

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 987 294**

51 Int. Cl.:

A23L 7/104 (2006.01)

A23L 33/135 (2006.01)

A23L 33/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.05.2021 PCT/EP2021/063943**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.12.2021 WO21239750**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.05.2021 E 21726684 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2024 EP 4156966**

54 Título: **Procedimiento para disminuir el ácido fítico en cereales**

30 Prioridad:

25.05.2020 WO PCT/EP2020/064411

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

14.11.2024

73 Titular/es:

**N.V. NUTRICIA (100.0%)
Eerste Stationsstraat 186
2712 HM Zoetermeer, NL**

72 Inventor/es:

**DA SILVA PEREIRA, ANA CATARINA;
LINHART, CAMILLA;
MOES, HANS THOMAS;
SCHOUTEN, BASTIAAN;
SICARD ÉPOUSE BOURDET, RAPHAËLLE y
BONIFACE ÉPOUSE GUIRAUD, AUDREY**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 987 294 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

Procedimiento para disminuir el ácido fítico en cereales

Campo de la invención

- 5 [0001] La invención se encuentra en el campo de los alimentos secos de cereales, en particular como alimentos de destete para bebés y niños pequeños. La presente invención se refiere particularmente al campo de los cereales con biodisponibilidad mineral mejorada.

Técnica anterior

- 10 [0002] Los lactantes después del nacimiento se alimentan normalmente con lactancia materna o una fórmula infantil líquida que es lo más cercana posible al contenido de la leche humana. La lactancia materna y/o la administración de la fórmula infantil típicamente continúa durante el primer año de la infancia. En los primeros 4 a 6 meses de vida esta es la única fuente de nutrición. Sin embargo, típicamente a los 4-6 meses de edad, los bebés desarrollan interés y preparación para otros alimentos, alimentos de destete. Se recomienda que los lactantes al inicio del destete tomen cereales como alimentos de destete. Para satisfacer los requisitos nutricionales, la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de minerales y oligoelementos de los alimentos de destete debe ser alta para soportar las necesidades del bebé y del niño pequeño durante el rápido crecimiento y desarrollo. Los cereales para bebés y niños pequeños son conocidos en la técnica. Los cereales infantiles son composiciones con contenido de cereales que se administran a bebés. Los cereales infantiles se administran usualmente utilizando una cuchara y pueden proporcionarse, por ejemplo, como cereales secos para bebés. Los cereales secos se reconstituyen antes del consumo, por ejemplo, con leche de continuación. Las normas alimentarias internacionales proporcionan directrices sobre qué ingredientes deben contener los cereales infantiles, por ejemplo, la directiva de la UE 2006/125/CE.

- 25 [0003] Sin embargo, los cereales, tales como trigo, sorgo y mijo, contienen ácido fítico (mioinositol hexakisfosfato IP6), un componente natural y una forma de almacenamiento de fósforo de la planta. El ácido fítico se une fuertemente a minerales y oligoelementos tales como Fe^{3+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} y Mg^{2+} en el pH del tracto digestivo (véase Phillippy, Nutr. 2006, 26(3), 146-149). Esto hace que los minerales y oligoelementos no estén disponibles para la absorción. Los minerales en los cereales tienen, por tanto, una bioaccesibilidad reducida y, en consecuencia, una biodisponibilidad reducida. El hierro desempeña varias funciones vitales en el cuerpo, ya que está presente en la hemoglobina, los citocromos de la cadena de transporte de electrones y en algunas enzimas. La deficiencia de hierro es una de las deficiencias nutricionales más comunes, en particular en bebés, niños pequeños y mujeres embarazadas. Esto es especialmente un riesgo en lactantes que comienzan el destete cuando el alimento consumido en la fase de destete se basa únicamente en cereales [y legumbres] y leche, cuando el hierro hemo no es todavía parte de la dieta, y cuando el consumo de leche humana (que proporciona hierro unido a lactoferrina) se reduce. La deficiencia de hierro puede convertirse en anemia, el trastorno nutricional más común en el mundo, en el que los almacenes de hierro del cuerpo se han agotado y el cuerpo no puede mantener los niveles de hemoglobina en la sangre. Especialmente los lactantes, los niños pequeños y las mujeres embarazadas son propensos a esta enfermedad, ya que tienen necesidades de hierro aumentadas, y la OMS ha estimado que el 43 % de los lactantes y niños pequeños del mundo padecen de la misma. La deficiencia de hierro tiene serias consecuencias para la salud y el desarrollo de lactantes y niños pequeños. Se ha demostrado, por ejemplo, que una falta de suministro o absorción suficientes de hierro durante el primer año de vida afecta negativamente al desarrollo neuronal y que este impacto negativo puede ser irreversible. Además, los ancianos a menudo padecen adsorción mineral deteriorada, lo que puede conducir a una deficiencia de hierro (y otros minerales).

- 45 [0004] Los cereales para lactantes pueden reforzarse con hierro con el fin de superar la relación desproporcionada de ácido fítico con respecto a hierro. Sin embargo, y especialmente en países en desarrollo, la fortificación extensiva de cereales infantiles con hierro puede conducir a infecciones graves cuando no todo el hierro es adsorbido, sino que en su lugar alcanza el colon donde los patógenos en la microbiota pueden crecer y proliferar. Por lo tanto, existe la necesidad de abordar el problema del ácido fítico y la deficiencia de hierro en los cereales de otra manera distinta a la fortificación con hierro.

- 55 [0005] WO 2000/072700 describe cereales para lactantes con ácido fítico reducido. El producto cereal se obtiene incubando una mezcla que incluye una base de almidón, una fuente de proteínas que contiene ácido fítico y una harina de cereal de grano entero que es una fuente de fitasa endógena, para reducir el contenido de ácido fítico de la mezcla. La mezcla se calienta entonces para gelatinizar la base de almidón e inactivar la fitasa endógena. WO 2007/04966 se refiere al uso de al menos una cepa de *Lactobacillus plantarum* para la preparación de una composición para aumentar la absorción de al menos un tipo de ion metálico-metal en un mamífero, preferiblemente un ser humano. Se ha demostrado que *Lactobacillus plantarum* no fue capaz de mejorar la biodisponibilidad del hierro tras la fermentación de gachas de harina de avena seguida de la desactivación

bacteriana mediante pasteurización. WO 2014/016398 se refiere a un método para mejorar el valor nutricional reduciendo los factores antinutricionales en un grano alimenticio. Un aspecto de la invención implica hacer una preparación bacteriana que contiene bacterias del ácido láctico viables; y empapar el grano alimenticio en la preparación bacteriana; donde las bacterias del ácido láctico se han eliminado al menos parcialmente de la misma antes de empapar.

[0006] EP1208752, WO98/11788 y US2002/136754 describen métodos para reducir el ácido fítico en composiciones nutricionales. EP1208752 describe un producto de cereales y/o legumbres, particularmente para lactantes, y un procedimiento para fabricar dichos productos que incluye hidrólisis de fibras, acidificación, tratamiento térmico y secado. El cereal se selecciona por ser una fuente de fitasa endógena, y el objetivo es activar la fitasa endógena en los cereales y las enzimas hidrolizantes de fibras simultáneamente, usando acidificación. Para acidificar la composición, se ajusta el pH fermentando la mezcla con una bacteria láctica tal como *Lactobacillus plantarum*, durante un tiempo y a una temperatura favorables para las respectivas actividades tanto de las bacterias del ácido láctico como de la enzima hidrolizante de fibras, especialmente durante 1 a 10 horas a una temperatura de 35 a 45 °C. Existe una gama de bacterias del ácido láctico mencionadas, todas seleccionadas para lograr la fermentación; no hay selección de una bacteria del ácido láctico sobre la actividad fitasa a derivar de EP1208752. En el ejemplo 1, se añadió una mezcla de *Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus sakei*, los ejemplos 2 y 4 usan *Lactobacillus paracasei*, y el ejemplo 3 describe una mezcla de *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus casein*. A pesar de los intentos de la técnica anterior, sigue existiendo la necesidad en la técnica de un proceso para reducir de manera eficiente el contenido de ácido fítico de los cereales fermentados con el fin de aumentar la biodisponibilidad de los minerales presentes en (o añadidos a) los cereales fermentados. La presente invención compensa esta necesidad.

Resumen de la invención

[0007] Los inventores han desarrollado un procedimiento para reducir el contenido de fitato en cereales fermentados. Los inventores han observado por primera vez que la actividad fitasa que está presente en algunas bacterias del ácido láctico que son adecuadas para fermentar cereales, puede usarse después del paso de fermentación para reducir el contenido de ácido fítico de los cereales fermentados. Como tal, el contenido de ácido fítico en cereales fermentados puede reducirse eficazmente. La presente invención se refiere por tanto a un procedimiento para producir una composición de cereales seca, en la que se usan bacterias del ácido láctico positivas para fitasa para fermentar los cereales que contienen ácido fítico en el paso (a), y los cereales fermentados se calientan en el paso (b) para una actividad fitasa óptima para descomponer el ácido fítico.

[0008] La invención se refiere además a la composición de cereales seca que puede obtenerse mediante el procedimiento, y su variante reconstituida lista para alimentar, así como a varios usos o aplicaciones del procedimiento o composición de cereales seca. La composición según la invención tiene un contenido reducido de ácido fítico en comparación con las composiciones convencionales de cereales o cereales fermentados. Por lo tanto, la composición de la invención es útil para aumentar la biodisponibilidad de minerales y/o la bioaccesibilidad de minerales en cereales. Los minerales presentes en la propia composición, así como los de los componentes adicionales de la dieta, con los que se consume la composición de cereales de la invención, son más absorbibles por el cuerpo.

Descripción detallada

[0009] Los inventores han desarrollado un procedimiento para reducir el contenido de fitato en cereales fermentados, evidenciado en harina de sémola de trigo, trigo entero, trigo sarraceno, espelta, arroz y maíz. Los inventores han observado por primera vez que la actividad fitasa de algunas bacterias del ácido láctico que son adecuadas para fermentar cereales, puede usarse después del paso de fermentación para reducir el contenido de ácido fítico de los cereales fermentados. Al mismo tiempo, el crecimiento y/o la actividad metabólica de las bacterias del ácido láctico se reduce o incluso se detiene, inactivando así las bacterias después de que hayan completado el proceso de fermentación. Como tal, el contenido de ácido fítico en cereales fermentados puede reducirse eficazmente. Por lo tanto, la composición de la invención es útil para aumentar la biodisponibilidad de minerales y/o la bioaccesibilidad de minerales en cereales. Los minerales presentes en la propia composición, así como los de los componentes adicionales de la dieta, con los que se consume la composición de cereales de la invención, son mejor absorbidos por el cuerpo. En la presente invención es igualmente aplicable a "fitato" y "ácido fítico", y estos términos se usan indistintamente. En el contexto del fitato y el ácido fítico se refieren al mioinositol hexakisfosfato (IP6).

[0010] Así, un primer aspecto de la invención se refiere a un procedimiento de producción de una composición seca de cereales, que comprende:

(a) fermentar cereales que contienen ácido fítico mediante bacterias del ácido láctico positivas para fitasa a una temperatura por debajo de 45 °C, hasta que se alcanza un pH de como máximo 5.9, preferiblemente por debajo de 5.5,

5 (b) calentar los cereales fermentados obtenidos en el paso (a) a una temperatura en el intervalo de 40-55 °C, durante un periodo de al menos 1.5 h; y

(c) secar los cereales fermentados y tratados con fitasa procedentes del paso (b) para obtener la composición de cereales seca.

El paso a) implica preferiblemente seleccionar una o más bacterias del ácido láctico para la actividad fitasa, por ejemplo, usando la evaluación de la actividad fitasa del ejemplo 1.

10 [0011] En un segundo aspecto, la invención se refiere a una composición de cereales seca obtenible mediante el procedimiento según el primer aspecto de la invención. La composición de cereales seca según la invención también puede definirse de manera que comprende cereales fermentados y bacterias del ácido láctico no replicantes, donde la composición tiene una razón molar de fitato con respecto a hierro de como máximo 1, como
15 máximo 5000 ufc de bacterias del ácido láctico por gramo, y del 0.1 al 1.5 % en peso de ácido láctico y al menos 0.015 mg de hierro por gramo, basándose en el peso seco.

[0012] En un tercer aspecto, la invención se refiere a una composición de cereales lista para alimentar que se puede obtener reconstituyendo la composición de cereales seca según la invención con un líquido de calidad
20 alimentaria.

[0013] En un aspecto adicional, la invención se refiere a la composición de acuerdo con el segundo o tercer aspecto para su uso en proporcionar nutrición a un sujeto en riesgo de deficiencia mineral, preferiblemente en donde el sujeto se selecciona entre bebés, niños pequeños, mujeres embarazadas o en periodo de lactancia y
25 ancianos. Expresado de otro modo, la invención también se refiere a un método para proporcionar nutrición a un sujeto en riesgo de deficiencia mineral, preferiblemente en donde el sujeto se selecciona entre bebés, niños pequeños, mujeres embarazadas o en periodo de lactancia y ancianos, en donde el método implica administrar la composición de acuerdo con el segundo o tercer aspecto al sujeto en riesgo.

[0014] En un aspecto adicional, la invención se refiere a la composición según el segundo o el tercer aspecto para su uso en la prevención de la deficiencia mineral, preferiblemente deficiencia de hierro y/o anemia. Relacionado con esto, el aspecto adicional de la invención se refiere a la composición de acuerdo con el segundo o tercer aspecto para su uso en el aumento de la biodisponibilidad de minerales y/o la bioaccesibilidad de minerales en cereales. Relacionado con esto, el aspecto adicional de la invención se refiere a un método para
30 aumentar la biodisponibilidad de minerales en un sujeto humano, que comprende administrar la composición de acuerdo con el segundo o tercer aspecto, preferiblemente en donde el mineral se selecciona entre hierro, zinc, calcio, magnesio y manganeso. En un aspecto adicional, la invención se refiere al uso del procedimiento según el primer aspecto para disminuir los niveles de ácido fítico en cereales.

[0015] La presente invención implica un procedimiento para producir una composición de cereales seca, la composición de cereales seca que puede obtenerse mediante el procedimiento y su variante reconstituida lista para alimentar, así como varios usos o aplicaciones del procedimiento o la composición de cereales seca. Por lo tanto, todo lo definido a continuación en el presente documento para el procedimiento según la invención se aplica igualmente a la composición de cereales según la invención, y viceversa. Asimismo, todo lo definido a
45 continuación para la composición de cereales según la invención se aplica igualmente a los usos y aplicaciones según la invención.

Procedimiento

[0016] El procedimiento según la invención sirve para producir una composición de cereales seca. En el presente documento, el cereal se fermenta y el contenido de ácido fítico natural disminuye. El procedimiento puede así denominarse también procedimiento de reducción del contenido en ácido fítico de cereales, o preferiblemente de cereales fermentados. Dado que un contenido reducido de ácido fítico conduce a una mayor biodisponibilidad de los minerales, el procedimiento según la invención también puede denominarse, por lo tanto, procedimiento para aumentar la biodisponibilidad de los minerales en cereales, o preferiblemente en cereales fermentados.

55 [0017] El procedimiento según la invención comprende:

(a) fermentar cereales que contienen ácido fítico mediante bacterias del ácido láctico positivas para fitasa a una temperatura por debajo de 45 °C, hasta que se alcanza un pH de como máximo 5.9, preferiblemente por debajo de 5.5, y

(b) calentar los cereales fermentados obtenidos en el paso (a) a una temperatura en el intervalo de 40-55 °C, durante un periodo de al menos 1.5 h; y

(c) secar los cereales fermentados y tratados con fitasa procedentes del paso (b) para obtener la composición de cereales seca.

5 [0018] El procedimiento según la invención puede comprender además un paso (d) antes del paso de secado (c), donde se añaden ingredientes adicionales y se mezclan con los cereales fermentados. El paso (d) se realiza preferiblemente aguas abajo del paso (b), es decir entre el paso (b) y (c). Dichos ingredientes adicionales incluyen preferiblemente al menos una fuente de hierro.

10 [0019] El proceso de acuerdo con la invención puede comprender además un paso (e) entre los pasos (b) y (c), en donde los cereales fermentados se cocinan. Dado que el paso (e) se realiza aguas abajo del paso (b), los cereales fermentados que tienen un contenido reducido de ácido fítico se someten al paso (e).

15 [0020] Se prefiere especialmente que el procedimiento de acuerdo con la invención incluya ambos pasos (d) y (e), en cuyo caso el paso (d) se puede realizar corriente arriba o corriente abajo del paso (e). Preferiblemente, ambos pasos se realizan entre los pasos (b) y (c).

20 [0021] Cualquier cereal puede ser utilizado en el contexto de la presente invención, siempre que contenga ácido fítico. El procedimiento según la invención es capaz de reducir el contenido de ácido fítico incluso en cereales sin ninguna actividad fitasa endógena relevante, incluso después de la fermentación. Los cereales que se someten al procedimiento según la invención se seleccionan preferiblemente de trigo (incluyendo sémola de trigo, trigo integral, espelta, trigo sarraceno), arroz, centeno, cebada, sorgo y mijo, preferiblemente trigo, arroz, sorgo y mijo, incluso más preferiblemente trigo, sorgo y mijo, de la manera más preferible el cereal es trigo. El cereal puede ser una mezcla de cereales, en la que se prefiere que al menos uno se seleccione de la lista anterior. Se sabe que estos cereales contienen cantidades significativas de ácido fítico y son especialmente adecuados para someterse al procedimiento según la invención. En una realización, el cereal no es solo maíz. En una realización especialmente preferida, el cereal es sémola. Se cree que el consumo significativo de estos cereales, sin tomar medidas para reducir el contenido de ácido fítico, puede conducir a un aumento de la deficiencia en minerales tales como el hierro. Los cereales tales como el trigo, el sorgo y el mijo se consumen regularmente en poblaciones africanas y asiáticas, donde también se produce una deficiencia de hierro mayor que la media.

30 [0022] En una realización, los cereales en el paso a) se seleccionan para que no tengan actividad fitasa endógena. Estos podrían ser cereales que se han pretratado con calor para aumentar la seguridad alimentaria, pero que da como resultado la reducción de cualquier actividad fitasa endógena potencial. Por lo tanto, el presente proceso tiene la ventaja de que funciona también en estos casos en los que los cereales se han sometido primero a calor, por ejemplo temperaturas por encima de 80 °C, por ejemplo hervidos o cocidos, dando como resultado cereales pretratados que no tienen actividad fitasa endógena o tienen actividad fitasa endógena reducida.

Paso (a): Fermentación

40 [0023] En el paso (a), los cereales se fermentan mediante bacterias del ácido láctico positivas para fitasa. Por lo tanto, el proceso implica preferiblemente seleccionar una o más bacterias del ácido láctico para la actividad fitasa, por ejemplo, usando la evaluación de la actividad fitasa del ejemplo 1. Dicha fermentación de cereales es conocida por el experto en la materia y puede realizarse de cualquier manera concebible. Por ejemplo, la fermentación puede implicar preparar una suspensión de cereales, precultivar las bacterias del ácido láctico y poner en contacto la suspensión de cereales con las bacterias del ácido láctico precultivadas. Los cereales se someten preferiblemente al paso (a) en forma molida, por ejemplo, en forma de harina de cereales. La suspensión se puede preparar mezclando los cereales con agua, preferiblemente a un contenido total de sólidos en el intervalo del 10-50 % en peso, preferiblemente del 25-40 % en peso.

50 [0024] El paso (a) se realiza a una temperatura por debajo de 45 °C, preferiblemente entre 20 y 45 °C, de la manera más preferible entre 30 y 40 °C. El experto en la materia es capaz de determinar las condiciones óptimas para el crecimiento de las bacterias productoras de ácido láctico. Además, el experto en la materia puede determinar la duración del paso (a). Típicamente, la fermentación puede durar 0.5 - 10 h, más preferiblemente 2 - 7.5 h. En el paso (a), la fermentación continúa hasta que la mezcla de cereales que se fermenta ha alcanzado un pH de como máximo 5.9, preferiblemente por debajo de 5.5, preferiblemente en el intervalo de 5 - 5.5, más preferiblemente en el intervalo de 5 - 5.3, de la manera más preferible en el intervalo de 5.1 - 5.2. Dichos niveles de pH se encontraron especialmente favorables para la realización del paso (b), en términos de actividad fitasa óptima. Adicionalmente, la disminución del pH obtenida por la fermentación del paso (a) proporciona al producto de cereal seco de la invención una vida útil aumentada. Un beneficio adicional del pH por debajo de 5.5 es que se reduce el riesgo de contaminación (bacteriana) y deterioro durante el proceso. Reducir demasiado el pH

obstaculizará el crecimiento de bacterias del ácido láctico, y por lo tanto la producción de enzimas, y puede tener efectos perjudiciales sobre el sabor y la textura del producto final, y por lo tanto no es preferente. Las bacterias del ácido láctico empleadas en el paso (a) son positivas para fitasa. En otras palabras, las bacterias del ácido láctico tienen actividad fitasa. Las bacterias de ácido láctico también pueden denominarse bacterias de ácido láctico que degradan el fitato. Dichas bacterias del ácido láctico son conocidas en la técnica. No todas las bacterias del ácido láctico tienen esta actividad, y el experto en la materia es capaz de determinar si una cepa de bacterias del ácido láctico es positiva para fitasa. En una realización, las bacterias del ácido láctico positivas para fitasa se seleccionan mediante el procedimiento del ejemplo 1. Preferiblemente, el ácido láctico preparado por las bacterias del ácido láctico es predominantemente ácido L-láctico. Preferiblemente, las bacterias del ácido láctico se seleccionan del grupo que consiste en *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Bifidobacterium*. Por ejemplo, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium adolescentis* y *Bifidobacterium bifidum*. En una realización, las bacterias del ácido láctico se seleccionan de los géneros *Lactobacillus*, *Lactococcus* y *Bifidobacteria*. Una cepa especialmente preferida es una cepa de *Lactococcus lactis* CNCM I-5450 como se identifica en el ejemplo 1. Esta cepa ha sido depositada de acuerdo con el Tratado de Budapest en la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM) (Institut Pasteur, 25 Rue du Docteur Roux, París, Francia) el 20 de noviembre de 2019 con el número de referencia CNCM I-5450 de Compagnie Gervais Danone, 17 Boulevard Haussmann, 70009 París, Francia.

[0025] El paso (a) proporciona cereales fermentados y permite el crecimiento de las bacterias del ácido láctico, como tales generando biomasa bacteriana activa en fitasa. Esta mezcla se somete al paso (b) para activar la actividad fitasa. La fermentación del paso (a) aumenta la actividad fitasa de las bacterias del ácido láctico, que se va a activar en el paso (b). Típicamente, el proceso avanza desde el paso (a) hasta el paso (b) simplemente aumentando la temperatura de los cereales fermentados, sin ningún paso intermedio. El paso (a) también puede proporcionar componentes valiosos como los que se obtienen normalmente durante la fermentación (postbióticos). Estos componentes incluyen al menos ácido láctico, y pueden incluir además ácidos grasos de cadena corta, oligosacáridos y otros productos de fermentación. Estos postbióticos se incluyen en la composición de cereales fermentados y mejoran adicionalmente el valor nutricional de la composición de cereales según la invención.

30 Paso (b): Activación de la fitasa

[0026] Los inventores encontraron que el aumento de la temperatura en el paso (b) sorprendentemente redujo aún más el contenido de fitato en los cereales fermentados. En el paso (b), la actividad fitasa en la biomasa bacteriana se activa calentando los cereales fermentados a una temperatura en el intervalo de 40-55 °C, durante un período de al menos 1.5 h. Se encontró que estas condiciones eran óptimas para la actividad fitasa, pero subóptimas o incluso perjudiciales para la actividad metabólica de las bacterias del ácido láctico, de manera que las bacterias ya no se replican, pero se promueve la actividad fitasa. La actividad fitasa estimulada descompone entonces, por hidrólisis, el ácido fítico (mioinositol hexakisfosfato (IP6)) presente en los cereales fermentados. La variante de pentaquisfosfato (IP5) también se descompone durante el paso (b). El aumento de la temperatura a valores más altos eliminó rápidamente cualquier actividad fitasa. El aumento de la temperatura a valores más altos es menos preferido porque puede eliminar rápidamente cualquier actividad fitasa. Aunque se prefiere que el procedimiento de acuerdo con la invención incluya un paso de cocción aguas abajo, es esencial que durante una cantidad significativa de tiempo (al menos 1.5 h) la composición se mantenga a una temperatura elevada muy por debajo de 100 °C para que la actividad fitasa descomponga el ácido fítico. La contaminación por bacterias patógenas, cuya probabilidad aumenta normalmente a la temperatura a la que se realiza el paso (b), se reduce mediante la disminución del pH conseguida durante el paso (a). Además, las bacterias del ácido láctico se inactivan, de manera que se obtiene en general un producto de larga conservación.

[0027] Convenientemente, la suspensión de cereales que se fermentan se somete como tal al paso (b) aumentando la temperatura de la suspensión. El experto es capaz de determinar las condiciones óptimas para el paso (b), por ejemplo, determinando la actividad fitasa y/o el contenido de ácido fítico de los cereales fermentados. Se prefiere alcanzar un pH de 5.5 o inferior durante el paso (b). Preferiblemente, cuando el paso (a) comprende fermentar cereales que contienen ácido fítico mediante bacterias del ácido láctico positivas para fitasa a una temperatura por debajo de 45 °C, hasta que se alcanza un pH por debajo de 5.5, el pH se mantiene más o menos constante durante el paso (b). En una realización, el pH se mantiene por debajo de 5.5, preferiblemente en el intervalo de 5 - 5.5. A dichos niveles de pH, se encontró que la actividad fitasa era óptima. Como tal, la combinación de un paso de fermentación, para reducir el pH a estos niveles, y un paso de activación de fitasa dio resultados óptimos en términos de reducción de fitato.

[0028] Se encontró que una duración de 1.5 h era suficiente para la reducción deseada en el contenido de ácido fítico. Se han obtenido resultados óptimos con una duración de 2 h así como con una duración de 16 h. Preferiblemente, la temperatura del paso (b) se mantuvo durante al menos 2 h, y preferiblemente no más de 24 h, más preferiblemente no más de 16 h. La temperatura a la que se realiza el paso (b) está preferiblemente en el intervalo de 45 - 55 °C, más preferiblemente 45 - 50 °C. El paso (b) se realiza a una temperatura más alta que el

paso (a). Preferiblemente, la temperatura del paso (b) es al menos 2 °C más alta que en el paso (a), más preferiblemente es 3 - 30 °C más alta que en el paso (a), de la manera más preferible es 5 - 25 °C más alta que en el paso (a).

Paso (c): Secado

5 [0029] El procedimiento según la invención proporciona una composición de cereales seca. Por lo tanto, los cereales fermentados que se han tratado con la fitasa activada en el paso (b), se secan en el paso (c). El secado se puede conseguir por cualquier medio o combinación de medios conocidos en la técnica. En una realización preferida, el secado se realiza mediante secado en tambor, que es idealmente adecuado para el secado de suspensiones en polvos o escamas. Alternativamente, puede usarse extrusión.

10 [0030] Típicamente, el secado del paso (c) requiere temperaturas elevadas, tales como por encima de 40 °C o por encima de 45 °C, preferiblemente una temperatura en el intervalo de 100 a 120 °C. Convenientemente, los cereales fermentados obtenidos en el paso (b) no se enfrían, en otras palabras, se mantienen a la temperatura anterior al paso (c), de manera que no se pierde energía y/o no se requiere energía adicional para calentar los cereales fermentados en el paso (b) o (c). Puede requerirse calentamiento adicional hasta una temperatura más alta en el paso (c), dependiendo del tipo exacto de calentamiento usado.

15 [0031] Aunque el contenido de agua o la actividad de agua finales de la composición de cereales seca pueden depender de la naturaleza exacta de la composición, se prefiere que el secado continúe hasta que se consiga una actividad de agua de menos de 0.3.

20 [0032] La composición de cereales seca obtenida en el paso (c) puede procesarse adicionalmente para dar una composición nutricional, por ejemplo, un suplemento nutricional o una composición nutricional para el destete de lactantes. El experto en la materia entiende qué pasos tienen que realizarse para fabricar el producto final deseado. Dicho procesamiento adicional puede incluir uno o varios para complementar con otros ingredientes, tales como una fuente de proteínas, una fuente de lípidos, una fuente de carbohidratos (por ejemplo, lactosa), vitaminas y/o minerales, en particular hierro, peletización, tratamiento térmico, envasado, etc. La composición de cereales seca puede ser reconstituible, en cuanto a que puede reconstituirse con un líquido de calidad alimentaria tal como agua, leche de continuación o leche de vaca. La composición de cereales reconstituida es preferiblemente una composición de cereales lista para consumir. La composición de cereales, en forma seca o después de la reconstitución, se envasa preferiblemente de manera aséptica, como se conoce en la técnica. El envasado aséptico es especialmente preferido para la composición de cereales reconstituida, para proporcionar un producto que contiene cereales listo para consumir que se envasa asépticamente.

Paso (d): Suplementación

35 [0033] En una realización preferida, el procedimiento comprende además un paso en el que los cereales fermentados se complementan con uno o varios ingredientes adicionales, con el fin de optimizar el perfil de nutrientes de la composición final que se obtiene. Dependiendo del tipo deseado de composición, como por ejemplo una nutrición infantil de destete o un suplemento para mujeres lactantes, el experto en la materia sabe qué ingredientes adicionales se añaden preferiblemente. En una realización, el paso (d) implica la suplementación de uno o varios minerales (por ejemplo, una fuente de hierro), vitaminas (por ejemplo, vitamina B1 y/o C), aromatizantes (por ejemplo, aroma de fruta). Como entenderá el experto en la materia, la suplementación del paso (d) incluye mezclar el ingrediente con los cereales fermentados. Dicha mezcla de ingredientes es conocida por el experto en la materia, y puede realizarse, por ejemplo, mezclando los ingredientes a 20-50 °C, normalmente a unos 40 °C, durante hasta 3 h. Si se realiza, el paso (d) tiene lugar preferiblemente aguas arriba del paso de secado (c), y preferiblemente aguas abajo del paso (b).

40 [0034] Como la composición de acuerdo con la invención es particularmente adecuada para una mayor biodisponibilidad mineral de la adsorción mineral por parte de un sujeto, se prefiere que la suplementación del paso (d) incluya al menos una fuente mineral. En el presente documento, se prefiere que la fuente mineral se seleccione de una fuente de hierro, una fuente de zinc, una fuente de calcio, una fuente de magnesio o una fuente de manganeso, o mezclas de las mismas, más preferiblemente al menos una fuente de hierro. Como tal, la adsorción de minerales, en particular hierro, por parte del sujeto al que se administra la composición, mejora aún más. En una realización, no se suplementa hierro. Las fuentes minerales adecuadas son conocidas en la técnica. Por ejemplo, la fuente de hierro puede seleccionarse del grupo que consiste en sulfato ferroso, lactato ferroso, gluconato ferroso, bisglicinato ferroso, citrato ferroso, fumarato ferroso, difosfato férrico, citrato férrico de amonio y mezclas de los mismos, más preferiblemente sulfato ferroso y/o lactato ferroso.

55 [0035] En comparación con las composiciones de cereales de la técnica anterior, la necesidad de suplementación con hierro se reduce mientras se mantiene la misma cantidad de biodisponibilidad de hierro, debido al contenido reducido de fitato. Dicho suplemento de hierro reducido también tiene efectos beneficiosos

para el propio producto, para el que la estabilidad de conservación aumenta adicionalmente con respecto a composiciones de cereales que comprenden una mayor cantidad de hierro suplementado. Además, una cantidad reducida de hierro suplementado tiene efectos beneficiosos sobre la microbiota intestinal y la fisiología intestinal del consumidor.

5 Paso (e): Cocción

[0036] En una realización preferida, el proceso comprende además un paso en el que se cocinan los cereales fermentados. Si se realiza, la cocción del paso (e) tiene lugar preferiblemente entre el paso (b) y (d). En el paso (e), el almidón en la composición de cereales fermentada se cuece o gelatiniza, para obtener almidón pregelatinizado. Especialmente en el caso de que el producto final sea una fórmula infantil o una composición nutricional para el destete de bebés, se recomienda altamente que el almidón se pregelatinice y se realice el paso (e). La cocción o gelatinización del almidón es bien conocida por el experto en la materia. La cocción del paso (e) se puede realizar junto con el secado del paso (c). Especialmente, los secadores de tambor son conocidos en la técnica para secar suspensiones de cereales y al mismo tiempo gelatinizar el almidón. Una manera adecuada de cocinar sería calentar la mezcla durante 5 minutos a 95 °C.

15 Composición de cereales

[0037] La invención se refiere además a una composición de cereales seca. La composición según la invención se puede obtener mediante el procedimiento según la invención. La composición de cereales seca según la invención tiene típicamente una relación molar de fitato con respecto a hierro de como máximo 1. Alternativamente, la composición de cereales seca según la invención puede definirse como una composición que comprende cereales fermentados y bacterias del ácido láctico no replicantes, donde la composición tiene una razón molar de fitato con respecto a hierro de como máximo 1, como máximo 5000 ufc de bacterias del ácido láctico y de 1.0 a 15 mg de ácido láctico y al menos 0.015 mg de hierro por g de peso seco. La invención se refiere además a una composición de cereales lista para alimentar que se puede obtener reconstituyendo la composición de cereales seca según la invención con un líquido de calidad alimentaria. En el presente documento, el líquido de calidad alimentaria se selecciona típicamente entre agua, fórmula de continuación o leche ruminal. La composición de cereales según la invención comprende cereales fermentados por bacterias del ácido láctico positivas para fitasa como se ha definido anteriormente, preferiblemente por *Lactococcus lactis* CNCM I-5450. En una realización, la invención se refiere a una composición de cereales seca que comprende cereales fermentados *Lactococcus lactis* CNCM I-5450, en donde la composición tiene una relación molar de fitato con respecto a hierro de como máximo 1.

[0038] La composición de cereales seca según la invención tiene preferiblemente un nivel de ácido fítico de menos de 50 mcg/g, más preferiblemente menos de 25 mcg/g de la composición.

[0039] La composición de cereales seca según la invención tiene una bioaccesibilidad mejorada y, por tanto, una biodisponibilidad mejorada de minerales, en particular hierro. Además, la composición de cereales seca según la invención tiene propiedades organolépticas y digestivas mejoradas. Esto también se aplica a la composición de cereales lista para alimentar obtenida tras la reconstitución de la composición de cereales seca.

[0040] La composición de cereales según la invención típicamente es o forma parte de una composición farmacéutica o nutricional, preferiblemente una composición nutricional, más preferiblemente un suplemento nutricional, aunque también se contemplan composiciones nutricionales completas, es decir, que proporcionan los requisitos nutricionales completos para un sujeto, dentro del contexto de la presente invención. La composición nutricional puede ser, por ejemplo, un alimento de destete. La composición también puede ser un suplemento nutricional, por ejemplo, un suplemento para mujeres embarazadas o en periodo de lactancia, un suplemento para niños o un suplemento para ancianos. Estos sujetos, bebés lactantes, niños, mujeres embarazadas o en periodo de lactancia y ancianos tienen un mayor riesgo de sufrir deficiencia de hierro, y por lo tanto se benefician más de la composición de acuerdo con la invención. Así, en un aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica o nutricional que comprende la composición de cereales según la invención. Todos los beneficios y la posible aplicación definidos en el presente documento para la composición de cereales según la invención se aplican igualmente a la composición farmacéutica o nutricional según la invención. En una realización preferida, la composición es una composición nutricional, preferiblemente una composición nutricional completa o un suplemento nutricional.

[0041] La composición farmacéutica o nutricional según la invención puede contener, además de la composición de cereales, otros ingredientes. La naturaleza exacta y la relación de estos ingredientes adicionales pueden diferir dependiendo del tipo de composición. El experto en la materia es muy consciente de que los requisitos nutricionales de una nutrición infantil de destete difieren de los de un suplemento para mujeres en periodo de lactancia, y es capaz de ajustar la composición en consecuencia. En una realización, la composición de cereales seca puede reconstituirse con un líquido nutricional o de calidad alimentaria, tal como agua o leche, incluyendo

leche infantil como, por ejemplo, una fórmula de continuación o leche de crecimiento. En una realización alternativa, la composición de cereales seca según la invención es una leche de cereales reconstituible o una leche reconstituible para el destete de bebés, en donde el cereal seco se mezcla con componentes que constituyen una fórmula de seguimiento o para niños pequeños en forma seca, y que se va a reconstituir con calidad alimentaria o como líquido nutricional.

[0042] Los beneficios de la presente invención ya se consiguen en caso de que una parte del cereal presente en la composición se haya tratado de acuerdo con la presente invención. Esto ya reduciría el contenido de fitato y, por tanto, mejoraría la biodisponibilidad de minerales tales como hierro. No obstante, se prefiere que al menos el 50 % en peso, más preferiblemente al menos el 80 % en peso, de la manera más preferible todos los cereales en la composición estén de acuerdo con la presente invención y/o puedan obtenerse mediante el procedimiento de acuerdo con la presente invención.

[0043] La composición de cereales según la presente invención comprende además componentes que se preparan durante la fermentación del paso (a). Esto se refleja en la composición que comprende cereales fermentados. En una forma de realización preferida, la composición contiene al menos un 5 % en peso de cereales fermentados, basado en el peso seco del producto total. Preferiblemente, la composición comprende al menos un 10 % en peso, más preferiblemente al menos un 25 % en peso, incluso más preferiblemente al menos un 40 % en peso basado en el peso seco del producto total de los cereales fermentados. La presente composición comprende como máximo el 100 % en peso basado en el peso seco del producto total de los cereales fermentados. Preferiblemente, la composición comprende como máximo un 90 % en peso, más preferiblemente como máximo un 70 % en peso, incluso más preferiblemente como máximo un 50 % en peso basado en el peso seco del producto total de los cereales fermentados.

[0044] Los cereales fermentados comprenden además típicamente fragmentos de células bacterianas como glicoproteínas, glicolípidos, peptidoglicano, ácido lipoteicoico (LTA), lipoproteínas, nucleótidos y/o polisacáridos capsulares. Es conveniente usar la composición fermentada que comprende bacterias inactivadas y/o fragmentos de células directamente como una parte del producto nutricional final, ya que esto dará como resultado una concentración más alta de fragmentos de células bacterianas. Además, tras la fermentación y/u otras interacciones de bacterias productoras de ácido láctico con el sustrato de leche, pueden formarse compuestos bioactivos adicionales, tales como ácidos grasos de cadena corta, péptidos y/u oligosacáridos bioactivos y otros metabolitos. Tales compuestos bioactivos que se producen durante la fermentación por parte de bacterias productoras de ácido láctico también pueden denominarse postbióticos.

[0045] Como una manera de especificar que la composición nutricional final comprende al menos parcialmente una composición fermentada y de especificar el grado de fermentación, se puede tomar el nivel de ácido láctico en la composición nutricional final, ya que este es el producto final metabólico producido por las bacterias productoras de ácido láctico tras la fermentación. En vista de la fermentación del paso (a), la composición de cereales según la invención comprende ácido láctico, que se forma tras la fermentación por parte de bacterias del ácido láctico. En una realización, la composición comprende del 0.1 al 1.5 % en peso de ácido láctico, más preferiblemente del 0.2 al 1.0 % en peso, basado en el peso seco de la composición nutricional. Se observa que las cantidades de ácido láctico dadas se refieren a la suma de ácido láctico y lactato en caso de que estén presentes ambos. Alternativa o adicionalmente, el ácido láctico puede estar presente en una cantidad de 0.5 - 30 mg por gramo de cereales fermentados, preferiblemente 1 - 15 mg por g de cereales, de la manera más preferible 2 - 10 mg por g de cereales.

[0046] Preferiblemente, al menos el 50 % en peso, incluso más preferiblemente al menos el 90 % en peso de ácido láctico está en forma de isómero L. Por tanto, en una realización, el ácido L-láctico es más del 50 % en peso, más preferiblemente más del 90 % en peso basado en la suma de ácido láctico y lactato totales. El L-lactato y el ácido L-láctico son los mismos que el L-(+)-lactato y el ácido L-(+)-láctico. El ácido L-láctico se metaboliza más fácilmente y reduce el riesgo de acidosis, que puede ser un problema en bebés. Se observa que una de las fuentes de hierro puede ser lactato ferroso. En el caso de que el lactato ferroso se seleccione como fuente de hierro, la cantidad de lactato del mismo se suma a la cantidad de lactato que se forma tras la fermentación por parte de bacterias productoras de ácido láctico. Por lo tanto, en una realización, en caso de que la fuente de hierro sea lactato ferroso, la presente composición nutricional comprende preferiblemente del 0.1 al 1.6 % en peso de ácido láctico, más preferiblemente del 0.2 al 1.1 % en peso, basado en el peso seco de la composición nutricional. El isómero común de lactato en lactato ferroso es L-(+)-lactato.

[0047] El contenido en fitato de la composición según la invención es particularmente bajo. Esto se refleja en la relación molar de fitato con respecto a hierro de como máximo 1, preferiblemente como máximo 0.5, por ejemplo, en el intervalo de 0 - 0.5, más preferiblemente 0.001 - 0.1. Además de que el fitato (o mioinositol hexakisfosfato (IP6)) esté en estos intervalos, también se prefiere que el contenido de la variante de pentakisfosfato (IP5) sea particularmente bajo, preferiblemente de manera que la relación molar de IP5 con respecto a hierro sea como máximo 1, preferiblemente como máximo 0.5, por ejemplo, en el intervalo de 0 - 0.5, más preferiblemente 0.001 - 0.1. De la manera más preferible, el contenido combinado de IP6 e IP5 es tal que la relación molar de IP6 + IP5

con respecto a hierro es como máximo 1, preferiblemente como máximo 0.5, por ejemplo, en el intervalo de 0 - 0.5, más preferiblemente 0.001 - 0.1.

[0048] La composición según la invención contiene bacterias del ácido láctico inactivadas. El contenido total de bacterias del ácido láctico vivas es típicamente como máximo $5 \cdot 10^3$ ufc/g, preferiblemente como máximo $1 \cdot 10^3$ ufc/g.

[0049] Además de los cereales fermentados y todos los componentes que están comprendidos en los mismos, la composición según la invención puede contener ingredientes adicionales, tales como proteínas, lípidos, hidratos de carbono adicionales (digeribles y no digeribles), vitaminas y minerales. La composición comprende preferiblemente minerales, preferiblemente uno o varios minerales seleccionados entre hierro, zinc, calcio, magnesio y manganeso. En una realización preferida, la composición comprende hierro, más preferiblemente todos los minerales mencionados anteriormente.

[0050] La composición según la invención comprende hierro. En el contexto de esta invención, hierro significa Fe^{2+} o Fe^{3+} . Preferiblemente, la composición nutricional comprende hierro no hemo, más preferiblemente una o varias fuentes de hierro seleccionadas del grupo que consiste en sulfato ferroso, lactato ferroso, gluconato ferroso, bisglicinato ferroso, citrato ferroso, fumarato ferroso, difosfato férrico y citrato férrico de amonio, más preferiblemente sulfato ferroso y lactato ferroso. Siempre que en esta descripción se mencione una cantidad o concentración de hierro, esto se refiere a la cantidad o concentración de Fe^{2+} o Fe^{3+} excluyendo así el peso del contraión, por ejemplo, sulfato, lactato gluconato, etc., de la fuente de hierro. Se prefieren fuentes de hierro ferroso ya que las fuentes de hierro férrico necesitan convertirse en hierro ferroso en el cuerpo, cuya capacidad puede limitarse en sujetos humanos con una edad de 0 a 36 meses, por ejemplo, bebés y niños pequeños.

[0051] La presente composición comprende preferiblemente al menos 0.015 mg de hierro por g de peso seco, más preferiblemente al menos 0.03 mg por g de peso seco. Las presentes composiciones comprenden preferiblemente no más de 0.1 mg de hierro por g de peso seco, más preferiblemente no más de 0.065 mg de hierro por g de peso seco, incluso más preferiblemente no más de 0.055 mg de hierro por g de peso seco. Demasiado hierro puede dar como resultado una mala calidad del producto mediante la peroxidación de ácidos poliinsaturados y puede tener efectos adversos sobre la salud. La biodisponibilidad mejorada del hierro encontrada permite concentraciones de hierro ligeramente inferiores a las típicamente presentes en composiciones nutricionales tales como alimentos de destete. La composición comprende además preferiblemente 0.01-1.5 mg de hierro por g de cereales fermentados, más preferiblemente 0.05-1 mg de hierro por g de cereales fermentados, de la manera más preferible 0.1-0.5 mg de hierro por g de cereales fermentados.

[0052] Además del hierro, la composición puede contener también zinc, calcio, magnesio y/o manganeso. En caso de que la composición comprenda uno o varios de estos elementos, están presentes preferiblemente en las siguientes cantidades. En una realización, la composición comprende 0.1 - 50 mg de calcio por g de peso seco, preferiblemente 1 - 25 mg de calcio por g de peso seco, de la manera más preferible 5 - 15 mg de calcio por g de peso seco. En una realización, la composición comprende 1 μg - 1.5 mg de zinc por g de peso seco, preferiblemente 0.01 - 0.5 mg de zinc por g de peso seco, de la manera más preferible 0.05 - 0.17 mg de zinc por g de peso seco. En una realización, la composición comprende 0.05 - 15 mg de magnesio por g de peso seco, preferiblemente 0.1 - 5 mg de magnesio por g de peso seco, de la manera más preferible 0.5 - 1.5 mg de magnesio por g de peso seco. En una realización, la composición comprende 0.01 - 50 μg de manganeso por g de peso seco, preferiblemente 0.05 - 25 μg de manganeso por g de peso seco, de la manera más preferible 0.1 - 11 μg de manganeso por g de peso seco. El contenido de estos minerales es de particular importancia en caso de que la composición de cereal según la invención sea una nutrición infantil de destete, ya que estos están altamente regulados. Por lo tanto, los intervalos para los minerales proporcionados en este documento se aplican en particular a la nutrición infantil de destete de acuerdo con la invención.

[0053] En caso de que la composición de cereales según la invención sea una nutrición infantil de destete, típicamente contiene componentes adicionales tales como proteínas, lípidos, hidratos de carbono adicionales (digeribles y no digeribles) y vitaminas. La definición adicional de la fracción de lípidos, hidratos de carbono y de proteínas proporcionada a continuación en el presente documento se refiere a la nutrición infantil de destete que comprende los cereales fermentados de acuerdo con la invención.

Lípidos

[0054] La composición según la invención contiene típicamente una fracción de lípidos. En ese caso, la presente composición nutricional comprende preferiblemente al menos un lípido seleccionado del grupo que consiste en lípidos animales (excluyendo lípidos humanos) y lípidos vegetales. Preferiblemente, la presente composición comprende una combinación de lípidos vegetales y al menos un aceite seleccionado del grupo que consiste en aceite de pescado, aceite animal, aceite de algas, aceite fúngico y aceite bacteriano. El lípido de la presente composición nutricional proporciona preferiblemente de 3 a 7 g por 100 kcal de la composición nutricional, preferiblemente el lípido proporciona de 4 a 6 g por 100 kcal. Cuando está en forma líquida como, por ejemplo,

un líquido listo para alimentar, la composición nutricional comprende preferiblemente de 2.1 a 6.5 g de lípido por 100 ml, más preferiblemente de 3.0 a 4.0 g por 100 ml. Con respecto al peso seco, la presente composición nutricional comprende preferiblemente del 12.5 al 40 % en peso de lípido, más preferiblemente del 19 al 30 % en peso. Preferiblemente, el lípido comprende los ácidos grasos esenciales ácido alfa-linolénico (ALA), ácido linoleico (LA) y/o ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA). Los LC-PUFA, LA y/o ALA pueden proporcionarse como ácidos grasos libres en forma de triglicéridos, en forma de diglicéridos, en forma de monoglicéridos, en forma de fosfolípidos o como una mezcla de uno o varios de los anteriores. Preferiblemente, la presente composición nutricional comprende al menos una, preferiblemente al menos dos fuentes de lípidos seleccionadas del grupo que consiste en aceite de colza (por ejemplo, aceite de colza con bajo contenido en ácido erúxico y aceite de canola), aceite de girasol alto oleico, aceite de cártamo alto oleico, aceite de oliva, aceites marinos, aceites microbianos, aceite de coco y aceite de palmiste.

Carbohidratos

[0055] La composición según la invención contiene típicamente una fracción de hidratos de carbono. Aunque cualquier carbohidrato comestible conocido en la técnica puede estar presente en la composición según la invención, preferiblemente comprende carbohidratos y/u oligosacáridos digeribles, más preferiblemente ambos.

[0056] En una realización preferida, el carbohidrato digerible comprende uno o varios del grupo que consiste en glucosa, fructosa, galactosa, sacarosa, lactosa, maltosa y las maltodextrinas. En una realización, el carbohidrato digerible comprende lactosa y/o sacarosa, más preferiblemente al menos lactosa. La alta cantidad de lactosa en un producto fermentado sorprendentemente dio como resultado una biodisponibilidad del hierro mejorada. La presencia de cantidades sustanciales de lactosa es poco común en los productos fermentados, ya que la lactosa se convierte normalmente en ácidos orgánicos tras la fermentación. Para evitar esta fermentación adicional de lactosa en el producto, el producto está en forma seca, por ejemplo, en forma de polvo e inactivando las bacterias productoras de ácido láctico en el paso (b). Preferiblemente, la presente composición nutricional comprende al menos el 10 % en peso de carbohidrato digerible basado en el peso seco de la composición nutricional, más preferiblemente al menos el 20 % en peso, incluso más preferiblemente al menos el 30 % en peso basado en el peso seco de la composición nutricional. La presente composición nutricional comprende preferiblemente no más del 75 % en peso de lactosa basado en el peso seco de la composición nutricional, más preferiblemente no más del 60 % en peso, incluso más preferiblemente no más del 50 % en peso basado en el peso seco de la composición nutricional.

[0057] La presente composición nutricional comprende preferiblemente oligosacáridos no digeribles. La presencia de oligosacáridos no digeribles en un producto fermentado sorprendentemente potenció adicionalmente la biodisponibilidad del hierro. Convenientemente y de la manera más preferible, los oligosacáridos no digeribles son solubles en agua (de acuerdo con el método descrito en L. Prosky et al., J. Assoc. Anal. 71: 1017-1023, 1988) y son preferiblemente oligosacáridos con un grado de polimerización (GP) de 2 a 200. El GP medio de los oligosacáridos no digeribles esta preferiblemente por debajo de 200, más preferiblemente por debajo de 100, incluso más preferiblemente por debajo de 60, lo más preferiblemente por debajo de 40. Los oligosacáridos no digeribles no se digieren en el intestino por la acción de enzimas digestivas presentes en el tracto digestivo superior humano (intestino delgado y estomago). Los oligosacáridos no digeribles son fermentados por la microbiota intestinal humana. La presente composición comprende preferiblemente del 1.0 a 20 % en peso de oligosacáridos no digeribles totales, más preferiblemente del 1 al 10 % en peso, incluso más preferiblemente del 2 a 10 % en peso, de la manera más preferible del 2.0 al 7.5 % en peso, basado en el peso seco de la presente composición.

[0058] Los oligosacáridos no digeribles se seleccionan preferiblemente del grupo que consiste en fructooligosacáridos, tales como inulina, dextrinas no digeribles, galactooligosacáridos, tales como transgalactooligosacáridos, xilooligosacáridos, arabinooligosacáridos, arabinogalactooligosacáridos, glucooligosacáridos, gentiooligosacáridos, glucomanooligosacáridos, galactomanooligosacáridos, mananooligosacáridos, isomaltooligosacáridos, nigerooligosacáridos, glucomanooligosacáridos, quitooligosacáridos, oligosacáridos de soja, oligosacáridos de ácido urónico, sialiloligosacáridos, tales como 3-sialilactosa (3-SL), 6-sialilactosa (6-SL), lactosialiliterasacárido (LST) a, b, c, disialilacto-N-tetraosa (DSLNT), sialilacto-N-hexaosa (S-LNH), DS-LNH y fucooligosacáridos, tales como oligosacáridos de fucoidano (no) sulfatados, 2'-fucosilactosa (2'-FL), 3-FL, difucosilactosa, lacto-N-fucopentosa, (LNFP) I, II, III, V, lacto-N-neofucopentosa (LNnFP), lacto-N-difucosil-hexaosa (LNDH) y mezclas de los mismos, incluso más preferiblemente se seleccionan del grupo que consiste en fructooligosacáridos, tales como inulina, galactooligosacáridos, tales como transgalactooligosacáridos, oligosacáridos de ácido urónico y fucooligosacáridos y mezclas de los mismos, incluso más preferiblemente transgalactooligosacáridos, inulina y/u oligosacáridos de ácido urónico, de la manera más preferible transgalactooligosacáridos. En una realización de la composición según la presente invención, los oligosacáridos no digeribles se seleccionan del grupo que consiste en transgalactooligosacáridos, fructooligosacáridos y oligosacáridos de ácido galacturónico y mezclas de los mismos.

[0059] En una realización, los oligosacáridos no digeribles comprenden una mezcla de galactooligosacáridos y fructooligosacáridos. Preferiblemente, la mezcla de galactooligosacáridos y fructooligosacáridos está presente en una relación en peso de 1/99 a 99/1, más preferiblemente de 1/19 a 19/1, incluso más preferiblemente de 1 a 19/1. Esta relación en peso es particularmente beneficiosa cuando los galactooligosacáridos tienen un GP bajo y los fructooligosacáridos tienen un GP relativamente alto. Preferiblemente, los oligosacáridos no digeribles comprenden una mezcla de galactooligosacáridos con un GP promedio inferior a 10, preferiblemente inferior a 6, y fructooligosacáridos con un GP promedio superior a 7, preferiblemente superior a 11, incluso más preferiblemente superior a 20. En una realización, los oligosacáridos no digeribles comprenden una mezcla de galactooligosacáridos y fructooligosacáridos. Preferiblemente, la mezcla de galactooligosacáridos y fructooligosacáridos de cadena corta está presente en una relación en peso de 1/99 a 99/1, más preferiblemente de 1/19 a 19/1, incluso más preferiblemente de 1 a 19/1. Preferiblemente, los oligosacáridos no digeribles comprenden una mezcla de galactooligosacáridos con un GP promedio inferior a 10, preferiblemente inferior a 6, y fructooligosacáridos de cadena corta con un GP promedio inferior a 10, preferiblemente inferior a 6.

[0060] En una realización, los oligosacáridos no digeribles comprenden una mezcla de fructooligosacáridos de cadena corta y fructooligosacáridos de cadena larga. Preferiblemente, la mezcla de fructooligosacáridos de cadena corta y fructooligosacáridos de cadena larga está presente en una relación en peso de 1/99 a 99/1, más preferiblemente de 1/19 a 19/1, incluso más preferiblemente de 1/2 a 19/1, o alternativamente en 2/1 a 1/2, preferiblemente aproximadamente de 1 a 1. Preferiblemente, los oligosacáridos no digeribles comprenden una mezcla de fructooligosacáridos con un GP promedio inferior a 10, preferiblemente inferior a 6, y un fructooligosacárido con un GP promedio superior a 7, preferiblemente superior a 11, incluso más preferiblemente superior a 20.

Proteínas

[0061] La composición según la invención contiene típicamente una fracción proteica. Aunque cualquier proteína comestible conocida en la técnica puede estar presente en la composición según la invención, preferiblemente comprende proteína de leche, por ejemplo, caseína y/o proteína de suero, más preferiblemente ambas. Preferiblemente, la composición comprende una o varias seleccionadas del grupo que consiste en proteína de suero, hidrolizado de proteína de suero, caseína e hidrolizado de caseína. La proteína está presente preferiblemente en una cantidad en el intervalo del 5-25 % en peso, más preferiblemente del 8-20 % en peso, de la manera más preferible del 10-18 % en peso, basándose en el peso seco total.

Aplicación

[0062] Las composiciones de cereales de acuerdo con la presente invención están destinadas al consumo, típicamente consumo humano, y los grupos diana preferidos adicionales se definen a continuación en el presente documento. El consumo de cereales se realiza típicamente después de la reconstitución con un líquido de calidad alimentaria. La composición según la invención tiene un contenido reducido de fitato, en comparación con las composiciones de cereales fermentados convencionales. En vista del contenido reducido de fitato, se incrementa la biodisponibilidad de los minerales de la composición según la invención. Por lo tanto, la composición de acuerdo con la invención es particularmente adecuada para administrarse a sujetos, típicamente sujetos humanos, en riesgo de adsorción mineral reducida, tales como bebés, niños pequeños, mujeres embarazadas o en periodo de lactancia y ancianos. De la manera más preferible, el sujeto es un bebé, especialmente que tiene una edad de 4 - 12 meses. En el presente documento, los lactantes y los niños pequeños se refieren típicamente al grupo de seres humanos que tienen una edad en el intervalo de 0 - 10 años, preferiblemente de 0 - 5 años. En el presente documento, ancianos se refieren normalmente al grupo de seres humanos que tienen una edad superior a 55 años, preferiblemente superior a 65 años.

[0063] En el contexto de la presente invención, el mineral se selecciona preferiblemente de hierro, zinc, calcio, magnesio y manganeso, y preferiblemente incluye al menos hierro. Puesto que se espera que el contenido reducido de fitato afecte positivamente a la biodisponibilidad de todos los minerales, el mineral contiene preferiblemente más de uno de los minerales mencionados anteriormente, más preferiblemente todos ellos.

[0064] En una realización, los métodos y usos definidos en el presente documento son no médicos.

[0065] Por lo tanto, la presente invención se refiere al uso de la composición de cereales según la invención para prevenir la deficiencia de minerales. En otras palabras, la invención se refiere a la composición de acuerdo con la invención para su uso en la prevención de la deficiencia de minerales. En otras palabras, la invención se refiere a un método para prevenir la deficiencia de minerales, que comprende administrar la composición de acuerdo con la invención a un sujeto que lo necesita. En este contexto, la deficiencia de minerales se puede seleccionar de la deficiencia de hierro, la deficiencia de zinc, la deficiencia de calcio, la deficiencia de magnesio y la deficiencia de manganeso, más preferiblemente deficiencia de hierro. En el contexto de la presente realización, la deficiencia mineral puede tomar la forma de anemia. La deficiencia mineral se previene preferiblemente en un sujeto

humano, más preferiblemente en un sujeto humano seleccionado entre lactantes, niños pequeños, mujeres embarazadas o en periodo de lactancia y ancianos. De la manera más preferible, el sujeto humano es un bebé.

5 [0066] Alternativamente, la presente invención se refiere al uso de la composición de cereales según la invención para aumentar la biodisponibilidad de minerales en un sujeto. En otras palabras, la invención se refiere a la composición de acuerdo con la invención para su uso en el aumento de la biodisponibilidad de minerales en un sujeto. En otras palabras, la invención se refiere a un método para aumentar la biodisponibilidad de minerales en un sujeto, que comprende administrar la composición de acuerdo con la invención a un sujeto que lo necesita. En este contexto, la biodisponibilidad de minerales también puede denominarse adsorción de minerales. La
10 biodisponibilidad de los minerales aumenta preferiblemente en un sujeto humano, más preferiblemente en un sujeto humano seleccionado entre lactantes, niños pequeños, mujeres embarazadas o en periodo de lactancia y ancianos. De la manera más preferible, el sujeto humano es un bebé.

15 [0067] Alternativamente, la invención se refiere además a la composición de cereales según la invención para proporcionar nutrición a un sujeto en riesgo de deficiencia mineral. En otras palabras, la invención se refiere a la composición de acuerdo con la invención para proporcionar nutrición a un sujeto en riesgo de deficiencia mineral. En otras palabras, la invención se refiere a un método para proporcionar nutrición a un sujeto en riesgo de deficiencia de minerales, que comprende administrar la composición de acuerdo con la invención a un sujeto que lo necesita. En este contexto, la deficiencia de minerales se puede seleccionar de la deficiencia de hierro, la deficiencia de zinc, la deficiencia de calcio, la deficiencia de magnesio y la deficiencia de manganeso, más preferiblemente deficiencia de hierro. En el contexto de la presente realización, la deficiencia mineral puede tomar la forma de anemia. El sujeto es preferiblemente un sujeto humano, más preferiblemente un sujeto humano seleccionado entre lactantes, niños pequeños, mujeres embarazadas o en periodo de lactancia y ancianos. De la manera más preferible, el sujeto humano es un bebé.
25

[0068] El procedimiento según la invención puede usarse para aumentar la biodisponibilidad de minerales en cereales (secos). Esto se consigue reduciendo el contenido de fitato mediante el procedimiento según la invención. Así, en un aspecto, la invención se refiere al uso del procedimiento según la invención para aumentar la biodisponibilidad de minerales en cereales. En este contexto, la biodisponibilidad de minerales también puede denominarse bioaccesibilidad de minerales. Otro aspecto de la invención se refiere al uso del procedimiento según la invención para reducir o disminuir los niveles de ácido fítico en los cereales.
30

[0069] En el contexto de la presente invención, la bioaccesibilidad es la cantidad de un nutriente ingerido, por ejemplo hierro, que está potencialmente disponible para absorción por el cuerpo (humano), y depende de la digestión y/o liberación de la matriz alimentaria. La biodisponibilidad es la cantidad de un nutriente ingerido que se absorbe y está disponible para funciones fisiológicas, y depende de la digestión y/o liberación de la matriz alimentaria, la absorción por células intestinales y el transporte a las células corporales. La absorción es la entrada de un nutriente en la célula, y depende de la digestión y/o liberación de la matriz alimentaria.
35

40 [0070] En el contexto de la presente invención, la anemia es una disminución en el número de glóbulos rojos o menos de la cantidad normal de hemoglobina en la sangre. La anemia se refiere en particular a anemia por deficiencia de hierro, es decir anemia causada por insuficiente biodisponibilidad del hierro. La anemia por deficiencia de hierro está causada por una ingesta dietética y una absorción de hierro insuficientes y causa aproximadamente la mitad de todos los casos de anemia en el mundo. De acuerdo con la OMS, la anemia se define como un contenido de hemoglobina de menos de 6.83 mmol/l de sangre en bebés o niños pequeños de 6 meses a 5 años, de menos de 7.13 mmol/l en niños de 5 a 11 años de edad, de menos de 7.45 mmol/l en adolescentes de 12 a 14 años de edad, de menos de 7.45 mmol/l en mujeres no embarazadas con edad superior a 15 años, de menos de 6.83 mmol/l en mujeres embarazadas y de menos de 8.07 mmol/l en hombres superiores a 15 años de edad. Los síntomas son palidez, fatiga, mareo y debilidad. Otros síntomas pueden ser dolores de cabeza, problemas para dormir, pérdida de apetito, palidez, resistencia reducida a la infección, uñas frágiles. La anemia por deficiencia de hierro para lactantes en sus primeros estadios de desarrollo tiene mayores consecuencias que para adultos. Un bebé con deficiencia de hierro grave durante su vida temprana no puede recuperarse hasta niveles de hierro normales incluso con terapia con hierro. La anemia por deficiencia de hierro afecta al desarrollo neurológico disminuyendo la capacidad de aprendizaje, alterando negativamente las funciones motoras y afectando negativamente al funcionamiento socioemocional, por ejemplo, el comportamiento. Adicionalmente, la anemia por deficiencia de hierro tiene un efecto negativo sobre el crecimiento físico. En mujeres embarazadas, de las cuales se estima que el 50 % sufre de deficiencia de hierro o anemia, hay una necesidad mayor de hierro. La anemia puede aumentar el riesgo de bebés prematuros o de peso pequeño al nacer.
50
55
60

[0071] En el contexto de la presente invención, la deficiencia de hierro (sideropenia o hipoferriemia) es un paso que precede a la anemia por deficiencia de hierro. El cuerpo tiene niveles de hierro inferiores a los adecuados. Puede determinarse, por ejemplo, midiendo un valor anormal para al menos dos de los tres indicadores siguientes, ferritina en suero, saturación de transferrina y protoporfirina de eritrocitos libres, mientras que todavía tiene un contenido de hemoglobina por encima del umbral para anemia. La anemia por deficiencia de hierro
65

consiste en valores anormales de 2 de 3 indicadores con anemia (un contenido de hemoglobina por debajo del umbral para anemia).

5 [0072] En el contexto de la presente invención, "prevención" de una enfermedad o cierto trastorno también significa "reducción del riesgo" de una enfermedad o cierto trastorno y también significa "tratamiento de un sujeto humano en riesgo" de dicha enfermedad o dicho cierto trastorno.

Ejemplos

[0073] Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

Ejemplo 1: Evaluación de la actividad fitasa

10 [0074] Se ensayó un conjunto de 867 cepas de bacterias probióticas del ácido láctico para determinar su actividad fitasa. El conjunto contenía 530 cepas del género *Lactobacillus*, 23 cepas del género *Leuconostoc*, 254 cepas del género *Bifidobacterium* y 60 cepas del género *Pediococcus*. Todas las cepas se cultivaron en un medio que carece de fósforo. Se modificó un medio MRS neutro para reducir su concentración de fosfato. Esta modificación estaba destinada a permitir medir el fosfato liberado por la degradación del fitato sin alcanzar el
15 umbral de saturación del intervalo estándar. Para ello se separaron fracciones que contenían altas concentraciones de fosfato, por ejemplo, extracto de levadura y fosfato potásico, y para compensar estos componentes se añadió una mezcla de vitaminas B y sulfato de hierro. Después de la fermentación, los cultivos o sobrenadantes se incubaron en presencia de fitato sódico y se midió el fósforo disponible total liberado de las muestras. Se usó un método cuantitativo para medir el "fósforo disponible" total liberado desde las muestras. La
20 actividad fitasa se midió en términos de fosfato inorgánico liberado por el ácido fítico por parte las cepas usando un kit de ensayo Megazyme. Se añadió fitato y se determinó la presencia de fosfato libre usando el kit de ensayo de fosfato QuantiChrom (DIPI-500), de BioAssay Systems. La presencia de fosfato libre fue indicativa de actividad fitasa. 66 cepas mostraron actividad degradante del fitato (7.6 %). De las 142 cepas de *L. lactis* probadas, 5 cepas (3.5 %) mostraron actividad de degradación de fitasa. Cuando se combinan los criterios de
25 selección de propiedades de degradación de fitasa altas con otras propiedades tecnológicas de producto deseadas, la cepa de *Lactococcus* CNCM I-5450 fue la cepa más preferida.

Ejemplo 2

[0075] Se preparó una suspensión de cereales de sémola de trigo (Alpina Savoie) añadiendo cereales de trigo
30 crudos secos y molidos dispersados en agua. El cereal tenía una cantidad de ácido fítico de 200 mg/100 g. La cantidad de hierro en el ingrediente en bruto fue de 0.8 mg/100 g. La suspensión de cereales tenía una materia seca de aproximadamente el 30 % en peso basándose en el peso total. La suspensión de cereales se agitó de manera constante entre 600 - 800 rpm y se calentó hasta 30°C. Esta temperatura es óptima para el crecimiento de la cepa de *Lactococcus lactis* que se utilizó para la degradación del fitato. El pH inicial de esta suspensión fue de aproximadamente 6.

35 [0076] Una solución madre de una cepa de *L. lactis* CNCM I-5450 positiva para fitasa, identificada en el ejemplo 1, se cultivó en medio LM17, y se almacenó en alícuotas de glicerol al 40 % a -80 °C. La suspensión de cereales se inoculó a partir de esta solución madre a una densidad de aproximadamente 6.2 log UFC/g basándose en el peso total. Las bacterias se propagaron. El crecimiento bacteriano tuvo lugar hasta que se alcanzó un pH de 5.15. La acidificación a este nivel de pH llevó aproximadamente 5.5 h. A este pH, se encontró que la actividad de la fitasa de la harina de trigo era óptima. Durante esta fase 1, las condiciones eran ideales para que se produjera el crecimiento bacteriano, y se observó un aumento de más de 2 log UFC/g y se alcanzó un crecimiento promedio de hasta un nivel de 8.4 log UFC/g (véase la tabla 2).

45 [0077] Una vez que el pH alcanzó 5.15, comenzó la segunda fase del procedimiento, donde se produjo la degradación del ácido fítico. La segunda fase se realizó en cuatro etapas distintas (véase la tabla a continuación). En la etapa F1, la temperatura de la suspensión fermentada por el *L. lactis* se aumentó a 55 °C, después de lo cual la suspensión se mantuvo a esa temperatura durante como máximo 16 horas. Durante este tiempo, las bacterias no acidificaron adicionalmente el medio en un grado significativo (el pH se redujo a
50 aproximadamente 5.05) y se bloquearon en una fase estacionaria. No se observó disminución en las UFC/g totales. En el proceso de control F2, la temperatura en el segundo paso se mantuvo a 30 °C y el pH se mantuvo constante a 5.15 mediante la adición de hidróxido de sodio 1 M, durante lo cual se observó algún crecimiento bacteriano adicional. En la etapa F3, la temperatura en el segundo paso se elevó a 55 °C y el pH se mantuvo constante a 5.15 mediante la adición de hidróxido de sodio 1 M. Al igual que para el proceso F1, las bacterias se
55 bloquearon en una fase estacionaria, donde no se observó ninguna disminución en las UFC/g totales. Por último, en el proceso F4, la temperatura en la segundo paso se mantuvo a 30 °C y el pH no se controló. Las bacterias se replicaron (se observó un aumento adicional en las UFC) y se acidificó adicionalmente el medio hasta un nivel de aproximadamente 4.3.

Tabla 1.

Entrada	Temperatura del paso (2)	pH del paso (2)
F1	50 °C	No controlado (disminuido a 5.05)
F2	30 °C	Controlado a 5.15
F3	50 °C	Controlado a 5.15
F4	30 °C	No controlado (disminuido a 4.3)

5 [0078] Para las cuatro etapas, las muestras se recogieron en cuatro puntos temporales diferentes durante el proceso (a $t = 0$, $t = 5.5$ h (final de la fase 1), $t = 7.5$ h y $t = 21$ h). Las muestras se centrifugaron a 4 °C durante 10 minutos a 9000 x g. Se recogió el sobrenadante y las muestras se trataron térmicamente (5 min a 95 °C) con el fin de inactivar la actividad fitasa o cesar cualquier actividad metabólica restante de las bacterias. El nivel de fosfato libre se determinó usando el kit de ensayo de fosfato QuantiChrom (DIPI-500), de BioAssay Systems. La liberación de fosfato libre durante el proceso es una indicación de la degradación del ácido fítico. La concentración de ácido fítico se calcula a partir de la concentración de fosfato libre, suponiendo que todo el ácido fítico presente está en forma de inositolhexafosfato (IP6), y que, para hacer el hierro bioaccesible, deben liberarse dos moléculas de fosfato, convirtiendo IP6 en IP4. De acuerdo con la literatura, las formas inferiores de fitato (de IP1 a IP4) tienen un efecto inhibitorio inferior sobre la absorción de hierro.

15 [0079] Durante la fase 1 (fase de crecimiento bacteriano), que termina en $t = 5.5$ h, no se observó ningún aumento significativo en el fosfato libre. A $t = 7.5$ h, se observó un aumento en el fosfato libre para los procesos F1 y F3 (se formaron 214.4 $\mu\text{g/ml}$ y 179.7 $\mu\text{g/ml}$ de fosfato libre, respectivamente), mientras que para los procesos F2 y F4 no se observó ningún aumento significativo en el fosfato libre. A $t = 21$ h, para los procesos F1 y F3 se observó un aumento adicional del fosfato libre a 405,3 $\mu\text{g/ml}$ y 446,6 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente, mientras que para el proceso F2 se observó un aumento muy pequeño a 108.7 $\mu\text{g/ml}$ y para el proceso F4 apenas se observó ningún aumento (a 4.4 $\mu\text{g/ml}$). En los procesos F1 y F3, la temperatura aumentó a 55 °C al cambiar a la fase 2. En los procesos de control F2 y F4, donde la fase 2 funcionaba a 30 °C, no se observó un aumento significativo del fosfato libre, independientemente de la disminución del pH. Por lo tanto, se puede concluir que la combinación de temperatura y pH influye en la actividad fitasa, y el pH entre 5.05 - 5.15 y la temperatura de aproximadamente 55 °C son ideales para degradar el fitato. La cantidad de ácido L-láctico con F1 y F2 fue de aproximadamente 40 $\mu\text{mol/g}$ a $t = 21$ h, que corresponde a aproximadamente 3.6 mg/g o 0.36 % en peso basado en el peso seco. La cantidad de ácido D-láctico estaba por debajo del nivel de detección.

30 Tabla 2: Los resultados de las concentraciones de *L. lactis* y las concentraciones de fosfato libre ($t = 0$ se establece en cero) se dan en la tabla siguiente:

Entrada	<i>L. lactis</i> (log ufc/g)			Fosfato libre ($\mu\text{g/ml}$)			
	$t = 0$ h	$t = 5.5$ h	$t = 21$ h	$t = 0$ h	$t = 5.5$ h	$t = 7.5$ h	$t = 21$ h
F1	6.2	8.4	8.5	0	-16.6	214.4	405.3
F2	6.2	8.2	8.9	0	57.9	47.0	108.7
F3	6.2	8.7	8.9	0	87.6	179.7	446.6
F4	6.2	8.3	8.7	0	-66.1	7.1	4.4

35 [0080] Para superar el efecto inhibitorio del ácido fítico sobre la biodisponibilidad del hierro, la relación molar de ácido fítico con respecto a hierro debe ser como máximo 1. Teniendo en cuenta la concentración inicial de ácido fítico en la harina de trigo cruda, se calculó que se necesita una concentración final de ácido fítico de como máximo 9.46 mg por 100 g del ingrediente cereal para evitar el efecto inhibitorio sobre la biodisponibilidad del hierro. Esta concentración se alcanzó únicamente con los procedimientos F1 y F3. Se eligió hierro para este análisis puesto que es uno de los minerales más afectados por la presencia de ácido fítico, que presenta una de las relaciones más altas de ácido fítico con respecto a mineral, pero estos resultados son igualmente aplicables a otros minerales. En la tabla 3 se muestra que para ambos procesos F1 y F3, la concentración de ácido fítico fue inferior al nivel objetivo de 9.46 mg por 100 g de cereal en $t = 7.5$ h, y disminuyó adicionalmente en $t = 21$ h. Hasta el final del experimento en $t = 21$ h, no se observó una disminución significativa en la concentración de ácido fítico tanto para los procesos F2 y F4.

Tabla 3:

Entrada	Ácido fítico (mg/100 g)			
	t = 0 h	t = 5.5 h	t = 7.5 h	t = 21 h
F1	200	219	0	0
F2	200	134	146	75
F3	200	100	0	0
F4	200	276	192	195

5 [0081] Puede concluirse que, usando un proceso de fermentación de dos pasos, en el que las condiciones se establecen inicialmente para favorecer el crecimiento bacteriano seguido de una segunda fase que favorece la actividad fitasa, el ácido fítico puede reducirse a una relación de ácido fítico a hierro a la que el ácido fítico ya no tiene un efecto inhibitor sobre la bioaccesibilidad y absorción del hierro.

Ejemplo 3:

10 [0082] Un suplemento nutricional según la presente invención puede tener la siguiente composición (basada en el peso seco):

Cereales fermentados producidos por el proceso F3 del ejemplo 1	99.999 % en peso
Tiamina	0.84 mg/100 g

Ejemplo 4:

15 [0083] Un suplemento nutricional según la presente invención puede tener la siguiente composición (basada en el peso seco):

Cereales fermentados por bacterias del ácido láctico positivas para fitasa (mezcla de harina de trigo, almidón de maíz, harina de arroz, harina de centeno (85/1/1/12))	75 % en peso
Azúcar	24 % en peso
Lecitina de soja	0.12 % en peso
Aceite de palma	1 % en peso
Ácido ascórbico	0.12 % en peso
Pirofosfato de Fe(III)	0.03 % en peso
Bacterias del ácido láctico vivas	< 10 ³ ufc/g
Ácido L-láctico	0.1 - 0.2 % en peso
Ácido fítico	< 1 mg/100 g
Ácido fítico/hierro	< 1

[0084] Este producto se envasa y se consume después de la reconstitución con un líquido adecuado. Por ejemplo, 25 g del suplemento y 200 ml de fórmula de continuación lista para beber, la fórmula para niños pequeños, la leche de vaca, cabra u oveja, forman juntos una composición nutricional lista para consumir.

20 **Ejemplo 5**

[0085] Una composición nutricional para el destete de bebés de acuerdo con la presente invención, en forma de un polvo reconstituible. Contiene los cereales fermentados según F1 o F3 del ejemplo 1, suero de leche

ES 2 987 294 T3

desmineralizado en polvo, leche desnatada en polvo, sacarosa, grasa vegetal, maltodextrina, mezcla mineral (entre carbonato de calcio y pirofosfato férrico), una mezcla de vitaminas y sabores. Puede tener los siguientes ingredientes (por 100 g de peso seco):

Componente	Intervalo preferido	Ejemplo
Sémola de trigo duro fermentada	15 - 50 g	37 g
Leche desnatada en polvo	5-20	16
Mezcla de grasa vegetal	3 - 20 g	9 g
Polvo de suero de leche desmineralizado	10 - 35 g	23 g
sacarosa	2 - 20 g	10 g
hierro	4-20 mg	8.58 mg
calcio	300-600 mg	484 mg
Mezcla de vitaminas	0 - 1 g	
Otros ingredientes secundarios se añaden hasta los 100 g		

5 **Ejemplo 6**

[0086] Se preparó una suspensión de cereales de sémola de trigo dispersando harina molida cruda en agua. El cereal tenía una cantidad de 200 mg/100 g. La cantidad de hierro en el ingrediente en bruto fue de 0.8 mg/100 g. La suspensión de cereales tenía una materia seca de aproximadamente el 30 % en peso basándose en el peso total. La suspensión de cereales se agitó de manera constante entre 600-800 rpm y se calentó hasta 37 °C. Esta temperatura se probó después de una optimización adicional del paso de crecimiento bacteriano de la cepa de *Lactococcus lactis* positiva para fitasa utilizada para la degradación del fitato. El pH inicial de esta suspensión fue de aproximadamente pH 6.

[0087] La suspensión de cereales se inoculó a partir de la solución madre congelada descrita en el ejemplo 2. La suspensión de cereales se inoculó a partir de esta solución madre a una densidad de aproximadamente 7.6 log UFC/g basada en el peso total (tabla A, entrada F1). Las bacterias se propagaron. El crecimiento bacteriano tuvo lugar durante 1 hora y 30 minutos. Este tiempo de incubación reveló ser suficiente para activar la bacteria y aumentar un mínimo de 0.5 log UFC/g y reducir el pH del medio a 5.7, más cerca del pH óptimo de la actividad fitasa.

[0088] Después, se inició la segunda fase del procedimiento, donde se produjo la degradación del ácido fítico. La temperatura de la suspensión fermentada por la cepa de *L. lactis* se elevó a 45 °C, ya que se encontró que era una temperatura ideal no solo para promover la actividad fitasa sino también para reducir el riesgo de gelatinización de los cereales. Esta temperatura se mantuvo durante 2 horas. Durante este tiempo, las bacterias no siguieron acidificando el medio por debajo de pH 5.3. No se observó ningún aumento adicional en UFC/g.

[0089] Se añadió una segunda etapa al experimento (tabla A, F2) siguiendo el mismo procedimiento que F1, pero deteniendo la reacción después de 1 hora y 30 minutos de tiempo de incubación.

[0090] Se añadió una tercera etapa al experimento (tabla A, F3) después de la segunda fase descrita para F1 iniciando la reacción a 45 °C y pH 5.15. La suspensión de cereales se inoculó a partir de la misma solución madre a una densidad de aproximadamente 7.2 log UFC/g basándose en el peso total, y la reacción se detuvo después de 2 h de incubación.

[0091] Finalmente, se añadió una cuarta etapa al experimento (tabla A, F4) siguiendo el mismo procedimiento que F1, pero sin inoculación bacteriana. Después de 1 h y 30 min de incubación a 37 °C, la temperatura se aumentó a 45 °C y el pH se corrigió a 5.15. Después de 2 h de incubación, se detuvo la reacción.

Tabla A:

Entrada	Descripción detallada	Paso a (1 h 30 min)	Paso b (2 h)
F1	Proceso optimizado	37 °C	45 °C
F2	Control con inoculación bacteriana (solo fase 1)	37 °C	
F3	Control con inoculación bacteriana (solo fase 2)		45 °C (pH corregido a 5.15*)

Entrada	Descripción detallada	Paso a (1 h 30 min)	Paso b (2 h)
F4	Control (sin inoculación)	37 °C	45 °C (pH corregido a 5.15*)
* Se usó ácido láctico			

[0092] En las 4 etapas, las muestras se recogieron en puntos temporales específicos durante el proceso. Las muestras se trataron de manera similar a la explicada en el ejemplo 2 con el fin de cuantificar el fosfato libre liberado durante el proceso, lo que a su vez es una indicación de la degradación del ácido fítico.

[0093] La optimización adicional de la fase de crecimiento de la cepa bacteriana en sémola de trigo (paso a) de las entradas F1 y F2) dio como resultado un rendimiento aumentado de fosfato libre después de una incubación de 1.5 h (158.8 µg/ml y 165.9 µg/ml para F1 y F2, respectivamente). Con F1 continuando en la fase 2, la liberación de fosfato libre aumentó a 414.2 µg/ml después de 2 h de tiempo de incubación. Esto muestra que la combinación de un paso de crecimiento y un paso enzimático es ideal para lograr una mayor degradación del ácido fítico. Se hace referencia a los resultados dados en la Tabla B.

[0094] Iniciar la incubación bacteriana con las condiciones ideales para la actividad enzimática (F3) reveló ser perjudicial no solo para el crecimiento bacteriano (por debajo de log 3 ufc/g después de 2 h de tiempo de incubación) sino también para la liberación de fosfato libre (logrando una liberación de fosfato libre de 96.8 µg/ml después de 2 h de tiempo de incubación).

[0095] El proceso optimizado también se realizó, pero sin inoculación bacteriana (entrada F4). Se muestra que después de 1.5 h de tiempo de incubación, se observó un aumento de fosfato libre hasta los 114.5 µg/ml. Continuando en la fase 2, la liberación de fosfato libre aumentó a 200.5 µg/ml. Sin embargo, a partir de los datos está claro que la inoculación bacteriana aumentó la liberación de fosfato libre a más del doble (F1) en comparación con la versión no inoculada.

Tabla B:

Entrada	Log ufc/g				Fosfato libre (µg/ml)			
	T = 0 h	T = 1.5 h	T = 2 h	T = 3.5 h	T = 0 h	T = 1.5 h	T = 2 h	T = 3.5 h
F1	7.6	8.1	-/-	7.6	0.0	158.8	-/-	414.2
F2	7.6	8.1	-/-	7.6	0.0	165.9	-/-	-/-
F3	5.0	-/-	*por debajo de log 3	-/-	0.0	-/-	96.8	-/-
F4	-/-	-/-	-/-	-/-	0.0	114.5	-/-	200.5
- /- significa que no se ensayaron muestras en este punto temporal								

[0096] Puede concluirse que, usando un proceso de fermentación de dos pasos, en el que las condiciones se establecen inicialmente para favorecer el crecimiento bacteriano seguido de una segunda fase que favorece la actividad fitasa, aumenta la cantidad de fosfato libre liberado en comparación con los pasos individuales o cuando no se inoculan bacterias.

Ejemplo 7:

[0097] Se analizó un conjunto de 6 muestras que representaban materia prima (harina de sémola de trigo y harina de salvado de arroz) y productos fermentados de las mismas para determinar los contenidos de inositol hexakisfosfato (InsP6, fitato) y fosfato de inositol "inferior" mediante HPLC con detección postcolumna con ion férrico. Las muestras individuales se analizaron inmediatamente después de la extracción. El método de extracción se basa en el método de Zeller *et al.* [1].

[0098] Las muestras se analizaron con HPLC inyectando 20 µl de la muestra extraída en una columna CarboPA200 (Dionex, RU) eluidos con ácido metanosulfónico según Whitfield *et al.* [2]. Los picos eluidos se identificaron por comparación con un conjunto de patrones preparados por hidrólisis ácida de fitato sódico de acuerdo con Madsen *et al.* [3]. Los picos de HPLC se integraron con el programa informático ChromNav (v.2) de la máquina de HPLC de Jasco. Se cuantificó InsP6 por comparación con el patrón de fitato de sodio del maíz (producto n.º 407125 de Merck Millipore). Los cálculos asumen la misma respuesta detectora para diferentes inositol fosfatos, de los cuales existen veinte isómeros InsP3 posibles, quince isómeros InsP4 posibles y seis isómeros InsP5 posibles. Se suman diferentes isómeros en cada nivel de fosforilación. No se detectaron picos

evidentes de InsP2, mientras que InsP1 y fosfato inorgánico están oscurecidos en el frente del disolvente. Los datos de cromatografía se exportaron como datos x,y y se redibujaron en GraFit (v.7).

[0099] El contenido de fósforo estimado (elemento P) se obtuvo a partir del contenido molar sumado de diferentes picos de inositol fosfato, ponderado por el número de fosfatos. De las 6 muestras analizadas, solo las muestras de materia prima tenían picos detectables de inositol fosfato. La muestra de harina de arroz fermentada (muestra n.º 6) fue la única muestra fermentada para la cual se identificaron los picos InsP4 e InsP3. Además de esto, ninguna de las muestras fermentadas contenía una señal detectable de inositol fosfato. Podemos concluir que el proceso desarrollado ha degradado eficientemente el fitato.

N.º muestra	Material y condiciones del proceso	InsP3		InsP4		InsP5		InsP6		SUMA
		nmol P/g	%	nmol P/g	%	nmol P/g	%	nmolP/g	%	nmolP/g
Harina de sémola de trigo										
1	Ingrediente en bruto	0		980	4	6251	24	19018	72	26249
2	Proceso con condiciones 1	0		0		0		0		0
3	Proceso con condiciones 2	0		0		0		0		0
4	Proceso con condiciones 3	0		0		0		0		0
Harina de salvado de arroz										
5	Ingrediente en bruto	0		0	0	1913	7	25570	93	27483
6	Proceso con condiciones 3	3405	66	1744	34	0		0		5149

	Paso a)	Paso b)
Proceso con condiciones 1	30 °C durante 5 h 30 min	55 °C durante 17 h
Proceso con condiciones 2	37 °C durante 2 h 30 min	45 °C durante 2 h
Proceso con condiciones 3	37 °C durante 1 h 30 min	45 °C durante 2 h

[0100] Al final del paso a), el pH era de 5.15 y permaneció estable durante el paso b). Para las condiciones 2, el pH disminuyó ligeramente durante el paso b), pH 5.1 a 4.9. Para las condiciones 3, se observó igualmente una ligera disminución del pH, para la harina de sémola de trigo de pH 5.7 a 5.3, y para la harina de salvado de arroz de pH 5.9 a 5.5.

Referencias

[0101]

[1] Zeller E, Schollenberger M, Witzig M, Shastak Y, Kühn I, Hoelzle LE, Rodehutsord M. Interactions between supplemented mineral phosphorus and phytase on phytate hydrolysis and inositol phosphates in the small intestine of broilers^{1,2}. *Poult Sci.* 2015 May;94(5):1018-29. doi: 10.3382/ps/pev087. Epub 25 mar 2015. PMID: 25810408.

[2] Whitfield H, White G, Sprigg C, Riley AM, Potter BVL, Hemmings AM, Brearley CA. An ATP-responsive metabolic cassette comprised of inositol tris/tetrakisphosphate kinase 1 (ITPK1) and inositol pentakisphosphate 2-kinase (IPK1) buffers diphosphoinositol phosphate levels. *Biochem J.* 31 jul 2020;477(14):2621-2638. doi: 10.1042/BCJ20200423. PMID: 32706850; PMCID: PMC7115839.

[3] Madsen CK, Brearley CA, Brinch-Pedersen H. Lab-scale preparation and QC of phytase assay substrate from rice bran. *Anal Biochem.* 1 ago 2019;578:7-12. doi: 10.1016/j.ab.2019.04.021. Epub 2 may 2019. PMID: 31054994; PMCID: PMC6587120.

Ejemplo 8:

[0102] Se preparó una suspensión de 6 tipos diferentes de harinas de cereales dispersando harina molida cruda en agua. La suspensión de cereales tenía una materia seca de aproximadamente el 30 % en peso basándose en el peso total. La suspensión de cereales se agitó de manera constante entre 600-800 rpm y se calentó hasta 37 °C. Esta temperatura se probó después de una optimización adicional del paso de crecimiento bacteriano de la

cepa de *Lactococcus lactis* positiva para fitasa utilizada para la degradación del fitato. El pH inicial de cada suspensión varió dependiendo de la fuente de cereal usada, variando de pH 6.0 a pH 6.23.

5 [0103] La suspensión de cereales se inoculó a partir de la solución madre congelada descrita en el ejemplo 2. La suspensión de cereales se inoculó a partir de esta solución madre a una densidad entre 7 - 7.7 log UFC/g basada en el peso total. Las bacterias se propagaron. El crecimiento bacteriano tuvo lugar durante 1 hora y 30 minutos. Este tiempo de incubación resultó ser suficiente para activar la bacteria y aumentar un mínimo de 0.4 log UFC/g.

10 [0104] Después, se inició la segunda fase del procedimiento, donde se produjo la degradación del ácido fítico. La temperatura de la suspensión fermentada por la cepa de *L. lactis* se elevó a 45 °C, ya que se encontró que era una temperatura ideal no solo para promover la actividad fitasa sino también para reducir el riesgo de gelatinización de los cereales. Esta temperatura se mantuvo durante 2 horas. Durante este tiempo, las bacterias no siguieron acidificando el medio por debajo de pH 5.3. No se observó ningún aumento adicional en UFC/g.

15 [0105] En la tabla siguiente se muestra una estimación de la concentración de ácido fítico degradado (mg/100 g) a lo largo del tiempo basada en la concentración de fosfato libre liberado. Se supone que todo el ácido fítico está en su forma más fosforilada (IP6).

20 Tabla C:

Entrada	Ingrediente en bruto	Log ufc/g			Ácido fítico degradado (mg/100 g)		
		T = 0 h	T = 1.5 h	T = 3.5 h	T = 0 h	T = 1.5 h	T = 3.5 h
F1	Sémola de trigo (referencia)	7.6	8.1	7.6	0.0	182.12	475.02
F2	Arroz	7.6	8.0	7.6	0.0	59.41	621.7
F3	Maíz	7.7	8.0	7.9	0.0	0.0	183.15
F4	Trigo integral	7.5	8.1	7.5	0.0	0.0	448.42
F5	Trigo sarraceno	7.4	8.0	7.9	0.0	0.0	1290.09
F6	Espelta	7.0	7.9	7.6	0.0	93.12	227.53

25 [0106] Tal como se muestra en la tabla C, 1.5 h de incubación a 37 °C ejercieron poca (F2 y F6) o ninguna (F3, F4 y F5) degradación del ácido fítico. Sin embargo, cuando se continúa hasta el paso b), y después de 2 h de incubación a 45 °C, todas las variantes presentaron una alta degradación del ácido fítico. Estos datos muestran que el proceso de fermentación creado y optimizado originalmente para harina de sémola de trigo (referencia, F1 en la tabla C), puede transferirse y aplicarse a otras fuentes de cereales.

REIVINDICACIONES

1. Proceso para generar una composición de cereales seca, que comprende:
 - (a) fermentar cereales que contienen ácido fítico mediante bacterias del ácido láctico positivas para fitasa a una temperatura por debajo de 45 °C, hasta que se alcanza un pH de como máximo 5.9,
 - (b) calentar los cereales fermentados obtenidos en el paso (a) a una temperatura en el intervalo de 40-55 °C, durante un periodo de al menos 1.5 h; y
 - (c) secar los cereales fermentados y tratados con fitasa procedentes del paso (b) para obtener la composición de cereales seca.
2. Proceso según la reivindicación 1, donde durante el paso (b) se realiza una disminución del pH a pH 5.5 o inferior, preferiblemente en el intervalo de 5 - 5.5, y/o donde durante el paso (b) el pH se mantiene por debajo de 5.5, preferiblemente en el intervalo de 5 - 5.5.
3. Proceso según la reivindicación 1, donde el paso (a) implica fermentar cereales que contienen ácido fítico mediante bacterias del ácido láctico positivas para fitasa a una temperatura por debajo de 45 °C, hasta que se alcanza un pH por debajo de 5.5, o donde el paso (a) se realiza a una temperatura entre 20 y 45 °C, preferiblemente entre 30 y 40 °C, y/o hasta que se alcanza un pH en el intervalo de 5 - 5.3.
4. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde en el paso (b) la temperatura se mantiene durante 1.5-24 h, más preferiblemente en el intervalo de 2-16 h.
5. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el proceso comprende además:
 - (d) la adición de más ingredientes, preferiblemente al menos una fuente de hierro, a los cereales fermentados antes del paso de secado (c); y/o
 - (e) la cocción de los cereales fermentados entre los pasos (b) y (c).
6. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el secado del paso (c) se realiza mediante secado en tambor, y/o hasta que se logra una actividad de agua de menos de 0.3.
7. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde:
 - las bacterias del ácido láctico se seleccionan de entre los géneros *Lactococcus*, preferiblemente *L. lactis*, incluso más preferiblemente *L. lactis* CNCM I-5450; y/o
 - los cereales se seleccionan entre el trigo, el sorgo y el mijo, y mezclas de los mismos.
8. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el paso (a) se realiza en un caldo de fermentación que comprende los cereales y 10^6 - 10^8 ufc/ml de bacterias del ácido láctico positivas para fitasa.
9. Composición de cereales seca obtenible mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que tiene preferiblemente una relación molar de fitato con respecto a hierro de como máximo 1; y/o un contenido de ácido fítico de menos de 50 mcg/g, preferiblemente menos de 25 mcg/g.
10. Composición de cereales seca que comprende cereales fermentados y bacterias del ácido láctico no replicantes, donde la composición tiene una relación molar de fitato con respecto a hierro de como máximo 1, y contiene como máximo 5000 ufc de bacterias del ácido láctico, de 1.0 a 15 mg de ácido láctico y al menos 0.015 mg de hierro, por gramo de peso seco.
11. Composición de cereales lista para alimentar que se puede obtener reconstituyendo la composición de cereales seca de las reivindicaciones 9 o 10 con un líquido de calidad alimentaria, preferiblemente donde el líquido de calidad alimentaria se selecciona del grupo que consiste en agua, fórmula de continuación o leche ruminal.
12. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 9 - 11 para su uso en:
 - proporcionar nutrición a un sujeto en riesgo de deficiencia mineral, preferiblemente donde el sujeto se selecciona entre bebés, niños pequeños, mujeres embarazadas o en periodo de lactancia y ancianos, o
 - evitar la deficiencia mineral, preferiblemente la deficiencia de hierro y/o anemia.
13. Uso del proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para:
 - aumentar la biodisponibilidad de minerales y/o la bioaccesibilidad de minerales en cereales, preferiblemente donde el mineral se selecciona entre hierro, zinc, calcio, magnesio y manganeso, o
 - disminuir los niveles de ácido fítico en los cereales.

- 5
14. Método para aumentar la biodisponibilidad de minerales en un sujeto humano, que comprende administrar la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 - 11 al sujeto, preferiblemente donde el mineral se selecciona entre hierro, zinc, calcio, magnesio y manganeso, y preferiblemente donde el sujeto se selecciona entre bebés, niños pequeños, mujeres embarazadas o en periodo de lactancia y ancianos.
 15. Método para proporcionar nutrición a un sujeto en riesgo de deficiencia mineral, preferiblemente en donde el sujeto se selecciona entre bebés, niños pequeños, mujeres embarazadas o en periodo de lactancia y ancianos, donde la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 - 11 se administra al sujeto en riesgo.