

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 303 739**

21 Número de solicitud: 200450006

51 Int. Cl.:

**A23L 1/304** (2006.01)

**C07C 229/76** (2006.01)

**C07F 15/02** (2006.01)

**C07K 1/12** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación: **15.08.2002**

30 Prioridad: **16.08.2001 US 09/931,397**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **16.08.2008**

Fecha de la concesión: **02.06.2009**

45 Fecha de anuncio de la concesión: **17.06.2009**

45 Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**17.06.2009**

73 Titular/es: **ALBION INTERNATIONAL, Inc.**  
**P.O. Box 750**  
**Clearfield, Utah 84015, US**

72 Inventor/es: **Ericson, Clayton y**  
**Ashmead, H., DeWayne**

74 Agente: **Carpintero López, Francisco**

54 Título: **Aumento de la solubilidad de quelatos de aminoácidos con hierro y proteínatos de hierro.**

57 Resumen:

Aumento de la solubilidad de quelatos de aminoácidos con hierro y proteínatos de hierro.

Se describe un procedimiento para aumentar la solubilidad de quelatos de aminoácido con hierro y proteínatos de hierro. Esto se logra mediante la mezcla de una cantidad eficaz de un ácido orgánico como agente solubilizante con quelatos de aminoácido con hierro o proteínatos de hierro presentes para formar una mezcla de quelato de aminoácido con hierro o proteínato de hierro y agente solubilizante, en la que la relación en peso del contenido de agente solubilizante a hierro varía de aproximadamente 5:1 a 1:1. Los quelatos de aminoácido con hierro y proteínatos de hierro pueden tener una relación molar de ligando a metal que varía de aproximadamente 1:1 a 1:4, preferiblemente de 2:1 a 3:1.

ES 2 303 739 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

## DESCRIPCIÓN

Aumento de la solubilidad de quelatos de aminoácidos con hierro y proteinatos de hierro.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a procedimientos para aumentar y/o mejorar la solubilidad de quelatos de aminoácido con hierro y proteinatos de hierro durante periodos más largos de tiempo, así como a solubilizar quelatos de aminoácido con hierro y proteinatos de hierro que de otra manera, son insolubles o poco solubles.

10 **Antecedentes de la invención**

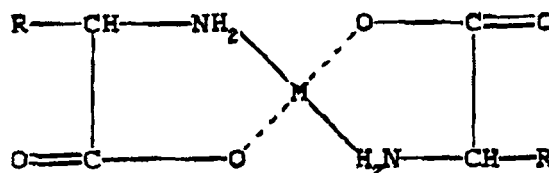
Generalmente, se obtienen quelatos de aminoácidos mediante la reacción de  $\alpha$ -aminoácidos con iones metálicos con número de valencia 2 o mayor para formar una estructura de anillo. En estas reacciones, se neutraliza la carga eléctrica positiva del ión metálico por los electrones disponibles de los grupos carboxilato o amino libre del  $\alpha$ -aminoácidos.

Tradicionalmente, el término “quelato” se ha definido vagamente como una combinación de ión metálico unido a uno o más ligandos para formar estructuras de anillos heterocíclicos. En esta definición, la formación de quelatos mediante la neutralización de las cargas positivas de iones metálicos divalentes puede ser mediante la formación de enlaces iónicos, covalentes o coordinado covalente. Una definición alternativa y más moderna del término “quelato” requiere que el ión metálico se una al ligando solamente por enlaces coordinado covalente formando un anillo heterocíclico. En cualquiera de estos casos, ambas definiciones describen un ión metálico y un ligando formando un anillo heterocíclico.

Un quelato es una estructura definida que se obtiene mediante requisitos precisos de síntesis. Deben estar presentes las condiciones adecuadas para que tenga lugar la quelación, incluido relaciones molares adecuadas de ligando a iones metálicos, pH, y solubilidad de los reactivos. Para que tenga lugar la quelación, todos los componentes están disueltos generalmente en una disolución y están o ionizados o con la configuración electrónica adecuada para que el enlace coordinado covalente y/o iónico entre el ligando y el ión metálico ocurra.

La quelación se puede confirmar y diferenciar de mezclas de componentes mediante espectros de infrarrojos por comparación del alargamiento de enlaces o cambio de la absorción provocada por la formación de enlaces. Según se utiliza en el campo de la nutrición animal, existen dos productos supuestamente “quelados” que se utilizan comercialmente. Al primero se le nombra como un “proteinato de metal”. La American Association of Feed Control Officials (AAFCO (*Asociación Americana de funcionarios controladores de alimentos*)) define un “proteinato de metal” como un producto resultante de la quelación entre una sal soluble y un aminoácido y/o una proteína parcialmente hidrolizada. Dichos productos se nombran como el proteinato del metal específico, por ejemplo, proteinato de cobre, proteinato de cinc, etc. Algunas veces, los proteinatos de metal son incluso nombrados como quelatos de aminoácidos, aunque esta caracterización no es completamente precisa.

El segundo producto, que se nombra como “quelato de aminoácido”, cuando se ha formado adecuadamente, es un producto estable que tiene uno o más anillos de cinco miembros formados por la reacción entre el aminoácido y el metal. Específicamente, se unen ambos el oxígeno del carboxilo y el grupo  $\alpha$ -amino al ión metálico. Un anillo de cinco miembros así, se define por el átomo del metal, el oxígeno del carboxilo, el carbono carbonilo, el carbono  $\alpha$ , y el nitrógeno amino  $\alpha$ . La estructura real dependerá de la relación molar de ligando a metal y si el oxígeno del carboxilo forma un enlace coordinado covalente o iónico con el ión metálico. Generalmente, la relación molar de ligando a metal es de al menos 1:1 y preferentemente 2:1 o 3:1. Sin embargo, en ciertos ejemplos, la relación puede ser 4:1. Más típicamente, un quelato de aminoácido puede representarse para una relación molar de ligando a metal de 2:1 de acuerdo a la fórmula 1 como sigue:



Fórmula 1

En la formula anterior, la líneas de trazos representan enlaces coordinados covalentes, covalentes o iónicos. Además, cuando R es H, el aminoácido es glicina que es el más simple de los  $\alpha$ -aminoácidos. Sin embargo, R puede representar cualquiera de las otras cadenas laterales originadas en cualquier otro de los 20 aminoácidos que están presentes en la naturaleza derivados de proteínas. Todos los aminoácidos tienen la misma configuración para la posición del oxígeno del carboxilo y el nitrógeno  $\alpha$ -amino respecto al ión metálico. En otras palabras, el anillo quelato esta definido por los mismos átomos en cada instante, aunque varíe el grupo de la cadena lateral R.

## ES 2 303 739 B1

La Asociación americana de funcionarios controladores de alimento (AAFCO) también ha hecho pública una definición para quelatos de aminoácidos. Se define oficialmente como el producto resultante de la reacción de un ión metálico de la sal soluble del metal con aminoácidos que tienen una relación molar de un mol del metal a entre uno y tres (preferentemente dos) moles del aminoácido para formar enlaces coordinados covalentes. El peso medio del aminoácido hidrolizado debe ser aproximadamente 150 y el peso molecular resultante del quelato no debe exceder 800. Los productos se identifican mediante el metal específico que forma el quelato, por ejemplo, quelato de aminoácido con hierro, quelato de aminoácido de cobre, etc.

La razón por la que un metal puede aceptar enlaces por encima del estado de oxidación del metal se debe a la naturaleza de la quelación. Por ejemplo, en el grupo amino- $\alpha$  de un aminoácido, el nitrógeno aporta los dos electrones que se utilizan en la unión. Estos electrones llenan los espacios disponibles en los orbitales d para formar un enlace coordinado covalente. Por ello, un ión metálico con una valencia normal de +2 se puede unir por cuatro uniones cuando esta completamente quelado. En este estado, el quelato puede estar satisfecho por los electrones del enlace y la carga del átomo metálico (así como en la molécula en conjunto) puede ser nula. Como se dijo anteriormente, es posible que el ión metálico se una al oxígeno del carboxilo por bien enlaces coordinado covalentes o por enlaces iónicos. Sin embargo, el ión metálico se une preferentemente al grupo amino- $\alpha$  solo por enlaces coordinado covalentes.

Pueden formarse quelatos de aminoácido utilizando ligandos peptídicos en lugar de aminoácidos sencillos. Estos suelen ser en forma de dipéptidos, tripéptidos y, algunas veces, tetrapéptidos ya que ligandos mayores tienen un peso molecular que es demasiado grande para asimilar directamente el compuesto quelato. Generalmente, ligandos peptídicos se obtienen de la hidrólisis de proteínas. Sin embargo, también se pueden utilizar péptidos preparados por técnicas sintéticas convencionales o ingeniería genética. Cuando el ligando es un di o tripéptido, un radical de la fórmula  $[C(O)CH_2R]_nH$  sustituirá a uno de los hidrógenos unido al átomo de nitrógeno en la fórmula 1. R, como se define en la fórmula 1, puede ser H, o el residuo de cualquier aminoácido que existe en la naturaleza y e es un número entero seleccionado de 1, 2 ó 3. Cuando e es 1 el ligando es un dipéptido, cuando e es 2 el ligando es un tripéptido y así en adelante.

La estructura, química y biodisponibilidad de quelatos de aminoácido está bien documentada en la bibliografía, por ejemplo Ashmead y col. *Intestinal Absorption of Metal Ions (absorción intestinal de iones metálicos)*, (1985) Chas. C. Thomas Publishers, Springfield, Ill.; Ashmead y col., *Foliar feeding of plants with Amino Acid Chelates (alimentación foliar de plantas con quelatos de aminoácidos)*, (1986), Noyes Publications, Park Ridge, N.J.; Patentes U.S. 4.202.158; 4.167.564; 4.216.143; 4.216.144; 4.599.152; 4.774.089; 4.830.716; 4.863.898; 4.725.427; y otras.

Una ventaja de los quelatos de aminoácidos en el campo de la nutrición de minerales se atribuye al hecho de que estos quelatos se absorben fácilmente en las células de la mucosa y el intestino mediante transporte activo. En otras palabras, los minerales se absorben junto con los aminoácidos como una unidad única usando el aminoácido como una molécula portadora. Por ello, se pueden evitar los problemas asociados con la competencia de los iones por los sitios activos y la supresión de elementos minerales nutritivos específicos por otros. Esto es especialmente verdadero para compuestos tales como los sulfatos de hierro que se suministran en relativamente grandes cantidades para que el cuerpo los absorba en cantidades apropiadas. Esto es importante ya que grandes cantidades muchas veces provocan náuseas y otras molestias, igualmente provocan un sabor no deseado.

En la selección de una fuente de hierro para refuerzo alimentario, se toma muy en consideración el color y el sabor de la fuente de hierro. Esto es particularmente verdad para alimentos fortalecedores que tienen un color claro. Típicamente, el hierro elemental y las sales de hierro se han usado para alimentos fortalecedores, y ambos provocan alimentos con sabores y colores alterados, dependiendo de la cantidad añadida de suplemento de hierro. Por estas y otras limitaciones, incluso algunas formas de hierro biodisponibles puede que no sean deseables de utilizar. Por ejemplo, aunque los sulfatos de hierro son muy solubles con una razonable biodisponibilidad, suelen provocar muchas veces alimentos con colores y sabores alterados. Esto es porque cuando se adicionan sales de hierro solubles a los alimentos, particularmente a alimentos con agua o disoluciones, el hierro reacciona con una gran propensión con uno o varios de los componentes del alimento con agua o la disolución. Cuando el hierro reacciona, los sabores y colores pueden alterarse. Esto hace que la inclusión de hierro en muchos alimentos con agua o disoluciones sea un problema importante. Ya que los refuerzos de hierro son deseables en muchos casos, incluso obligatorio por ley en algunos, es deseable proveer un refuerzo de hierro que se pueda mezclar al alimento, particularmente a alimentos con agua o disoluciones, sin provocar los efectos negativos anteriormente mencionados. La quelación puede proporcionar estas ventajas.

La quelación de hierro con ciertos ligandos es una alternativa para mantener la solubilidad del hierro. Sin embargo, es importante seleccionar un ligando con una constante de estabilidad deseada. Cuando el hierro forma un quelato con ácido ascórbico o ácido cítrico, la estabilidad resultante del quelato es relativamente baja. Ya que la estabilidad es baja, se producen reacciones no deseadas entre el hierro y ciertos ingredientes del alimento. Por ello, los quelatos de hierro con ligando que tienen una constante de estabilidad baja no proporcionan la protección adecuada al hierro cuando se mezcla con alimentos, y por ello, el quelato no mantendrá suficiente solubilidad.

Otros ligandos de quelato, como el EDTA, mantienen la solubilidad del hierro tan bien y previenen las reacciones del catión hierro con ingredientes de la comida. Esto es porque el EDTA forma un quelato con hierro que posee una constante de estabilidad muy alta, por ello mantiene al hierro en forma secuestrada en presencia de varias matrices de alimento. Sin embargo, el problema asociado a los quelatos de EDTA, aunque se absorben favorablemente en sangre

en el intestino, viene dado por su alta estabilidad. Más específicamente, la estabilidad es tan alta que el cuerpo no puede fácilmente separar el hierro del ligante. Además, si el ión metálico y el ligando EDTA se separan, el EDTA es un agente quelante tan fuerte que puede verdaderamente causar daño al cuerpo. Por esto, aunque un quelato así evita los problemas de decoloración y/o desagrado al paladar de la comida reforzada, las desventajas asociadas con el uso del EDTA sobrepasan a las ventajas.

Cuando el hierro forma quelatos con aminoácidos o pequeños péptidos, particularmente con ligandos de aminoácidos con una relación molar de ligando a metal de 2:1, estos ligandos tienden a mantener el hierro soluble cuando se adiciona a la mayoría de las comidas. El cuerpo también puede absorber y metabolizar estas formas de quelatos eficazmente. Sin embargo, la solubilidad de un quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro tiende a reducirse con el tiempo cuando se añade el quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro a ciertas comidas, particularmente a aquellas que tienen un contenido de agua alto. Además, los quelatos de aminoácido con hierro o proteinatos de hierro con una relación molar de ligando a metal aproximadamente de 3:1 son menos solubles que los quelatos de aminoácidos de 2:1.

Con esto, es deseable proveer un procedimiento para aumentar la solubilidad de los quelatos e aminoácido de hierro o proteinatos e hierro existentes mediante el incremento del tiempo que el quelato permanece soluble y/o solubilizando quelatos de otra forma insolubles o poco solubles, incluso en presencia de azúcar como glucosa o sacarosa.

## 20 Sumario de la invención

Se describe un procedimiento para aumentar la solubilidad de quelatos de aminoácidos de hierro y proteinatos de hierro que comprende mezclar una cantidad eficaz de un ácido orgánico agente solubilizante a un quelato de aminoácidos de hierro o proteinato de hierro en una relación molar de ligando a metal entre 1:1 y 1:4, preferiblemente entre 2:1 y 3:1. Alternativamente, un procedimiento para aumentar la solubilidad de un complejo azúcar-quelato de aminoácido con hierro o azúcar-proteinato de hierro que comprende mezclar una cantidad efectiva de un compuesto orgánico agente solubilizante a dicho complejo azúcar-quelato de aminoácido con hierro o azúcar-proteinato de hierro. Además, un procedimiento para aumentar la solubilidad de quelatos de aminoácidos de hierro o proteinatos de hierro en una disolución acuosa en presencia de un azúcar que comprende mezclar una cantidad efectiva de un compuesto orgánico agente solubilizante a una disolución acuosa de quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro antes de añadir el azúcar a la disolución.

## Descripción detallada de la invención

Antes de que la presente invención se revele y describa, se entiende que esta invención no se limita a las etapas particulares del procedimiento y materiales que se revelan en esta memoria ya que, dichas etapas del procedimiento y materiales pueden variar de alguna forma. También se ha de entender que la terminología utilizada en esta memoria se utiliza sólo con el propósito de describir realizaciones particulares. No se pretende que los términos sean limitantes ya que, se pretende que el alcance de la invención presente sea limitada solo por las reivindicaciones que acompañan y equivalentes de ellas.

Se debe advertir que, tal como se utilizan en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones que acompañan, las formas de singular “un”, “una”, “el” y “la” incluyen las referencias de plural salvo que el contenido claramente dicte lo contrario.

La frase “aumentar la solubilidad” se refiere a mejorar la solubilidad de quelatos de aminoácido con hierro o proteinatos de hierro existentes, incluso en presencia de un azúcar, o cuando forma un complejo con un azúcar. Esto puede ocurrir por la prolongación del tiempo de solubilidad de un quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro soluble o la solubilización de un quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro de otra forma insoluble o menos soluble.

El termino “quelato de aminoácido” se pretende que abarque ambas, las definiciones tradicionales y la definición más moderna de quelato como se mencionan anteriormente. Específicamente, para fines de la invención presente, quelato pretende incluir iones metálicos unidos a aminoácidos o a ligandos proteicos que forman anillos heterocíclicos. Los enlaces pueden ser covalentes coordinados, covalentes, y/o iónicos con el grupo del oxígeno carboxílico. Sin embargo, con el grupo  $\alpha$ -amino, el enlace es típicamente un enlace covalente coordinado.

El término “proteinato” cuando se refiere a proteinato de hierro pretende incluir compuestos donde el hierro forma un quelato o complejo con una proteína hidrolizada o parcialmente hidrolizada formando un anillo heterocíclico. Enlaces covalentes coordinados, enlaces covalentes y/o enlaces iónicos pueden estar presentes en el quelato o estructura quelato/complejo.

El procedimiento de la invención presente supone el aumento de la solubilidad de quelatos de aminoácido con hierro o proteinatos de hierro mediante (a) la prolongación de la solubilidad de quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro soluble y/o (b) la solubilización de un quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro de otra forma insoluble o menos soluble. El procedimiento para aumentar de la solubilidad de quelatos de aminoácido con hierro o proteinatos de hierro comprende la mezcla de una cantidad eficaz de un agente solubilizante a uno o más quelatos de aminoácido con hierro o proteinatos de hierro en una relación molar ligando a metal entre aproximada-

## ES 2 303 739 B1

mente 1:1 y 4:1, preferentemente entre aproximadamente 2:1 y 3:1. El ácido orgánico como agente solubilizante se selecciona del grupo constituido por ácido acético, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico, ácido succínico, y combinaciones de estos.

5 Para ilustrar diversas realizaciones preferidas, las directrices siguientes son útiles para determinar que cantidad de cada ácido orgánico puede añadirse a los quelatos de hierro para aumentar la solubilidad. Si se añade ácido ascórbico al quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro, la relación de contenido de ácido ascórbico a hierro puede variar de aproximadamente 5:1 a 1:1 en peso. Si se añade ácido cítrico al quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro, la relación de contenido de ácido cítrico a hierro puede variar de aproximadamente 3:1 a 10 1:1 en peso. Igualmente, para ácido acético, la relación de contenido de ácido orgánico a hierro puede variar de aproximadamente 3:1 a 1:1 en peso; para ácido láctico, la relación de contenido de ácido orgánico a hierro puede variar de aproximadamente 3:1 a 1:1 en peso; para ácido málico, la relación de contenido de ácido orgánico a hierro puede variar de aproximadamente 3:1 a 1:1 en peso; y para ácido succínico, la relación de contenido de ácido orgánico a hierro puede variar de aproximadamente 3:1 a 1:1 en peso.

15 Aunque estos intervalos de relación son útiles en la práctica de la invención, la invención no está limitada por estos valores. Cualquiera de estos ácidos orgánicos se pueden utilizar fuera de estos intervalos preferidos con una utilidad más limitada. Además, los ácidos se pueden combinar. Por ejemplo, se pueden añadir en combinación ácido ascórbico y ácido cítrico en una relación molar de ácido ascórbico a ácido cítrico entre aproximadamente 10:1 y 1:1, y en donde 20 la relación en peso de contenido de agente solubilizante total a hierro varía de aproximadamente 5:1 a 1:1.

Preferentemente, el quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro y el agente solubilizante pueden mezclarse homogéneamente juntos en forma de partículas para hidratarlo posteriormente para refuerzo de comida. Sin embargo, el quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro y el agente solubilizante pueden hidratarse antes 25 de la etapa de mezcla, formando una mezcla líquida en lugar de una mezcla de partículas. Además, son posibles otras combinaciones como mezclar el quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro en forma de partículas con el agente solubilizante en forma líquida, o inversamente, mezclar el quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro en forma líquida con el agente solubilizante en forma de partículas.

30 También se describe un procedimiento para aumentar la solubilidad de un complejo azúcar-quelato de aminoácido con hierro o azúcar-proteinato de hierro que comprende mezclar una cantidad eficaz de un ácido orgánico como agente solubilizante a un complejo azúcar-quelato de aminoácido con hierro o azúcar-proteinato de hierro. El complejo 35 azúcar- quelato de aminoácido con hierro o azúcar-proteinato de hierro que se solubiliza comprende generalmente hierro, un ligando aminoácido o proteinato, y un azúcar tal como glucosa y/o sacarosa.

Adicionalmente, se revela un procedimiento para aumentar la solubilidad de una disolución acuosa que contiene un quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro en presencia de un azúcar que comprende mezclar una cantidad eficaz de un ácido orgánico como agente solubilizante con una disolución acuosa de quelato de aminoácido 40 con hierro o proteinato de hierro antes de la adición del azúcar a la disolución.

En ambos procedimientos que implican un quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro y un azúcar, la relación molar de ligando a hierro puede variar de aproximadamente 1:1 a 4:1, preferentemente de 2:1 a 3:1, y la relación molar de contenido azúcar a hierro puede variar de aproximadamente 1:1 a 3:1. De nuevo, agente solubilizante se selecciona del grupo constituido por ácido acético, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico, ácido 45 succínico, y combinaciones de estos. Y la relación en peso de contenido de agente solubilizante a hierro puede variar de aproximadamente 4:1 a 1:1.

### Ejemplos

50 Los siguientes ejemplos muestran este procedimiento de preparación. Los siguientes ejemplos no deben considerarse como limitantes de la invención presente, solo deben enseñar únicamente como hacer el quelato de aminoácido mejor conocido basándose en los datos experimentales actuales.

#### Ejemplo 1

55 Se formó el quelato de hierro ferroso en disolución con glicina, en una relación molar de glicina a hierro de 2:1 (bisglicinato ferroso). El quelato se secó mediante secado por pulverización. El quelato final contenía un 18% en hierro. Se dividió el quelato de aminoácido con hierro seco en dos muestras. La muestra 1 actúa de control. Se mezcló la muestra 2 con ácido ascórbico en una relación de 30% ácido ascórbico a 70% quelato de aminoácido con hierro en 60 peso. Para mostrar que la inclusión de ácido ascórbico promueve la solubilidad de quelatos de aminoácido con hierro, se comparó la muestra 1 con la muestra 2 en dos fases.

#### Fase 1

65 Después de hidratar la muestra 1 y la muestra 2 con una cantidad de agua suficiente para disolver los polvos respectivos y permitir que transcurrieran 4 horas, una pequeña cantidad de cada disolución se colocó sobre papel de filtro con una pipeta. Colocando las dos muestras sobre papel de filtro de esta manera, se permitió que las disoluciones respectivas se dispersaran desde el punto de aplicación mientras dejan atrás cualquier sólido que se haya formado.

## ES 2 303 739 B1

El quelato de aminoácido con hierro de la muestra 1 dejó tras de sí un pequeño grupo de precipitado. El quelato de aminoácido con hierro de la muestra 2 no dejó tras de sí ningún precipitado visual.

### Fase 2

5

Ambas disoluciones restantes se mantuvieron en tubos de ensayo durante 20 horas adicionales. Al final de este tiempo, un examen visual de las dos muestras indica que aproximadamente el 50% de la muestra 1 había precipitado en la disolución. Inversamente, la muestra 2 permanecía en disolución.

10

### Ejemplo 2

15 Se preparó bisglicinato de hierro y se utilizó para determinar que ácido orgánico ayuda en el aumento de la solubilidad de los quelatos de aminoácido con hierro. Se probó igualmente glucosa y sacarosa. El bisglicinato de hierro se hidrató entonces, y se midió un pH cercano a 8. Se colocó el bisglicinato de hierro acuoso sobre un papel de filtro con una pipeta y se caracterizaron los anillos después de secos. Se formaron anillos marrones alternados (después de que se secase la gotita) desde el centro y hacia el exterior. Sin embargo, no se formaron anillos destacables en la localización donde el frente del agua había existido.

20 Después de caracterizar el bisglicinato de hierro como un control se añadió ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido acético, ácido láctico, ácido málico, y ácido succínico a muestras separadas de bisglicinato de hierro. Cada uno mostró un aumento de la movilidad y solubilidad sobre el papel de filtro. Inversamente, la adición de azúcares al bisglicinato de hierro disminuye la solubilidad como se caracteriza por inspección visual. Los resultados de la inspección visual y la caracterización del papel de filtro de cada uno de los posibles agentes de solubilización se muestran en la tabla 1 como sigue:

25

TABLA 1

30

COMPONENTE AÑADIDO	pH	VISUAL	APARIENCIA DEL ANILLO
Ácido ascórbico	6.0	Sin precipitado	Anillo oscuro en el frente de agua
Ácido acético	3.5	Sin precipitado	Anillo oscuro en el frente de agua
Ácido cítrico	4.5	Sin precipitado	Anillo oscuro en el frente de agua
Ácido láctico	6.0	Sin precipitado	Anillo oscuro en el frente de agua
Ácido málico	6.0	Sin precipitado	Anillo oscuro en el frente de agua
Ácido succínico	6.0	Sin precipitado	Anillo oscuro en el frente de agua
Glucosa	7.0	Sólidos precipitados	Anillo claro alternado
Sacarosa	7.0	Sólidos precipitados	Anillo claro alternado

50

En la tabla 1, la relación del contenido de cada uno de los compuestos enumerados a hierro es de aproximadamente 1.8:1 en peso, El valor de pH describe el valor de pH de la disolución con esta relación.

55

La tabla 1 anterior muestra que aumenta la movilidad y solubilidad de el bisglicinato de hierro en agua incluso a niveles bajos de pH con la adición de ácidos orgánicos como agentes solubilizantes como evidencia la aparición de anillos más oscuros que corresponden a la localización del frente del agua (después de secar). Inversamente, la adición de azúcares disminuye la solubilidad como muestra la presencia visual de los sólidos precipitados.

60

Aunque no se muestra en la tabla 1, cuando se añade uno de los ácidos orgánicos al azúcar-quelato de aminoácido con hierro precipitado, el sólido se disuelve otra vez. Además, cuando se añade uno de los ácidos orgánicos al quelato de aminoácido con hierro antes de la adición de cualquier azúcar, no se forma un precipitado cuando se añade el azúcar. Esto sugiere que una disolución que contiene un quelato de aminoácido con hierro es estable en un medio de azúcar-ácido orgánico como el que se encuentra en las frutas o en los jugos.

65

## ES 2 303 739 B1

### Ejemplo 3

Se hidrolizó un proteinato de hierro o hidrolizado de proteína y hierro a partir de una proteína vegetal con un contenido de hierro de aproximadamente el 10%. El proteinato se hidrolizó y se midió un pH cercano a 3.0. Visualmente, el color de la disolución era marrón y contenía partículas. Una pequeña parte de la disolución se situó sobre un papel de filtro con una pipeta. Cuando se evapora el agua, deja tras de sí anillos marrones alternados

Seguidamente, se añadieron diversos ácidos orgánicos distintos y azúcares a las diversas muestras de la disolución. Cada uno fue inspeccionado tan visualmente como colocando una pequeña cantidad de disolución sobre el papel de filtro con una pipeta. La tabla 2 posterior muestra lo que se observó:

TABLA 2

COMPONENTE	pH	VISUAL	APARIENCIA DEL ANILLO
Ácido ascórbico	4.5	Sin cambio	Anillo marrón oscuro en el frente de agua
Ácido acético	3.0	Sin cambio	Anillo marrón oscuro en el frente de agua
Ácido cítrico	1.5	Sin cambio	Anillo marrón oscuro en el frente de agua
Ácido láctico	1.0	Sin cambio	Anillo marrón oscuro en el frente de agua
Ácido málico	2.0	Sin cambio	Anillo marrón oscuro en el frente de agua
Ácido succínico	2.0	Sin cambio	Anillo marrón oscuro en el frente de agua
Glucosa	7.0	Sin cambio	Anillos marrones alternados
Sacarosa	7.0	Sin cambio	Anillos marrones alternados

En la tabla 2, la relación del contenido de cada uno de los compuestos enumerados a hierro es de aproximadamente 1:1 en peso, El valor de pH describe el valor de pH de la disolución con esta relación.

La tabla 2 anterior muestra que la movilidad y la solubilidad de un proteinato de hierro en agua, incluso a niveles de pH bajos, aumenta con la adición de ácidos orgánicos como agentes solubilizantes. Esto es evidente por los anillos más oscuros que permanecen sobre el papel de filtro, que corresponden a la localización del frente del agua. Sin embargo, los anillos que quedan detrás después de añadir glucosa o sacarosa fueron similares a los anillos de proteinato de hierro del control.

Los ejemplos anteriores muestran que la adición de ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido acético, ácido málico, y/o ácido succínico ayuda a que los quelatos de aminoácido con hierro y proteinatos de hierro mantengan su solubilidad, o alternativamente, ayuda a solubilizar quelatos de aminoácido con hierro y proteinatos de hierro de otra forma insolubles o menos solubles. Además, aún en presencia de un azúcar como glucosa o sacarosa, los ácidos orgánicos como agentes solubilizantes aumentan la solubilidad de complejos azúcar-quelato de aminoácido con hierro y azúcar-proteinato de hierro.

# ES 2 303 739 B1

## REIVINDICACIONES

5 1. Un procedimiento para aumentar la solubilidad de quelatos de aminoácido con hierro y proteinatos de hierro **caracterizado** porque comprende mezclar una cantidad eficaz de un ácido orgánico, o una combinación de ácidos orgánicos, como agente solubilizante con un quelato de aminoácido con hierro o un proteinato de hierro en una relación molar de ligando a metal entre 1:1 y 4:1 para formar una mezcla de quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro y agente solubilizante, en el que la relación en peso del contenido de agente solubilizante a hierro varía de 5:1 a 1:1.

10 2. Un procedimiento como en la reivindicación 1, **caracterizado** porque la relación molar de ligando a metal es entre 2:1 y 3:1.

15 3. Un procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho agente solubilizante se selecciona del grupo constituido por ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido acético, ácido láctico, ácido málico, ácido succínico, y combinaciones de estos.

20 4. Un procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho agente solubilizante es ácido acético y en el que la relación en peso del contenido de ácido acético a hierro varía de 3:1 a 1:1.

25 5. Un procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho agente solubilizante es ácido ascórbico y en el que la relación en peso del contenido de ácido ascórbico a hierro varía de 5:1 a 1:1.

30 6. Un procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho agente solubilizante es ácido cítrico y en el que la relación en peso del contenido de ácido cítrico a hierro varía de 3:1 a 1:1.

35 7. Un procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho agente solubilizante es ácido láctico y en el que la relación en peso del contenido de ácido láctico a hierro varía de 3:1 a 1:1.

40 8. Un procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho agente solubilizante es ácido málico y en el que la relación en peso del contenido de ácido málico a hierro varía de 3:1 a 1:1.

45 9. Un procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho agente solubilizante es ácido succínico y en el que la relación en peso del contenido de ácido succínico a hierro varía de 3:1 a 1:1.

50 10. Un procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho agente solubilizante es una combinación de ácido ascórbico y ácido cítrico con una relación molar de 10:1 a 1:1, y en el que la relación del contenido de agente solubilizante a hierro varía de 5:1 a 1:1 en peso.

55 11. Un procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro y dicho agente solubilizante están en forma de partículas y en el que dicha etapa de mezcla proporciona una mezcla homogénea de partículas antes de la hidratación.

60 12. Un procedimiento según la reivindicación 11, **caracterizado** porque se hidrata dicha mezcla homogénea de partículas.

65 13. Un procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro y dicho agente solubilizante se hidratan antes de dicha etapa de mezcla.

70 14. Un procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro está en forma de partículas y en el que dicho agente solubilizante está en forma líquida cuando se mezcla.

75 15. Un procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro está en una forma líquida y en el que dicho agente solubilizante está en forma de partículas cuando se mezcla.

80 16. Un procedimiento para aumentar la solubilidad de un complejo azúcar-quelato de aminoácido con hierro o azúcar-proteinato de hierro **caracterizado** porque comprende mezclar una cantidad eficaz de un ácido orgánico como agente solubilizante con dicho complejo azúcar-quelato de aminoácido con hierro o azúcar-proteinato de hierro, en el que la relación de contenido de agente solubilizante a hierro varía de 4:1 a 1:1 en peso.

85 17. Un procedimiento según la reivindicación 16, **caracterizado** porque dicho complejo azúcar-quelato de aminoácido con hierro o azúcar-proteinato de hierro comprende hierro, un aminoácido o ligando proteinato, y un azúcar, en el que dicha relación molar de ligando a hierro varía de 1:1 a 4:1 y en el que la relación molar de contenido de dicho azúcar a contenido de dicho hierro varía de 1:1 a 3:1.

## ES 2 303 739 B1

18. Un procedimiento según la reivindicación 17, **caracterizado** porque dicha relación molar de ligando a hierro varía de 2:1 a 3:1.

5 19. Un procedimiento según la reivindicación 16 **caracterizado** porque dicho agente solubilizante se selecciona del grupo constituido por ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido acético, ácido láctico, ácido málico, ácido succínico y combinaciones de estos.

10 20. Un procedimiento según la reivindicación 16, **caracterizado** porque dicho azúcar se selecciona del grupo constituido por glucosa, sacarosa, y combinaciones de estos.

15 21. Un procedimiento para aumentar la solubilidad de una disolución acuosa **caracterizado** porque contiene un quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro en presencia de un azúcar que comprende mezclar una cantidad eficaz de un ácido orgánico, o una combinación de ácidos orgánicos, como agente solubilizante con la solución acuosa de quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro antes de la mezcla de dicho azúcar a dicha disolución, en el que la relación de agente solubilizante a contenido de hierro varía de 4:1 a 1:1 en peso.

20 22. Un procedimiento según la reivindicación 21, **caracterizado** porque dicho quelato de aminoácido con hierro o proteinato de hierro tiene una relación molar de ligando a hierro de 1:1 a 4:1 y en el que dicha relación molar del contenido de dicho azúcar al contenido de dicho hierro varía de 1:1 a 3:1.

23. Un procedimiento según la reivindicación 22, **caracterizado** porque tiene una relación molar de ligando a hierro que varía de 2:1 a 3:1.

25 24. Un procedimiento según la reivindicación 21, **caracterizado** porque dicho agente solubilizante se selecciona del grupo constituido por ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido acético, ácido láctico, ácido málico, ácido succínico, y combinaciones de estos.

30 25. Un procedimiento según la reivindicación 21, **caracterizado** porque dicho azúcar se selecciona del grupo constituido por glucosa, sacarosa, y combinaciones de estos.

35

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 303 739

② Nº de solicitud: 200450006

③ Fecha de presentación de la solicitud: 15.08.2002

④ Fecha de prioridad: 16.08.2001

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: Ver hoja adicional

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 4830716 A (ASHMED) 16.05.1989, todo el documento, especialmente el Ejemplo IV.	1-25
A	US 5504055 A (HSU) 02.04.1996, todo el documento, especialmente Ejemplos I y II.	1-25
A	US 5516925 A (PEDERSEN et al.) 14.05.1996, todo el documento.	1-25
A	WO 98048648 A1 (THE PROCTER & GAMBLE COMPANY) 05.11.1998, todo el documento, especialmente Ejemplos 3 y 5-12.	1-25

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

24.07.2008

Examinador

A. García Coca

Página

1/2

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

**A23L 1/304** (2006.01)  
C07C 229/76 (2006.01)  
C07F 15/02 (2006.01)  
C07K 1/12 (2006.01)