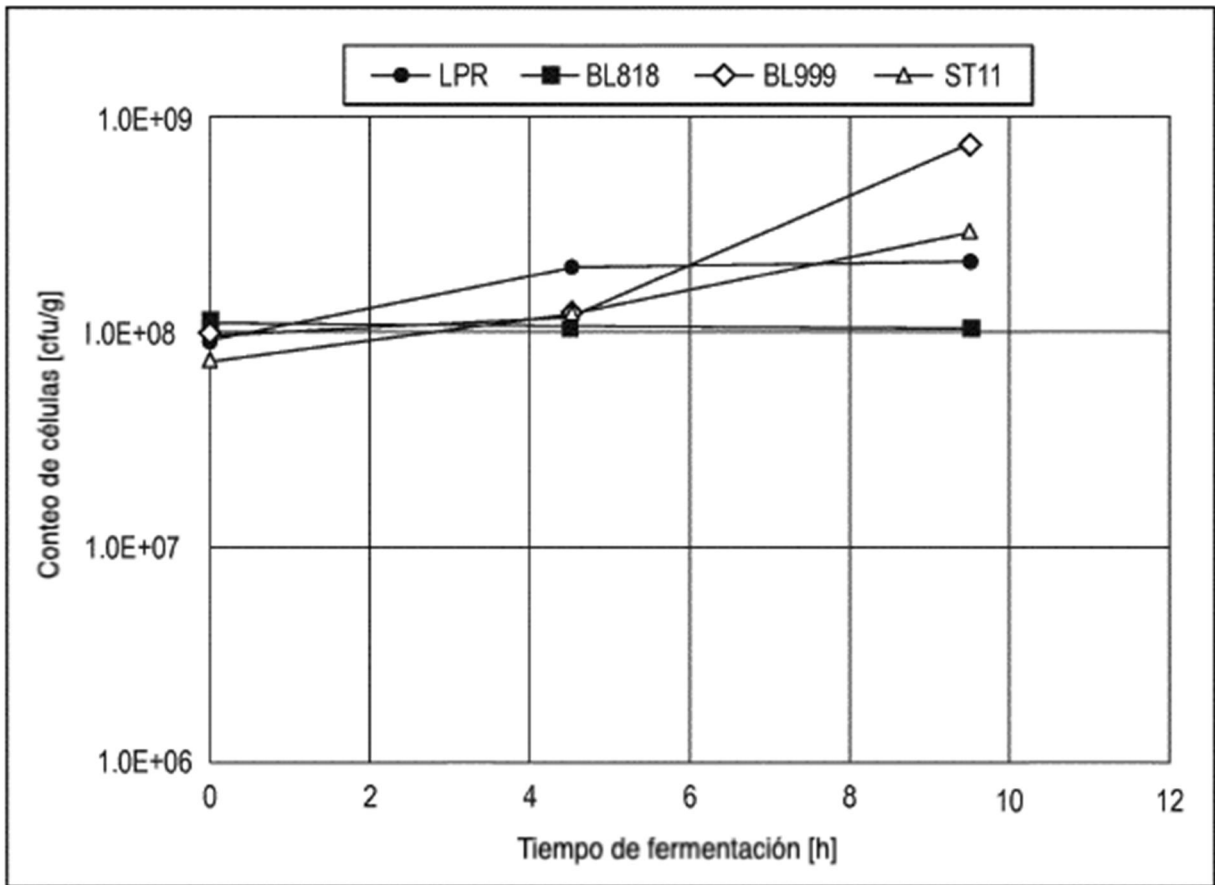


FIG. 8

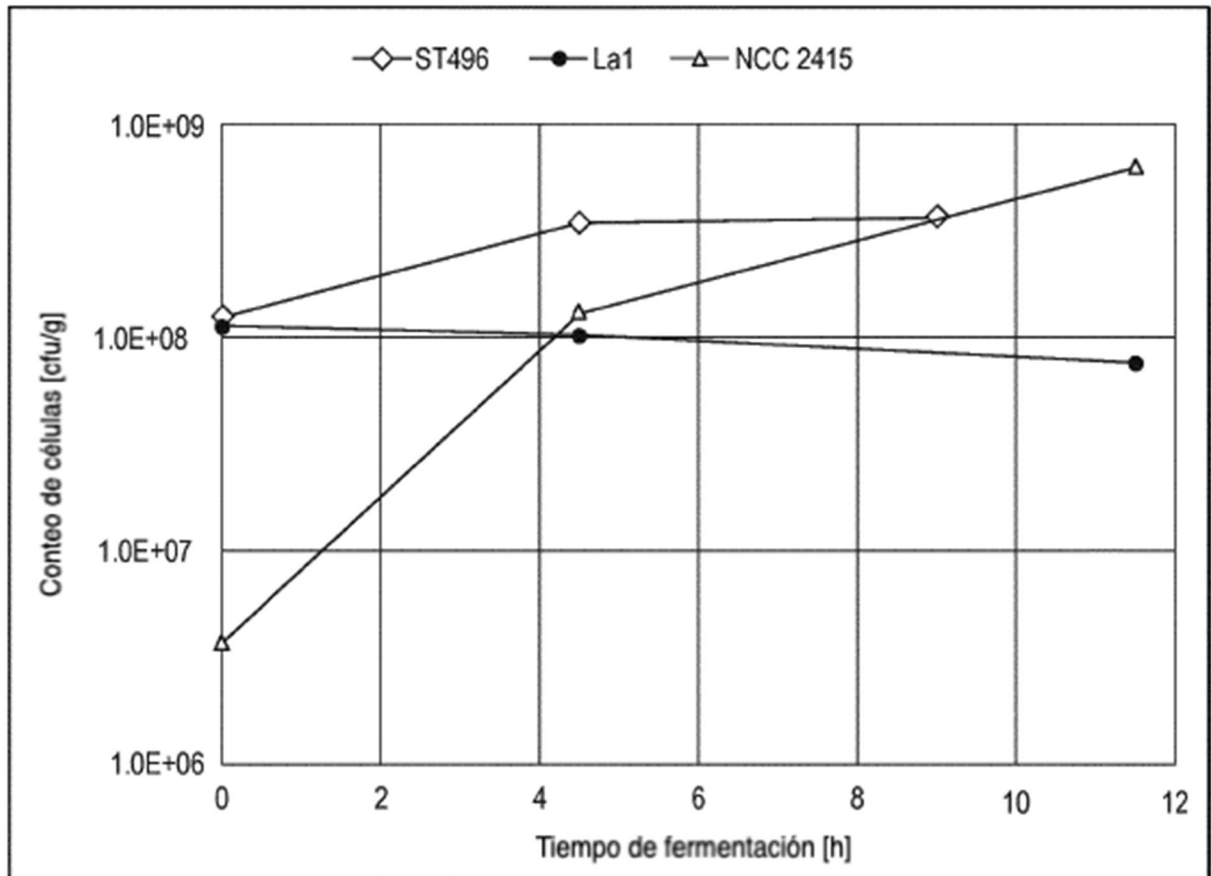


FIG. 9