



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 283 462**

51 Int. Cl.:
A23L 1/308 (2006.01)
C07H 3/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **01995082 .3**
86 Fecha de presentación : **24.12.2001**
87 Número de publicación de la solicitud: **1355542**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **29.10.2003**

54 Título: **Composición nutricional con acción fomentadora de la salud conteniendo oligosacáridos.**

30 Prioridad: **27.12.2000 EP 00204776**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.11.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.11.2007

73 Titular/es: **N.V. Nutricia
Postbus 1
2700 MA Zoetermeer, NL**

72 Inventor/es: **Van Laere, Katrien, Maria, Jozefa y
Wissing, Elmo**

74 Agente: **Tomás Gil, Tesifonte Enrique**

ES 2 283 462 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición nutricional con acción fomentadora de la salud conteniendo oligosacáridos.

5 La presente invención se refiere a composiciones nutricionales con acción que fomenta la salud, en particular con un efecto bifidogénico y con un efecto antiadhesivo sobre microorganismos patogénicos a la pared intestinal.

Más específicamente, en un primer aspecto, la invención se refiere a tal composición nutricional conteniendo al menos un oligosacárido que tenga al menos una unidad terminal de arabinosa.

10 Como se usa aquí, un oligosacárido significa un sacárido compuesto de al menos dos, hasta 20 unidades de monosacáridos enlazadas glicosídicamente, es decir, que tengan un grado de polimerización (GP) de 2-20. A los sacáridos de más de 20 unidades se hace referencia aquí como polisacáridos. Los oligosacáridos son apenas o no son digeribles, es decir, no son convertidos fácilmente en sustratos calóricos por las enzimas digestivas mamíferas.

15 Se conoce el uso de polisacáridos que contienen arabinosa en productos alimenticios. La GB 1,072,029 expone el uso de arabinogalactanos con un peso molecular en el intervalo de 70-95 kDa (GP 450-600) como un edulcorante de carga combinado con un edulcorante artificial: según la US 6,004,610, tales arabinogalactanos pueden ser usados junto con goma guar hidrolizada como fibra dietética en bebidas, debido a su escasa viscosidad. La WO 00/08948 (DE-198,36339) describe el uso de una combinación de un oligosacárido (hasta un hexasacárido) y un polisacárido (a partir de un heptasacárido en adelante) para promover la flora del intestino grueso humano. Los arabinanos son mencionados como uno de muchos polisacáridos posibles.

20 Los oligosacáridos a ser usados según la invención tienen al menos una unidad terminal de arabinosa, es decir, al menos una unidad de arabinosa que esté enlazada al resto de la molécula de oligosacáridos por un enlace (glicosídico). Estas unidades terminales de arabinosa pueden estar ubicadas en el extremo de la cadena principal del oligosacárido, si es un extremo reductor (con una función hemiacetal libre) o un extremo no reductor, o ambos, pero también pueden estar ubicadas en el extremo de cadenas laterales a la cadena principal o estar enlazadas directamente a la cadena principal mediante un enlace simple. En la presente descripción, a los oligosacáridos que tienen una o más unidades terminales de arabinosa se hace referencia también como "arabinooligosacáridos".

25 En su forma más simple, un arabinooligosacárido de la invención es un dímero de dos residuos sacáridos sustituidos, al menos uno de los cuales es un residuo de L-arabinosa. El otro residuo sacárido puede ser elegido de todos los residuos sacáridos, y en particular aquellos residuos sacáridos que estén presentes en polímeros sacáridos de origen natural, tales como la galactosa, la arabinosa, la manosa y la xilosa. De la forma más preferible, el otro sacárido es arabinosa o galactosa. De forma similar, en los trisacáridos, uno o ambas de las unidades terminales de sacáridos son residuo de arabinosa, mientras que los que quedan pueden ser galactosa, xilosa, manosa, etc., y la arabinosa central también pueden ser arabinosa.

30 Los arabinooligosacáridos más largos pueden ser de cadena recta (no ramificados) o preferiblemente oligosacáridos ramificados compuestos por cualquier combinación de unidades de sacáridos, siempre y cuando al menos una terminal sea arabinosa. Los oligosacáridos pueden estar enlazados por α -enlaces, en posiciones 1,2-, 1,3-, 1,4- y/o (si es aplicable) 1,5- ó 1,6- y, si están involucradas ketosas, posiciones 2,1-, 2,4-, 2,6-. Las unidades de L-arabinosa en los arabinooligosacáridos suelen estar en su forma furanosido, pero también pueden estar en la forma piranosida. Están enlazados predominantemente por α -1,3- o α -1,5. El número de residuos de L-arabinosa presentes en los arabinooligosacáridos puede variar, a condición de que al menos un residuo de arabinosa, preferiblemente al menos dos unidades de arabinosa, estén presentes en al menos un extremo de la cadena de oligosacáridos. Así, sólo uno (es decir, al menos un residuo terminal), varios o esencialmente todos los residuos sacáridos que forman la parte principal del oligómero sacárido pueden ser sustituidos con un residuo de L-arabinosa. La parte principal misma puede componerse de unidades de arabinosa u otras unidades (galactosas, xilosas etc.).

35 Las unidades de oligosacáridos suelen contener aldosas (y ketosas) sólo, pero también pueden contener ácido urónico, metilado o acilado u otras unidades derivatizadas comúnmente.

40 El arabinooligosacárido puede ser un oligosacárido puro, definido exactamente o, más comúnmente, una mezcla de oligosacáridos con longitud de cadena cambiante y posiblemente también con modelos de ramificación cambiante y/o composición de sacáridos cambiante. Los arabinooligosacáridos son preferiblemente de origen natural, aislados directamente de su fuente natural, o aislados e hidrolizados o sintetizados mediante prolongación de cadena. La hidrólisis puede ser efectuada químicamente (ácido) o enzimáticamente (glicanasas) como se describe abajo, y la síntesis es realizada normalmente enzimáticamente (transferasas).

45 Algunas fuentes adecuadas de tales polímeros insolubles que se producen de forma natural incluyen extracto de remolacha azucarera, el cual contiene principalmente arabinanos lineales, fibra de cereales, por ejemplo de trigo y cebada, los cuales contienen arabinoxilosacáridos ramificados (cadenas de xilano con arabinosa y otras unidades laterales), y fibra de manzana, patata y semilla de soja, los cuales contienen arabinogalactanos ramificados de diversos tipos. Aquellos también pueden originarse a partir de gomas que contienen arabinosa, tales como goma arábiga, tragacanto (la fracción de basorina del mismo), goma ghatti, etc.

La presencia de uno o más arabinosacáridos en una muestra (tal como las composiciones nutricionales de la invención y/o los hidrolizados mencionados abajo) puede ser probada usando técnicas analíticas conocidas *per se*, tales como cromatografía de intercambio aniónico de alto rendimiento (HPAEC), y sus cantidades pueden ser determinadas por ejemplo mediante filtración de gel preparativo seguida de hidrólisis del ácido trifluoroacético y la HPAEC.

La composición nutricional de la invención puede contener uno o varios (tipos de) arabinooligosacáridos diferentes. Cuando la composición nutricional de la invención contiene varios arabinooligosacáridos diferentes, éstos pueden diferir en su grado de polimerización (GP, el número total de residuos sacáridos en la cadena del oligosacárido); en el número y/o la posición de los residuos de L-arabinosa presentes en su cadena del oligosacárido; en los (tipos de) los residuos sacáridos que forman la cadena del oligosacárido, las cantidades relativas de los mismos y/o el orden de los mismos; y/o en cualquier combinación de los mismos. Además, los arabinooligosacáridos presentes en la composición nutricional de la invención pueden diferir en la manera en la cual fueron obtenidos y/o en el material inicial a partir del cual fueron obtenidos, por ejemplo como se continúa describiendo abajo.

En la presente invención, los arabinooligosacáridos están previstos e incorporados preferiblemente en la composición nutricional en forma de un hidrolizado que contiene al menos un arabinooligosacárido como se ha definido arriba. Tales hidrolizados forman otro aspecto de la invención. Preferiblemente, tales hidrolizados son obtenidos por hidrólisis a partir de un material inicial que contiene unos o más polímeros sustituidos con L-arabinosa, preferiblemente de origen natural. Por supuesto, también pueden usarse mezclas de tales polímeros de origen natural y/o de tales materiales iniciales disponibles de forma natural.

Por lo general, los hidrolizados de la invención contendrán al menos un oligómero, y normalmente varios oligómeros diferentes, dependiendo del material inicial elegido, la manera en la cual el material inicial ha sido hidrolizado, así como los pasos adicionales de procesamiento, separación y/o purificación aplicados después de la hidrólisis (si la hay).

Asimismo, además de los oligómeros terminados en arabinosa deseados, los hidrolizados de la invención también pueden contener cantidades de monómeros de arabinosa y otros monómeros de sacáridos. También pueden contener cantidades de polímeros de sacáridos sustituidos con arabinosa con un grado de polimerización (longitud de cadena) de más de 20. De nuevo, esto dependerá del material inicial elegido, la manera en la cual el material inicial ha sido hidrolizado, así como los pasos adicionales de procesamiento, separación y/o purificación aplicados después de la hidrólisis, si la hay.

Según la invención, se ha descubierto que, en las composiciones nutricionales de la invención, la presencia de ciertas cantidades de monómeros de polímeros (incluidos polímeros insolubles) no influirá de manera esencial (por ejemplo, restar valor a) sobre la acción fomentadora de la salud de los oligómeros sustituidos con L-arabinosa de la invención, y también se puede permitir de otra forma. No obstante, preferiblemente, la cantidad de oligómeros en los hidrolizados usados en las composiciones nutricionales de la invención es al menos el 5%, preferiblemente al menos el 20%, basada en la cantidad total de oligómeros, monómeros y polímeros (incluidos polímeros insolubles) presente en los hidrolizados.

Así, los hidrolizados que son incorporados a las composiciones nutricionales de la invención pueden contener, en lo que a carbohidratos que contienen arabinosa se refiere (proporciones del peso): 0-50% de monómeros, 10-100% de oligómeros (2 a 20-meros) y 0-70% de polímeros (>20-meros). Preferiblemente, las proporciones son 2-40% de monómeros; 20-80% de oligómeros que contienen arabinosa; 2-40% de otros oligómeros, y 10-60% de polímeros. De la forma más preferible, las proporciones son 35-75% de oligómeros que contienen arabinosa; 5-30% de otros oligómeros no digeribles; 5-30% de monómeros, y 15-35% de polímeros no digeribles.

La hidrólisis de los polímeros iniciales (es decir, para proporcionar los hidrolizados de arriba) puede ser realizada de cualquier manera conocida *per se*, dependiendo del material inicial usado y el hidrolizado deseado. La hidrólisis ácida y la hidrólisis enzimática son preferidas, con la hidrólisis enzimática siendo especialmente preferida. Las condiciones adecuadas para la hidrólisis ácida incluyen el uso de medios acuosos que contengan ácidos tales como el ácido clorhídrico, el ácido sulfúrico, el ácido fosfórico, un ácido orgánico o ácidos poliméricos o inmovilizados (resina de ácido) bajo condiciones usuales.

Para la hidrólisis enzimática, puede usarse cualquier enzima o combinación de enzimas adecuada para degradar los polímeros iniciales. Preferiblemente, éstas son endoenzimas, y ejemplos adecuados y fuentes de las mismas serán evidentes para el experto en la materia. La síntesis enzimática puede ser realizada con transferasa, es decir, enzimas capaces de transferir un residuo de arabinosa a un mono u oligosacárido.

Las condiciones adecuadas para la hidrólisis enzimática dependerán del material inicial y la enzima usados. Preferiblemente, se usan un pH y una temperatura cercanos al pH y la temperatura óptimos de la enzima. Las condiciones adecuadas pueden por ejemplo comprender el uso de endogalactanasa purificada de 1 $\mu\text{g/ml}$ en una solución de sustrato acuoso en un pH entre 4.5 y 6, a una temperatura de aproximadamente 30°C durante de 30 minutos a 3 horas en una concentración de arabinogalactano inicial del 0.5-20% en peso. Como será evidente para el experto en la materia, los materiales iniciales, las enzimas usadas, las condiciones de la hidrólisis y los pasos adicionales opcionales de procesamiento son elegidos de la manera más preferible de tal forma que el hidrolizado resultante todavía es aceptable para

ES 2 283 462 T3

uso en las composiciones nutricionales de la invención. Normalmente, esto supondrá el uso de materiales iniciales, enzimas, etc. aceptables para uso en aplicaciones alimenticias, por ejemplo con el estatus GRAS.

5 Por lo general, se permite que la hidrólisis continúe hasta que el hidrolizado obtenido contenga al menos el 10%, preferiblemente al menos el 20%, de la forma más preferible al menos el 50% de oligómeros que contengan arabinosa. El progreso de la hidrólisis puede ser seguido usando cualquier método adecuado, el cual normalmente implicará la determinación de la cantidad de los oligómeros formados, la cantidad de monómeros formados, y/o la cantidad de polímeros restantes. Las técnicas adecuadas, tales como técnicas de cromatografía, serán evidentes para el experto en la materia. Los polímeros iniciales que contienen arabinosa pueden ser usados como tales, o pueden ser purificados para aumentar el rendimiento del producto deseado. Tal pretratamiento puede incluir extracción química (solución de hidróxido sódico) o extracción física (extrusión).

15 Por ejemplo, para la degradación de polímeros de origen natural mencionados abajo, y para la síntesis de transferencia, respectivamente, se pueden usar las enzimas siguientes:

Material inicial	Enzima	Oligómero
arabinano	endoarabinasa	arabinoooligosacáridos
arabinoxilano	endoxilanasas	arabinoxiloooligosacáridos
20 arabinogalactano	endogalactanasas	arabinogalactooligosacáridos
arabinobiosa	arabinofuranohidrolasa	arabinotriosa y homólogos mayores

25 Los hidrolizados obtenidos después de la hidrólisis pueden ser incorporados como tales a las composiciones nutricionales de la invención, o después de pasos adicionales de procesamiento/purificación, por ejemplo para calmar la reacción de hidrólisis (por ejemplo para inactivar la(s) enzima(s) y/o para aumentar el pH), para eliminar componentes de la mezcla de la hidrólisis tales como sales y/o las enzimas usadas; para eliminar productos secundarios de la reacción de la hidrólisis; y/o para reducir la cantidad de monómeros o la cantidad de polímeros solubles o insolubles. Esto puede ser realizado usando cualesquiera técnicas de purificación y/o procesamiento conocidas *per se*, incluidas la neutralización, la precipitación, la filtración, la diálisis, la ultrafiltración, o una combinación adecuada de tales pasos. Estos pasos resultan preferiblemente en un hidrolizado como se describe arriba para la incorporación a las composiciones nutricionales de la invención.

35 Además, una composición nutricional de la invención puede contener una combinación de hidrolizados de este tipo, es decir, obtenida a partir de distintos materiales iniciales, usando diferentes condiciones de hidrólisis (por ejemplo enzimas usadas y/o grado final de la hidrólisis) y/o diferentes pasos adicionales de purificación/procesamiento.

40 Así, en otro aspecto, la invención se refiere a un método para preparar un hidrolizado que contiene al menos un oligosacárido sustituido con L-arabinosa, comprendiendo dicho método la hidrolización de uno o más polímeros sustituidos con L-arabinosa y opcionalmente uno o más pasos de procesamiento adicionales conocidos *per se*.

45 La invención se basa en el descubrimiento que los arabanos oligoméricos tienen una acción fomentadora de la salud, en particular con respecto a la prevención y/o el tratamiento de trastornos del tracto gastrointestinal. En particular, se ha descubierto que los arabinoooligosacáridos pueden prevenir y/o reducir la adhesión o translocación de microorganismos no deseados a la pared intestinal, y también tienen un efecto "bifidogénico", con el cual se quiere decir que pueden fomentar una flora saludable en el tracto gastrointestinal, el cual en niños la hace más similar a la flora de niños amamantados y/o puede usarse para prevenir y/o tratar cualquier trastorno en la flora de origen natural en el tracto gastrointestinal. Estos efectos son especialmente beneficiosos en pacientes clínicos y en recién nacidos. Además, los productos inducen una función inmunológica mejorada y una absorción mejorada de minerales como calcio y magnesio, la cual es beneficiosa para la mujer menopáusica, personas mayores, y pacientes que padecen una función intestinal alterada.

55 Las composiciones de la invención pueden proveer su acción fomentadora de la salud por todo el intestino delgado y el grueso y/o una o más partes del mismo, incluidos el duodeno, el yeyuno, el íleon y el colon. De forma similar, las composiciones de la invención también pueden proveer su antiadhesión y/o su efecto bifidogénico por todo el tracto intestinal y/o partes del mismo, las cuales pueden ser las mismas o partes diferentes.

60 Para este propósito, las composiciones nutricionales de la invención pueden contener diferentes oligómeros, los cuales pueden proporcionar acción que fomenta la salud en partes diferentes del tracto gastrointestinal. Además, las composiciones nutricionales de la invención pueden contener varios oligómeros diferentes, uno o más de los cuales proporcionan un efecto de antiadhesión y uno o más de los cuales proporcionan un efecto bifidogénico. Además, composiciones nutricionales de la invención pueden contener oligómeros diferentes (por ejemplo con grados diferentes de hidrólisis) para proveer un efecto de antiadhesión en diferentes partes del tracto gastrointestinal, y/o varios oligómeros diferentes (por ejemplo, con diferentes grados de hidrólisis) para proporcionar un efecto bifidogénico en diferentes partes del tracto gastrointestinal.

65 De esta manera, la administración oral de una composición nutricional de la invención que contenga varios oligómeros diferentes, elegidos de manera adecuada, puede producir la acción fomentadora de la salud en varias o esencial-

ES 2 283 462 T3

mente todas las partes del tracto gastrointestinal de manera simultánea. Además, mediante administración oral de tal composición, se pueden obtener de manera simultánea tanto un efecto de antiadhesión como un efecto bifidogénico, en una, varias o esencialmente todas las partes del tracto gastrointestinal, las cuales pueden ser las mismas o diferentes. Además, usando una combinación de varios oligómeros diferentes, se puede obtener un efecto sinérgico.

5 Según un aspecto preferido, las composiciones nutricionales de la invención proporcionan su efecto de antiadhesión en el intestino delgado y/o proporcionan su efecto bifidogénico en el intestino grueso. Por lo general, para un efecto de antiadhesión, los más adecuados son oligómeros lineales y ramificados, preferiblemente con un grado de polimerización (GP) de 2-10. Para un efecto bifidogénico, los más adecuados son oligómeros los cuales sean ramificados
10 y tengan un GP de hasta 20.

Por lo general, para obtener el efecto de acción fomentadora de la salud de la invención, los oligómeros normalmente serán administrados a un adulto en una cantidad que varíe entre 0'01 y 0'5 g por kg de peso corporal por día; y a un niño en una cantidad que varíe entre 0'02 y 1'0 g por kg de peso corporal al día. Estas cantidades de oligómeros
15 pueden ser administradas como dosis individual al día o como varias dosis al día, con 1-6, en particular 1-3 dosis al día siendo preferidas.

Más específicamente, para obtener el efecto de antiadhesión de la invención, los arabinooligosacáridos serán normalmente administrados a un adulto en una cantidad que varíe de 0'01 a 02 g por kg de peso corporal al día; y a un niño en una cantidad que varíe de 0'02 a 0'4 g por kg de peso corporal por día; de nuevo como dosis única o como
20 varias dosis al día.

Para obtener el efecto bifidogénico de la invención, los oligómeros normalmente serán administrados a un adulto en una cantidad entre 0'1 y 0'5 g por kg de peso corporal al día; y a un niño en una cantidad entre 0'2 y 1'0 g por kg de peso corporal al día; también como dosis única o como varias dosis al día.

A partir de arriba, será evidente que (puesto que la cantidad de arabinooligosacáridos que se suele administrar para obtener el efecto bifidogénico es mayor que la cantidad administrada habitualmente para obtener el efecto de antiadhesión) la administración de los arabinooligosacáridos para obtener el efecto bifidogénico también resultará
30 normalmente en un efecto de antiadhesión, dependiendo de los oligómeros presentes.

La administración de las composiciones nutricionales de la invención puede ser continuada hasta que se obtenga la acción fomentadora de la salud deseada y/o (cuando sean administradas como profilácticos) hasta que el individuo ya no esté expuesto a condiciones que requieran protección (adicional) contra trastornos del tracto gastrointestinal.

35 La composición nutricional de la invención puede estar en cualquier forma adecuada para la administración humana, y en particular adecuada para la administración a cualquier parte del tracto gastrointestinal. Normalmente, y preferiblemente, esto conllevará (composiciones adecuadas para) administración oral, aunque por ejemplo la administración en el intestino (tal como a través de un tubo o catéter) también forma parte de la invención.

40 En particular, la composición nutricional puede estar en la forma de un suplemento alimenticio o en la forma de un alimento completo que esté listo para el consumo, tal como un alimento total o fórmula de niños.

Cuando la composición de la invención esté en la forma de un suplemento alimenticio, puede estar en una forma para administración separada, tal como una cápsula, una pastilla, un polvo, un sobre, una composición líquida (por ejemplo, gotitas) o una forma similar, conteniendo preferiblemente una dosis unitaria de oligómeros de la invención. Tal suplemento puede comprender además uno o más adyuvantes, portadores o excipientes adecuados para uso en suplementos alimenticios, así como uno o más de los componentes adicionales y/o aditivos descritos más abajo.

50 El suplemento alimenticio también puede estar en la forma de un polvo, una composición líquida (por ejemplo, gotitas) o una forma similar, el cual se añade a o se mezcla con una (composición) alimenticia adecuada o un portador líquido o sólido adecuado, para la preparación de un alimento o bebida que esté listo para el consumo. Por ejemplo, el suplemento alimenticio puede estar en la forma de un polvo que puede ser mezclado con, y/o reconstituido con agua, leche, zumo de fruta, bebidas para niño, solución de rehidratación oral (para proporcionar una llamada bebida de ORS), etc. También puede estar en la forma de un polvo o líquido que puede estar mezclado con alimentos sólidos o con alimentos con un alto contenido en agua, tales como alimentos fermentados, por ejemplo el yogur.

Un suplemento alimenticio según la invención contiene preferiblemente los oligosacáridos que contienen arabinosa no digeribles (1) junto con polisacáridos no digeribles (3) (contengan o no unidades de arabinosa), opcionalmente otros oligosacáridos no digeribles (2) y carbohidratos digeribles (4), tales como la glucosa, la fructosa, y/o maltodextrinas, en una relación del peso de (1) + (2) + (3) a (4) de 1:5 a 24:1. La cantidad de (1) es 1-90% del peso total en seco del suplemento, preferiblemente 5-40%, la cantidad de (2) es 0-50%, preferiblemente 2-25%, la cantidad de (3) es 2-50%, preferiblemente 5-30%, y la cantidad de (4) es 4-80%, preferiblemente 10-50%. El resto, si lo hay, puede ser vitaminas, minerales, proteínas, colorantes, conservantes y similares.

65 Las composiciones nutricionales de la invención también pueden estar en la forma de un alimento sólido, semisólido o líquido que esté listo para el consumo. Tal alimento comprenderá normalmente (además del uno o más oligómeros de la invención) un alimento o base alimenticia conocido *per se*, y puede por ejemplo estar preparado mediante

ES 2 283 462 T3

- la adición de un suplemento alimenticio como se describe arriba a un alimento o base alimenticia conocida *per se*;

- la adición de uno o más oligómeros de la invención a un alimento o base alimenticia conocida *per se*; y/o

- la incorporación de uno o más oligómeros de la invención a un alimento o base alimenticia conocida *per se* durante la preparación del mismo.

Como tales, las composiciones nutricionales en la invención pueden ser alimentos para el consumo oral, por ejemplo un alimento total o una fórmula para niños. También pueden ser alimentos para la administración por tubo o catéter en el estómago, por ejemplo por tubo o catéter.

La composición nutricional de la invención, si está en la forma de un alimento para el consumo o un suplemento alimenticio, puede comprender además todos los componentes deseados y/o aditivos para el uso en alimentos o suplementos alimenticios, incluidos pero no limitados a sabores, colorantes, conservantes, azúcar, etc., siempre y cuando éstos no interfieran (demasiado) con la acción fomentadora de la salud deseada de los oligómeros. La composición puede contener uno o más péptidos y/o proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas, minerales y elementos trazo, en cantidades habituales.

Un alimento completo según la invención comprende preferiblemente proteínas (4-35%, preferiblemente 7-25%), lípidos (4-40%, preferiblemente 7-35%), carbohidratos digeribles (30-90%, preferiblemente 35-75%), además de 0'07-6%, preferiblemente 0'2-4% de oligosacáridos que contienen arabinosa no digeribles. La compensación hasta el 100% (todos los porcentajes en peso) pueden ser otros carbohidratos no digeribles, por ejemplo en una proporción de 0-10%, preferiblemente 0'1-5%, al menos la mitad de los cuales se componen preferiblemente de oligosacáridos. Donde el alimento completo es una alimentación por tubo, la cantidad de oligosacáridos que contienen arabinosa no digeribles es preferiblemente 0'07-2'5%, en particular 0'2-2%. En una fórmula para niños, la cantidad de oligosacáridos que contienen arabinosa no digeribles es preferiblemente mayor, es decir, 0'15-6%, en particular 0'4-4%.

La composición de la invención puede contener también una o más sustancias adicionales que inhiban la adhesión bacteriana a la pared epitelial del tracto gastrointestinal, incluidos los mananos, oligómeros del ácido galacturónico, preferiblemente de origen natural, como resultado de lo cual se puede obtener un efecto sinérgico.

Las composiciones pueden y preferiblemente contienen además prebióticos, así como compuestos prebióticos, en particular fibras y proteínas. Las fibras en particular incluyen polisacáridos solubles e insolubles no digeribles, tales como polisacáridos no amiláceos (de la celulosa, hemicelulosa y otros tipos), almidón resistente, gomas, etc. Es particularmente preferido que las composiciones de la invención comprendan otros oligosacáridos no digeribles, los cuales suelen ser solubles. Éstos incluyen los transgalactooligosacáridos (TOS o GOS), los fructooligosacáridos (FOS), los xilooligosacáridos (XOS) y los manooligosacáridos. Estos otros oligosacáridos son preferiblemente obtenidos a partir de fuentes naturales, bien por extracción directa, por ejemplo en el caso de la inulina (FOS), o por hidrólisis de polisacáridos adecuados o mezcla de polisacáridos, por ejemplo en el caso de la inulina y la levana (FOS), los galactanos y los galactomananos (TOS), y los xilanos y otros constituyentes de la hemicelulosa (XOS) o por síntesis enzimática usando las transferasas apropiadas, por ejemplo en el caso de FOS y TOS.

Estos otros oligosacáridos pueden ser añadidos como tales, especialmente si son obtenidos por extracción directa o síntesis (FOS o TOS) o pueden ser cohidrolizados con los arabinopolisacáridos para obtener una fracción de oligosacáridos que contenga ambos arabinooligosacáridos de la invención y otros oligosacáridos, por ejemplo xilo y/o galactooligosacáridos. Estos pueden ayudar (más) a mantener y/o reestablecer la flora intestinal, lo cual puede resultar de nuevo en un efecto sinérgico. Las cantidades de otros oligosacáridos pueden variar, por ejemplo del 10% al 400% con respecto a la cantidad total de oligosacáridos no digeribles, especialmente en una relación de arabinooligosacáridos (AOS) a otros oligosacáridos entre 1:3 y 3:1.

Las composiciones también pueden contener ventajosamente organismos probióticos tales como bifidobacterias, lactobacilos y otras bacterias del ácido láctico, por ejemplo a niveles de al menos 10^7 microorganismos viables por dosis diaria por individuo.

Las composiciones de la invención también pueden contener anticuerpos tales como inmunoglobulinas que actúan específicamente contra los microorganismos patogénicos, más específicamente contra las cepas enterotoxigénicas *E. coli*, especies de rotavirus, *Clostridia*, *Salmonella* y/o *Campylobacter*. Estas inmunoglobulinas son usadas en cantidades de al menos 20 pg por 100 g de la composición. Las composiciones también pueden contener al menos 2 mg/100 g de los compuestos sialitidos de la composición, y al menos 2 mg/100 g de producto de un compuesto bactericida, tal como preferiblemente lactoferrina.

Además, las composiciones de la invención pueden contener otros componentes que fomentan la salud conocidos *per se*, tales como medicamentos, etc. En particular, las composiciones pueden contener compuestos que tengan una influencia beneficiosa sobre el tracto gastrointestinal, tales como glutamina/glutamato o precursores de los mismos, los cuales proporcionan combustible para las células de la pared gastrointestinal. De nuevo, mediante el uso de tal combinación, se puede obtener un efecto sinérgico.

ES 2 283 462 T3

La cantidad de uno o más oligómeros descritos arriba que está presente en una composición nutricional de la invención normalmente dependerá de (*inter alia*) los oligómeros usados, la forma de la composición (por ejemplo, como un alimento total o como un suplemento alimenticio), el efecto fomentador de la salud pretendido (por ejemplo, inhibidor de la adhesión y/o bifidogénico), y el número de dosis por día a ser administradas. Por lo general, la cantidad será tal que permita la administración fácil de los oligómeros en las cantidades diarias mencionadas arriba, por ejemplo como una dosis individual o como varias dosis al día.

Las cantidades que han de ser administradas se dan más abajo con referencia a una dosificación diaria, a no ser que se indique otra cosa. Una dosificación diaria para un adulto se toma como correspondiente a una toma de energía de 2.000 kcal/día, o aproximadamente 25 kcal por kg de peso corporal al día. Así, una cantidad dada como una dosificación diaria, donde se refiere a alimentos completos, significa una cantidad por 2.000 kcal de energía para un adulto. Para un niño, la toma de energía es normalmente mayor, por ejemplo aproximadamente 50 kcal por kg de peso corporal al día. Para suplementos alimenticios, la cantidad es naturalmente más elevada: si el suplemento contiene componentes de energía, tales como carbohidratos, la cantidad por dosificación diaria puede ser por ejemplo la cantidad por 200 o por 400 kcal de energía. Las cantidades dadas también pueden hacer referencia al peso total de la composición nutricional como se da más abajo y en las reivindicaciones anexas.

Normalmente, una composición nutricional de la invención contendrá una dosis unitaria de los oligómeros y/o una cantidad predeterminada de hidrolizado. Por ejemplo, un suplemento alimenticio de la invención puede contener un total de 0'3 a 10'0 g de oligómeros que contienen arabinosa, y/o un total de 2'5 a 50 g de hidrolizado de la invención. Cantidades preferidas son entre 0'5 y 8 g de oligómeros y entre 5 y 25 g de hidrolizado. Un alimento total de la invención puede por ejemplo contener un total de 0'5 a 10'0 g de oligómeros (preferido 1'0 a 8 g), y/o un total de 2'5 a 50 g (preferido 5 a 25 g) de hidrolizado de la invención. Una fórmula para niños de la invención puede por ejemplo contener un total de 0'5 a 10'0 g (preferido 1'0 a 8'0 g) de oligómeros, y/o un total de 1 a 20 g (preferido 2'0 a 16'0 g) del hidrolizado de la invención.

Las composiciones nutricionales de la invención pueden utilizarse para prevenir o tratar cualquier número de trastornos del tracto gastrointestinal, y/o reducir o aliviar los síntomas de trastornos de este tipo. Estos trastornos incluyen, pero no están limitados a la diarrea infecciosa, la diarrea del viajador, la diarrea asociada a antibióticos. Las composiciones de la invención son particularmente adecuadas para la prevención de la diarrea infecciosa provocada por microorganismos tales como *E. coli* o *Shigella*, como puede ocurrir durante el desplazamiento y/o después de tratamiento con antibióticos.

Para éstas y otras solicitudes, los oligómeros proporcionan los efectos y ventajas siguientes:

- reducen y/o previenen la adhesión de patógenos tales como *E. coli* (ECEH) y *Shigella* a la (pared del) tracto gastrointestinal, y en particular la pared intestinal; esto reduce el riesgo de infección;

- promueven la flora natural en el tracto gastrointestinal y de ese modo reducen o previenen el crecimiento de patógenos;

- promueven y/o reestablecen la digestión normal y un equilibrio apropiado de electrolitos en el tracto gastrointestinal.

En estas y otras solicitudes, algunas ventajas adicionales del uso de los oligómeros incluyen:

- estimulan el crecimiento de especies de bifidobacterias que no son estimuladas por, por ejemplo, TOS, el cual es considerado también un prebiótico;

- la fermentación de los oligómeros de la invención puede mejorar la absorción de calcio del colon;

- los oligómeros tienen una viscosidad que los hace particularmente adecuados para la preparación de alimentos para la administración en el estómago por tubo o catéter.

En otro aspecto, la invención en consecuencia se refiere al uso de al menos un oligómero, y/o de un hidrolizado que contiene al menos un oligómero como se describe arriba, en (la preparación de) una composición nutricional para la prevención y/o el tratamiento de trastornos del tracto gastrointestinal, tales como trastornos enunciados arriba, en particular para la prevención y/o tratamiento de diarrea, y en particular diarrea infecciosa.

La invención también se refiere al uso de al menos un oligómero, y/o de un hidrolizado que contiene al menos un oligómero como se describe arriba, en (la preparación de) una composición nutricional para reducir y/o prevenir la adhesión y/o el crecimiento de microorganismos no deseados tales como patógenos a la (pared del) tracto gastrointestinal.

También, en otro aspecto, la invención también se refiere al uso de al menos un oligómero, y/o de un hidrolizado que contiene al menos un oligómero como se describe arriba, en (la preparación de) una composición nutricional para promover o reestablecer la flora intestinal natural, y/o para prevenir o reducir un trastorno de la flora intestinal natural.

ES 2 283 462 T3

Aunque los oligómeros de la invención de la forma más preferible tienen un grado de polimerización de 2-20, debería ser evidente que también se puede proporcionar cierta acción fomentadora de la salud por oligómeros del tipo general, pero con un grado de polimerización de cierta forma mayor, por ejemplo en la región de 21-30. Así, aunque no preferido, el uso de cantidades menores de oligómeros de este tipo, si ello resulta en una acción fomentadora de la salud como se describe aquí, debería ser considerada equivalente a las formas de realización descritas arriba.

Ejemplos

10 Ejemplo 1

Producción de arabinooligosacáridos

15 La fibra de remolacha azucarera comercial (Atlantis serie 2025) que contiene el 80% de fibra dietética, aproximadamente la mitad de la cual es soluble, contiene aproximadamente el 39% de arabinosa (determinada usando HPAEC después de hidrólisis TFA). La fibra es disuelta en tampón de acetato (50 mM, pH 5) y es incubada a 40°C con una endoarabinasa, por ejemplo como está presente en la preparación de enzimas comercial Ultra SP (Novo Nordisk). Después del periodo de incubación, la reacción es detenida usando un paso de calentamiento (100°C). El producto es secado por pulverización y contiene aproximadamente el 10% de monómero (mayormente arabinosa), el 20% de arabinooligosacáridos (GP 2-6), el 10% de otros oligosacáridos (GP 2-20), el 10% de fibra soluble (GP > 20) y el 50% de fibra insoluble (GP > 20).

Ejemplo 2

25 *Producción de arabinooligosacáridos*

El arabinano (Megazyme, 50% de arabinosa en forma de polímero) fue incubado con Ultra SP (10 µl) durante 3 horas a 40°C y pH 5. Después de la desactivación de la enzima, el producto fue liofilizado y analizado usando HPAEC. Después de 3 horas de incubación, la fracción de carbohidratos se componía de aproximadamente el 25% de monómero, el 40% de arabinooligosacáridos (GP 2-20), el 10% de otros oligosacáridos (sin contenido en arabinosas) y el 25% de material con un GP por encima de 20. Después de la filtración a través de un filtro de 0.1 mm, el líquido estéril es secado por pulverización.

Ejemplo 3

35 *Efecto antiadhesivo*

Los oligosacáridos diferentes obtenidos por hidrólisis de fibras fueron usados para medir la inhibición del enlace de patógenos a células cancerígenas del colon humano. Las células para el experimento de enlace son cultivadas bajo condiciones estándar. El medio de crecimiento es retirado de las células y se añade 0.2 ml de medio esencial mínimo, 0.4 ml de solución de ECEH (2×10^8 ufc/ml) y 0.4 ml de solución de prueba (5-10 mg/ml de fibra hidrolizada). Huecos apropiados son usados como controles. Las células son incubadas durante una hora a 37°C, después de lo cual el medio es retirado. Las células son lavadas cinco veces con tampón de PBS, lisadas, homogenizadas, diluidas y colocadas para contar unidades formadoras de colonias, siguiendo procedimientos estándar. La comparación de la cantidad de ufc encontrada con el hueco y con una de las fracciones, el poder inhibidor de la fracción puede ser calculado como reducción del porcentaje de enlace. La tabla más abajo resume los resultados de la reducción del enlace. Los resultados muestran que los oligosacáridos que contienen arabinosa reducen el enlace de ECEH con células Caco-2 mejor que cualquiera de los otros oligosacáridos. Especialmente los arabinooligosacáridos muestran una capacidad muy elevada de reducción del enlace, pero también los arabinoxilo y los arabinogalactooligosacáridos muestran más del 60% de reducción del enlace. Todos los otros oligosacáridos (que no contienen arabinosa) tienen menos del 60% de actividad de reducción del enlace.

55

60

65

ES 2 283 462 T3

<i>Oligosacáridos</i>	<i>% de reducción del enlace</i>
Arabinano	91
Arabinoxilano	75
Arabinogalactano	63
Galactano	52
Xilano	3
Galactomanano	24
Galacturonano	21
Lactosa	28

Ejemplo 4

Efecto bifidogénico

- los arabanos hidrolizados (GP 2-9, conteniendo aproximadamente monómero al 10%) de remolacha azucarera (ver el ejemplo 3) estimulan el crecimiento de cepas de bífidobacteria: *lactis, infantis, angulatum* y *pseudocatelulatum*.

- cuando 150 mg de oligosacáridos específicos se añaden a 5 g de heces, el crecimiento de las bífidobacterias aumenta. Cuando los oligosacáridos son transgalactooligosacáridos, el contenido de bífidobacterias aumenta con el 5%. Cuando los oligosacáridos son arabinogalactanos, el número aumenta en aproximadamente el 38% durante el mismo período de tiempo. Cuando se usan oligómeros de arabinosa, el aumento es aproximadamente el 68%.

Ejemplo 5

Composición nutricional

Una fórmula para niños es preparada mezclando los componentes siguientes.

<i>Componente</i>	<i>g por 100 ml</i>	
Equivalentes de proteína	1'40	
Caseína		0'60
Proteína del lactosuero		0'80
Carbohidratos	7'0	
Lactosa		1'3
Glucosa		0'2
Maltosa		2'1
Polisacáridos		3'5
Lípidos	3'6	
Saturados		1'4
Monoinsaturados		1'7
Poliinsaturados		0'5
Arabinooligosacáridos según el ejemplo 1	0'1	

Otros componentes: minerales, elementos traza y vitaminas en cantidades como recomienda el reglamento CEE 321.

Ejemplo 6

Suplemento para el tratamiento de la diarrea

El producto del ejemplo 2 (10 kg de peso en seco), glucosa (20 kg), citrato de potasio (2'9 kg) y cloruro sódico (3'2 kg) son disueltos en agua a un total de 1000 l en un tanque para producir un líquido.

ES 2 283 462 T3

Ejemplo 7

Suplemento para mejorar la función intestinal

- 5 Una mezcla de 2 g de arabinosilanos hidrolizados, 2 g de fructooligosacáridos, 2 g de polisacáridos de soja, 1 g de una preparación probiótica conteniendo aproximadamente 10^{10} de células de lactobacillus liofilizadas, 5 g de maltodextrinas y aromatizantes es preparada como una forma de dosificación diaria de 12 g envasados en sobres. Mejora la función intestinal.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Composición nutricional en forma de dosificación diaria única individual o múltiple, que contiene oligosacáridos no digeribles, comprendiendo dichos oligosacáridos, por dosificación diaria, 0'3-10 g de oligosacáridos no digeribles con un grado de polimerización (GP) de 2-20 y conteniendo al menos una unidad terminal de L-arabinosa.

10 2. Composición nutricional según la reivindicación 1, comprendiendo además, por dosificación diaria, 0'5-10 g de otros oligosacáridos no digeribles seleccionados de los fructooligosacáridos, los galactooligosacáridos, los xilooligosacáridos, y los manaoligosacáridos.

15 3. Composición alimenticia completa conteniendo proteínas (4-35% en peso), lípidos (4-35% en peso), y carbohidratos digeribles (30-90% en peso), conteniendo dicha composición, sobre una base de peso en seco, 0'07-6% de oligosacáridos no digeribles con un grado de polimerización (GP) de 2-20 y conteniendo al menos una unidad terminal de L-arabinosa.

20 4. Composición alimenticia completa según la reivindicación 3, la cual es una composición de alimentación por tubo líquida conteniendo, sobre una base de peso en seco, 0'07-2'5% de oligosacáridos no digeribles conteniendo al menos una unidad terminal de L-arabinosa.

25 5. Composición alimenticia completa según la reivindicación 3, la cual es una fórmula para niños conteniendo, sobre una base de peso en seco, 0'15-6% de oligosacáridos conteniendo al menos una unidad terminal de L-arabinosa.

30 6. Suplemento nutricional que contiene, sobre una base de peso en seco, (1) 1-90% de oligosacáridos no digeribles con un grado de polimerización (GP) de 2-20 y que contiene al menos una unidad terminal de L-arabinosa, (2) 0-50% de otros oligosacáridos no digeribles, (3) 2-50% de polisacáridos no digeribles, siendo el total de (1), (2) y (3) al menos el 20%, y (4) 4-80% de carbohidratos digeribles.

35 7. Suplemento nutricional según la reivindicación 6, conteniendo además 10^7 de microorganismos probióticos por forma de dosificación diaria.

40 8. Uso de oligosacáridos con un grado de polimerización (GP) de 2-20 y que contiene al menos una unidad terminal de L-arabinosa, al preparar una composición nutricional para la prevención y el tratamiento de la adhesión de microorganismos patogénicos a la pared intestinal, y/o para el aumento de microorganismos bifidogénicos en el tracto intestinal.

45 9. Uso según la reivindicación 8, donde dichos oligosacáridos que contienen arabinosa son parte de la siguiente mezcla de sacáridos no digeribles:

(a) 10-100% (en peso) de dichos oligosacáridos que contienen arabinosa;

(b) 0-50% de otros oligosacáridos;

(c) 0-50% de monosacáridos;

50 (d) 0-70% de polisacáridos.

55 10. Uso según la reivindicación 9, donde dichos oligosacáridos que contienen arabinosa son parte de la siguiente mezcla de sacáridos no digeribles:

(a) 20-80% (en peso) de dichos oligosacáridos que contienen arabinosa;

(b) 10-50% de otros oligosacáridos;

(c) 2-40% de monosacáridos;

(d) 10-60% de polisacáridos.

60 11. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 8-10, donde dichos oligosacáridos que contienen arabinosa comprenden al menos el 50% de oligosacáridos que contienen al menos dos unidades terminales de arabinosa.

65 12. Mezcla de sacáridos obtenida por hidrólisis enzimática de polisacáridos que contienen L-arabinosa, que contiene:

(a) 20-80% (en peso) de oligosacáridos que contienen L-arabinosa con un grado de polimerización de 2-20;

(b) 2-40% de otros oligosacáridos no digeribles;

ES 2 283 462 T3

(c) 2-40% de monosacáridos; y

(d) 10-60% de polisacáridos no digeribles.

5 13. Mezcla de sacáridos según la reivindicación 12, que contiene:

(a) 35-75% (en peso) de oligosacáridos que contienen L-arabinosa;

10 (b) 5-30% de otros oligosacáridos no digeribles;

(c) 5-30% de monosacáridos; y

(d) 15-35% de polisacáridos no digeribles.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65