



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11) Número de publicación: **2 356 196**

51) Int. Cl.:
A23L 1/29 (2006.01)
A23L 1/308 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96) Número de solicitud europea: **06739414 .8**
96) Fecha de presentación : **23.03.2006**
97) Número de publicación de la solicitud: **1887888**
97) Fecha de publicación de la solicitud: **20.02.2008**

54) Título: **Uso de povidexrosa para simular los atributos funcionales de los oligosacáridos de la leche materna en bebés alimentados mediante fórmula.**

30) Prioridad: **01.06.2005 US 686390 P**
30.06.2005 US 172123

45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
05.04.2011

45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
05.04.2011

73) Titular/es: **MEAD JOHNSON NUTRITION COMPANY**
2400 West Lloyd Expressway
Evansville, Indiana 47721-0001, US

72) Inventor/es: **Petschow, Bryon W.;**
McMahon, Robert J.;
Gibson, Glenn R.;
Rastall, Robert A.;
Gemmell, Renia;
Saarela, Maria y
Aura, Anna-Marja

74) Agente: **Molinero Zofío, Félix**

ES 2 356 196 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

Uso de polidextrosa para simular los atributos funcionales de los oligosacáridos de la leche materna en bebés alimentados mediante fórmula.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 (1) Campo de la Invención

[0001] La presente invención se refiere al uso de polidextrosa en la simulación de los atributos funcionales de los oligosacáridos de leche materna en bebés.

(2) Descripción de la Técnica Relacionada

10 [0002] La microflora intestinal del bebé se establece rápidamente en las primeras semanas después del nacimiento. La naturaleza de esta colonización intestinal se determina inicialmente tanto mediante la exposición temprana a fuentes medio ambientales de microbios, como a la salud del bebé. El hecho de que el bebé se alimente de leche materna o mediante fórmula, tiene también una fuerte influencia sobre la población intestinal bacteriana.

15 [0003] En el bebé alimentado mediante leche materna, por ejemplo, las spp. Bifidobacterium dominan entre las bacterias intestinales, con Streptococcus spp y Lactobacillus spp como contribuyentes menos comunes. Por el contrario, la microflora de bebés alimentados mediante fórmula es más diversa, conteniendo Bifidobacterium spp y Bacteroides spp así como las especies más patogénicas, Staphylococcus, Escherichia coli y Clostridia. También difieren las diversas especies de Bifidobacterium en la evacuación de bebés alimentados con leche materna y mediante fórmula.

20 [0004] Las Bifidobacteria se consideran generalmente como bacterias "beneficiosas" y se conoce que protegen contra la colonización por parte de bacterias patogénicas. Esto ocurre preferentemente a través de la rivalidad con respecto a receptores de superficie celular, rivalidad con respecto a nutrientes esenciales, producción de agentes antimicrobianos, y producción de compuestos inhibitorios tales como ácidos grasos de cadena corta (SCFA) los cuales pueden disminuir el pH fecal e inhibir bacterias potencialmente patogénicas. Las Bifidobacteria se asocian también con la resistencia a la infección del tracto gastrointestinal (GI) y la respiratoria así como a una función inmune mejorada en niños y bebés. Por tanto, la promoción de un medio ambiente intestinal en el cual dominen las Bifidobacteria se ha convertido en un objetivo en el desarrollo de formulaciones nutricionales para bebés alimentados mediante fórmula.

25 [0005] La leche materna (HM) contiene un número de factores que pueden contribuir al crecimiento y población de Bifidobacteria en la flora intestinal de bebés. Entre estos factores hay una mezcla compleja de más de 130 oligosacáridos diferentes que alcanzan niveles tan elevados hasta de 8-12 g/L en leche en transición y madura. Kunz, et al., Oligosaccharides in Human Milk: Structure, Functional and Metabolic Aspects, Ann. Rev. Nutr. 20:699-722 (2000). Estos oligosacáridos son resistentes a digestión enzimática en el tracto gastrointestinal superior y llegan intactos al colon, donde sirven como sustratos para fermentación en el colon.

30 [0006] Se cree que los oligosacáridos de la leche materna propician un incremento en el número de Bifidobacteria en la flora de colon, conjuntamente con una reducción en el número de bacterias potencialmente patogénicas. Kunz, et al., Oligosaccharides in Human Milk: Structure Functional and Metabolic Aspects, Ann. Rev. Nutr. 20:699-722 (2000); Newburg, Do the Binding Properties of Oligosaccharides in Milk Protect Human Infants from Gastrointestinal Bacteria? J. Nutr. 217:S980.S984 (1997). Una manera en la que los oligosacáridos de HM pueden aumentar el número de Bifidobacteria y reducir el número de bacterias potencialmente patogénicas es actuando como receptores competitivos e inhibiendo el enlace de patógenos con la superficie de la célula. Rivero-Urgell, et al., Oligosaccharides: Application in Infant Food, Early Hum. Dev. 65(S): 43-52 (2001).

40 [0007] En adición a la reducción del número de bacterias patogénicas y la promoción de la población de bifidobacterias, cuando los oligosacáridos de HM se fermentan, ellos producen SCFAs tales como ácidos acético, propiónico y butírico. Se cree que estos SCFAs contribuyen al contenido calórico, sirven como una fuente principal de energía para el epitelio intestinal, estimulan la absorción de sodio y agua en el colon y mejoran la digestión y absorción en el intestino delgado. Adicionalmente, se cree que los SCFAs contribuyen a la salud gastrointestinal en su conjunto al modular el desarrollo gastrointestinal y la función inmune.

45 [0008] La fermentación de oligosacáridos de HM también reduce las concentraciones fecales de amoníaco, aminos y fenol, los cuales han estado implicados como los principales componentes malolientes de las heces. Cummings & Macfarlane, The Control and Consequences of Bacterial Fermentation in the Human Colon, J. Appl. Bacteriol. 70:443-459 (1991); Miner & Hazen, Ammonia and Amines: Components of Swine-Building Odor ASAE 12:772-774 (1969); Spoelstra, Origin of Objectionable Components in Piggery Wastes and Possibility of Applying Indicator Components for Studying Odour Development, Agric. Environ. 5:241-260 (1980); O'Neill & Phillips, A Review of the Control of Odor Nuisance from Livestock Buildings: Part 3, Properties of the Odorous Substances which have been identified in Livestock Wastes in the Air Around them J. Agric. Eng. Res. 53:23-50 (1992).

55 [0009] Como un resultado de los oligosacáridos presentes en la HM, el perfil de los SCFAs de un bebé alimentado con leche materna es muy diferente al de uno alimentado mediante fórmula. Por ejemplo, los bebés alimentados con leche

materna no producen butirato virtualmente, comprendiendo el acetato aproximadamente el 96% de la producción total de SCFAs. Lifschitz, et al., Characterization of Carbohydrate Fermentation in Feces of Formula-Fed and Breast-Fed Infants, *Pediatr. Res.* 27:165-169 (1990); Siigur, et al., Faecal Short-Chain Fatty Acids in Breast-Fed and Bottle-Fed Infants. *Acta. Paediatr.* 82:536-538 (1993); Edwards, et al., Faecal Short-Chain Fatty Acids in Breast-Fed and Formula-Fed Babies, *Acta. Paediatr.* 72:459-462 (1994); Parrett & Edwards, In Vitro Fermentation of Carbohydrates by Breast Fed and Formula Fed Infants, *Arch. Dis. Child* 76:249-253 (1997). Por el contrario, aunque los bebés alimentados mediante fórmula también tienen al acetato (74%) como el mayor SCFA en las heces, ellos tienen igualmente presente considerable cantidad de propionato (23%) y pequeñas cantidades de butirato (3%). Estas diferencias entre los perfiles de SCFA de bebés alimentados con leche materna y bebés alimentados mediante fórmula pudieran afectar la energía, digestión y la salud en general del bebé alimentado mediante fórmula.

[0010] Debido a que la leche de vaca y las fórmulas comercialmente disponibles para bebés que se basan en leche de vaca brindan solo cantidades mínimas de oligosacáridos, a menudo se utilizan prebióticos para suplementar la dieta de bebés alimentados mediante fórmula. Los prebióticos se han definido como "ingredientes alimenticios no digeribles que afectan de manera beneficiosa al huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de uno o un número limitado de bacterias en el colon que pueden mejorar la salud del huésped". Gibson, G.R. & Roberfroid, M.B., Dietary Modulation of the Human Colon Microbiota-Introducing the Concept of Probiotics, *J. Nutr.* 125:1401-1412 (1995). Los prebióticos comunes incluyen fructo oligosacáridos, gluco oligosacáridos, galacto oligosacáridos, iso-malto oligosacáridos, xilo oligosacáridos y lactulosa.

[0011] Se ha expuesto la incorporación de diversos ingredientes prebióticos a las fórmulas para bebés. Por ejemplo, la Solicitud de Patente de los EE. UU. No. 20 030 072 865 de Bindels, et al., expone una fórmula para bebés con un contenido mejorado de proteína y al menos un prebiótico. El componente prebiótico puede ser lacto-N-tetaosa, lacto-N-fucopentaosa, lactulosa (LOS), lactosucrosa, rafinosa, galacto oligosacárido (GOS), fructo oligosacárido (FOS), oligosacáridos derivados de polisacáridos de frijol de soja, oligosacáridos de base manosa, arabino oligosacáridos, xilo oligosacáridos, iso-malto oligosacáridos, glucanos, sialil oligosacáridos y fuco oligosacáridos.

[0012] De manera similar, la Solicitud de Patente de los EE. UU. No. 20 040 191 234 a Haschke expone un método para mejorar la respuesta inmune que comprende la administración de al menos un prebiótico. El prebiótico puede ser un oligosacárido producido a partir de glucosa, galactosa, xilosa, maltosa, sucrosa, lactosa, almidón, xilán, hemicelulosa, inulina o una mezcla de éstas. El prebiótico puede estar presente en un cereal para bebés.

[0013] Desafortunadamente, sin embargo, hay muchas desventajas en la administración de los prebióticos anteriores a bebés alimentados mediante fórmula. Aunque ellos pueden afectar de manera beneficiosa a la población de probióticos en el intestino, ellos no producen un perfil de SCFA similar al de un bebé alimentado mediante leche materna. Adicionalmente, la fermentación de muchas de estas sustancias prebióticas ocurre a una velocidad muy elevada, lo cual produce a menudo exceso de gas, distensión abdominal, hinchazón y diarrea. Por tanto, la elección de sustancias prebióticas en las fórmulas para bebés debe hacerse con el objetivo de maximizar los beneficios potenciales y minimizar tales efectos colaterales indeseables.

[0014] En correspondencia, sería beneficioso proporcionar una sustancia prebiótica que estimule los atributos funcionales de los oligosacáridos de la leche materna en bebés, tal como un aumento en la población y especies de bacterias beneficiosas en el intestino del bebé y la producción de un perfil de SCFA similar al de un bebé alimentado con leche materna. Adicionalmente, la sustancia prebiótica debería ser bien tolerada por los bebés y no debería producir o causar exceso de gases, distensión abdominal, hinchazón o diarrea.

SUMARIO DE LA INVENCION

[0015] La presente invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

[0016] Brevemente, por tanto, la presente invención se dirige primeramente a un uso novedoso de povidexrosa (PDX) en la producción de una fórmula para bebés para simular los atributos funcionales de oligosacáridos de leche materna al incrementar la producción de acetato y disminuir la producción de butirato para producir un perfil de ácido graso de cadena corta en un bebé alimentado mediante fórmula similar al que se produce en un bebé alimentado con leche materna, y al disminuir la velocidad y magnitud de la fermentación de prebióticos dentro del intestino de un bebé alimentado mediante fórmula.

[0017] La presente invención está también dirigida a una fórmula para bebés que comprende PDX y GOS, donde la cantidad total de PDX y GOS en la fórmula para bebés está entre 1,0 g/L y 10,0 g/L, para administración diaria.

[0018] La PDX puede utilizarse en la producción de una fórmula para bebés para aumentar la población y especies de bacterias beneficiosas en un bebé alimentado mediante fórmula.

[0019] La PDX puede utilizarse en la producción de una fórmula para bebés para producir un perfil de ácido graso de cadena corta (SCFA) en un bebé alimentado mediante fórmula la cual es similar a aquella de un bebé alimentado con leche materna. Específicamente, la PDX puede hacer que el perfil de SCFA tenga un nivel aumentado de acetato y una disminución en butirato.

[0020] La PDX puede utilizarse en la producción de una fórmula para bebés para disminuir la velocidad y magnitud de fermentación de prebióticos dentro del intestino de un bebé alimentado mediante fórmula. Más particularmente, la presente invención reduce la producción total de gases así como la producción de dióxido de carbono dentro del intestino del bebé.

5 [0021] Entre las diversas ventajas a alcanzar mediante la presente invención se precisa que es bien tolerada en bebés y simula los atributos funcionales de oligosacáridos de leche materna en bebés, tales como una población incrementada y especies de bacterias beneficiosas en el intestino del bebé, la optimización de las características de la evacuación, y la producción de un perfil de SCFA similar a aquel del bebé alimentado con leche materna.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

10 [0022] Para un mejor entendimiento de la presente invención, se hace referencia ahora a las siguientes descripciones tomadas de conjunto con los dibujos acompañantes.

[0023] La Figura 1 ilustra la producción total de SCFA durante la fermentación de GOS, LOS, PDX2 y FOS.

[0024] La Figura 2 ilustra cambios en el pH durante la fermentación de GOS, LOS, PDX2 y FOS.

15 [0025] La Figura 3 ilustra la proporción relativa de producción de ácido acético en la fermentación de GOS, LOS, PDX2 y FOS.

[0026] La Figura 4 ilustra la proporción relativa de producción de ácido propiónico en la fermentación de GOS, LOS, PDX2 y FOS.

[0027] La Figura 5 ilustra la proporción relativa de producción de ácido butírico en la fermentación de GOS, LOS, PDX2 y FOS.

20 [0028] La Figura 6 ilustra las proporciones relativas de ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico y producción total de SCFA en la fermentación de GOS, LOS, PDX2 y FOS.

[0029] La Figura 7 ilustra la producción total de SCFA durante la fermentación de varias combinaciones de carbohidratos prebióticos.

25 [0030] La Figura 8 ilustra los cambios en pH durante la fermentación de diversas combinaciones de carbohidratos prebióticos.

[0031] La Figura 9 ilustra la producción total de SCFA durante la fermentación de diferentes combinaciones de PDX y GOS.

[0032] La Figura 10 ilustra la concentración de ácido acético producido durante la fermentación de diferentes combinaciones de PDX y GOS.

30 [0033] La Figura 11 ilustra las concentraciones de ácido propiónico producidas durante la fermentación de diferentes combinaciones de PDX y GOS.

[0034] La Figura 12 ilustra la concentración de ácido butírico producida durante la fermentación de diferentes combinaciones de PDX y GOS.

35 [0035] La Figura 13 ilustra la formación de gases expresada como volumen total durante la fermentación de GOS, LOS, PDX2 y FOS.

[0036] La Figura 14 ilustra la formación de gases expresada como concentración de dióxido de carbono durante la fermentación de GOS, LOS, PDX2 y FOS.

[0037] La Figura 15 ilustra la formación de gases expresada como concentración de hidrógeno durante la fermentación de GOS, LOS, PDX2 y FOS.

40 [0038] La Figura 16 ilustra la formación de gases expresada como concentración de bisulfuro de hidrógeno durante la fermentación de GOS, LOS, PDX2 y FOS.

[0039] La Figura 17 es un resumen del efecto prebiótico de leche materna, FOS, LOS, GOS, PDX, y diversas combinaciones de estos en la microflora fecal.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

45 [0040] Ahora se hará referencia en detalle a las realizaciones de la presente invención, de la cual se presentan uno o más ejemplos más adelante. Cada ejemplo se proporciona a manera de explicación de la presente invención, no una limitante de la invención. De hecho, para los expertos en la técnica será aparente que pueden realizarse diversas modificaciones y variaciones en la presente invención, sin apartarse del alcance de la invención. Por ejemplo, las

características ilustradas o descritas como parte de una realización, pueden utilizarse en otra realización para aportar aún una realización ulterior.

[0041] Por tanto, se pretende que la presente invención abarque tales modificaciones y variaciones incluidas dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Otros objetos, características y aspectos de la presente invención se exponen en o resultan obvios a partir de la siguiente descripción detallada. Debe entenderse por parte de alguien con conocimiento común sobre la técnica que la exposición presente es una descripción de realizaciones solo a manera de ejemplo, y no pretende limitar los aspectos más amplios de la presente invención.

Definiciones

[0042] Tal como se utiliza en la presente solicitud, el término “prebiótico” significa un ingrediente alimenticio no digerible que afecta de manera beneficiosa al huésped al estimular selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una o un número limitado de bacterias en el colon que pueden mejorar la salud del huésped.

[0043] El término “probiótico” significa un microorganismo con baja o ninguna patogenicidad que ejerce efectos beneficiosos sobre la salud del huésped.

[0044] Tal como se utiliza en la presente solicitud, el término “bebé” significa un humano que tiene menos de un año de edad.

[0045] Una “cantidad terapéuticamente eficaz” tal como se utiliza en la presente solicitud, significa una cantidad que proporciona un efecto prebiótico en el sujeto.

[0046] El término “simulando” tal como se utiliza en la presente solicitud significa tener o tomar la forma o apariencia de o tener o producir una similitud sintomática a...

[0047] Los términos “atributos funcionales” significan cualquier cualidad inherente o característica que provoque la ocurrencia de algo. Los ejemplos de atributos funcionales de los oligosacáridos de leche materna en la presente invención pueden incluir el aumento de la población y especies de bacterias beneficiosas, la producción de un perfil de SCFA que es elevado en ácido acético y bajo en ácido butírico y la producción de una proporción lenta y magnitud baja de fermentación de prebióticos en el intestino.

[0048] Tal como se utiliza en la presente solicitud, el término “fórmula para bebés” significa una composición que satisface los requerimientos de nutrientes de un bebé al constituir un sustituto de leche materna. En los Estados Unidos, el contenido de una fórmula para bebés se dicta mediante regulaciones federales establecidas en la C.F.R. 21 Secciones 100,106 y 107. Estas regulaciones definen macronutrientes, vitaminas, minerales y otros niveles de ingredientes en un esfuerzo para estimular las propiedades nutricionales y otras de la leche materna.

Invención

[0049] En correspondencia con la presente invención, se ha descubierto un uso novedoso de PDX en la producción de una fórmula para bebés para simular los atributos funcionales de los oligosacáridos de leche materna en bebés alimentados mediante fórmula. La administración de PDX proporciona un efecto beneficioso en la población y especies de probióticos, produce un perfil de SCFA que es similar a aquel de los bebés alimentados con leche materna y es físicamente bien tolerado por los bebés.

[0050] La PDX es un carbohidrato no digerible que ha sido sintetizado a partir de sorbitol y glucosa enlazados al azar de manera cruzada. No se digiere en el tracto gastrointestinal superior y es solo parcialmente fermentado en el tracto gastrointestinal inferior, convirtiéndolo en un ingrediente beneficioso para la salud digestiva. Los beneficios fisiológicos de la PDX incluyen incremento de la masa fecal, tiempo reducido de tránsito, menor pH fecal y concentración reducida de sustancias putrefactas en el colon. En adultos, la ingestión de PDX se ha demostrado también que ayuda en la promoción y crecimiento de bacterias beneficiosas en el intestino y la producción de SCFAs.

[0051] La PDX ha sido identificada como una sustancia prebiótica para adultos basada en sus funciones en el tracto gastrointestinal. Por ejemplo, la Solicitud de Patente de los EE. UU. No. 20 040 062 758 a Mayra-Makinen, et al., se refiere a una composición que comprende un probiótico y uno o más prebióticos, donde el prebiótico puede ser GOS, palatinoseoligosacárido, oligosacárido de frijol de soja, gentio oligosacárido, xilo oligómeros, almidón no degradable, lactosacarosa, LOS, lactitol, maltitol, o PDX. De manera similar la Patente de los EE. UU. No. 4 859 488 a Kan se refiere a un alimento líquido que comprende PDX y oligosacáridos que es útil en la cura del constipado.

[0052] La PDX sin embargo, no ha sido identificada como un prebiótico que proporcione los beneficios de la presente invención y pueda ser administrada a bebés. Es bien conocido que la microflora intestinal de bebés está mucho menos desarrollada que la de un adulto. Mientras que la microflora del humano adulto está compuesta por más de 10^{13} microorganismos y cerca de 500 especies, la microflora intestinal de un bebé contiene solo una fracción de aquellos microorganismos, tanto en número absoluto como en diversidad de especies. Debido a que las poblaciones y especies bacterianas varían tan inmensamente entre el intestino de un adulto y el de un bebé, no puede asumirse que una sustancia prebiótica que tiene un efecto beneficioso en adultos tenga un efecto beneficioso en bebés.

- 5 [0053] En adultos, se ha demostrado que la ingestión de PDX aumenta la producción de acetato y butirato. Debido a que el butirato no se nota en niveles apreciables en bebés alimentados con leche materna y se ha asociado a efectos dañinos si se produce en niveles significativos en el intestino del bebé, la PDX no se consideraría generalmente como apropiada para la nutrición del bebé basándose en sus efectos observados en el sistema gastrointestinal del adulto. Por tanto, fue sorprendente e inesperado que la PDX realmente se metabolizara principalmente a acetato y propionato, con poca formación de butirato. Por tanto, no solo tuvo la PDX un impacto positivo en la población y especies de bacterias beneficiosas en el tracto intestinal del bebé, sino que la PDX también creó un perfil de SCFA muy similar al del bebé alimentado con leche materna y pudiera ser extremadamente bien tolerado por los bebés.
- 10 [0054] Una referencia particular que se relaciona con PDX en el contexto de administración a bebés expone lo contrario con respecto a la presente invención. En la Solicitud de Patente de los EE. UU. No. 20 030 157 146 a Rautonen, se afirma que la PDX puede estimular el sistema inmune de los bebés. En esa solicitud, sin embargo el Solicitante expone que la PDX de hecho disminuyó la población de Bifidobacteria en el intestino del bebé (Rautonen App., para. 0074). El Solicitante justifica este resultado al señalar que “una abundancia de bifidobacteria puede causar también efectos fisiológicos menos deseables tales como enfermedades entéricas bacterianas e inmunosupresión” (Rautonen App., para. 0069).
- 15 [0055] Debido a que la referencia expone que la PDX realmente disminuye la población de Bifidobacteria en el intestino del bebé, está en conflicto directo con la exposición de la presente solicitud. Adicionalmente, la referencia no demuestra que la PDX aumente la producción de acetato, disminuya la producción de butirato o disminuya la velocidad de fermentación de prebióticos dentro del intestino del bebé.
- 20 [0056] En correspondencia con el uso de la presente invención, una cantidad terapéuticamente eficaz de PDX se administra a un bebé con el objetivo de simular los atributos funcionales de los oligosacáridos de la leche materna. Una cantidad terapéuticamente eficaz de PDX puede estar entre 1,0 g/L y 10,0 g/L, para administración diaria. En otra realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de PDX puede estar entre 2,0 g/L y 8,0 g/L, para administración diaria.
- 25 [0057] La PDX está disponible comercialmente a partir de una diversidad de fuentes. Por ejemplo, STA-LITE® PDX está disponible en bolsas de 5 libras provenientes de Honeyville Grain, Inc., en Salt Lake City, UT. Alternativamente Litesse® Ultra™ PDX está disponible comercialmente proveniente de Danisco Sweeteners, Ltd., en el Reino Unido.
- [0058] La PDX es apropiada para la incorporación a la fórmula del bebé ya que contiene solo 1 Cal/g, en comparación con 4 Cal/g para prebióticos típicos. También es altamente soluble y de sabor neutro. Por tanto, su adición a la fórmula del bebé no cambiaría las características físicas o el sabor de la composición.
- 30 [0059] En correspondencia con el uso de la presente invención, la PDX se suplementa a la fórmula del bebé la cual entonces se alimenta a un bebé.
- [0060] La fórmula para bebés de uso en la presente invención es preferiblemente completa de manera nutricional y contiene típicamente tipos y cantidades apropiadas de lípidos, carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales. La cantidad de lípido o grasa típicamente puede variar de alrededor de 3 a alrededor de 7 g/100 kcal. La cantidad de proteína típicamente puede variar de alrededor de 1 a alrededor de 5 g/100 kcal. La cantidad de carbohidrato típicamente puede variar de alrededor de 8 a alrededor de 12 g/100 kcal. Las fuentes de proteína pueden ser cualesquiera de las utilizadas en la técnica, e. g. leche desgrasada, proteína de suero lácteo, caseína, proteína de caseína, proteína de soja, proteína hidrolizada, aminoácidos y similares. Las fuentes de carbohidratos pueden ser cualesquiera utilizadas en la técnica, e. g., lactosa, glucosa, sólidos del sirope de maíz, maltodextrinas, sucrosa, almidón, sólidos de sirope de arroz, y similares. Las fuentes de lípidos pueden ser cualesquiera utilizadas en la técnica, e. g. aceites vegetales tales como aceite de palma, aceite de soja, palmoleína, aceite de coco, aceite triglicérido de cadena media, aceite de girasol oleico alto, aceite de alazor oleico alto y similares.
- 35 [0061] Convenientemente, puede utilizarse la fórmula para bebés comercialmente disponible. Por ejemplo Enfalac, Enfamil®, Fórmula para Prematuros Enfamil®, Enfamil® con Hierro, Lactofree®, Nutramigen®, Pregestimil®, o ProSobee® (disponibles en Mead Jonson & Company, Evansville, IN, EE. UU.) pueden suplementarse con niveles apropiados de PDX y utilizarse en la práctica de la presente invención.
- 40 [0062] En una realización del uso de la presente invención, la PDX debe administrarse en combinación con otro prebiótico. El prebiótico seleccionado puede ser cualquier prebiótico conocido en la técnica. Los ejemplos de prebióticos incluyen, pero no se limitan a: FOS, inulina, gluco oligosacárido, GOS, iso-malto oligosacárido, xilo oligosacárido, oligosacáridos de aceite de soja, quito oligosacárido, gentio oligosacárido, manno oligosacárido, LOS, lactosucrosa, rafinosa, arabinosa oligosacárido, glucanos, sialil oligosacárido y fuco oligosacárido.
- 45 [0063] En una realización particular del uso de la presente invención, la PDX debe administrarse en combinación con GOS. GOS es una mezcla de oligosacáridos que consta de en D-glucosa y D-galactosa. A veces se refiere como transgalacto oligosacárido. Se produce a partir de D-lactosa mediante β -galactosidasa, la cual puede obtenerse a partir de *Aspergillus oryzae*. Se ha sugerido que GOS aumenta la absorción de calcio y la prevención de pérdida ósea en adultos. GOS ha sido identificado en la Solicitud de Patente de los EE. UU. No. 20 030 072 865 a Bindels, et. al, como un prebiótico que es útil para administración a bebés
- 50
- 55

- 5 [0064] En esta realización del uso de la presente invención, PDX y GOS deben administrarse en una proporción de PDX:GOS de entre 9:1 a 1:9. En otra realización, la proporción de PDX:GOS la proporción puede estar entre 5:1 y 1:5. En aún otra realización la proporción de PDX:GOS puede estar entre 1:3 y 3:1. En una realización particular, la proporción de PDX a GOS puede estar alrededor de 5:5. En otra realización particular, la proporción de PDX a GOS puede estar alrededor de 8:2.
- 10 [0065] Una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación PDX:GOS puede estar entre 1,0 g/L y 10,0 g/L, para administración diaria. En otra realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación PDX:GOS puede estar entre 2,0 g/L y 8,0 g/L, para administración diaria. En una realización particular, una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación PDX:GOS puede estar alrededor de 2 g/L de PDX y 2 g/L de GOS, para administración diaria.
- 15 [0066] En otra realización específica del uso de la presente invención, la PDX debe administrarse en combinación con LOS. LOS es un disacárido semisintético formado a partir de D-galactosa y D-fructosa y enlazado mediante un enlace β -glucosídico. Es resistente a hidrólisis por parte de enzimas digestivas humanas, pero se fermenta en el intestino delgado. Es altamente soluble y tiene un sabor dulce. LOS se ha identificado como un prebiótico que es útil para administración a bebés en los EE. UU. La Solicitud de Patente No. 20 030 072 865 a Bindels, et al. LOS está disponible comercialmente a partir de una diversidad de fuentes.
- 20 [0067] En esta realización del uso de la presente invención, la PDX y LOS deben administrarse en una proporción de entre 9:1 y 1:9. En otra realización, la proporción de PDX a LOS puede estar entre 5:1 y 1:5. En aún otra realización, la proporción de PDX a LOS puede estar entre alrededor de 3:1 a 1:3. En una realización particular, la proporción de PDX a LOS puede estar alrededor de 5:5. En otra realización particular, la proporción de PDX a LOS puede estar alrededor de 8:2.
- 25 [0068] Una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación de PDX:LOS puede estar entre alrededor de 1,0 g/L y 10,0 g/L para administración diaria. En otra realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación PDX:LOS puede estar entre alrededor de 2,0 g/L y 8,0 g/L, para administración diaria. En una realización particular, una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación PDX:LOS puede estar entre 2 g/L de PDX y 2 g/L de LOS, para administración diaria.
- 30 [0069] En aún otra realización del uso de la presente invención, la PDX debe ser administrada en combinación con ambos GOS y LOS. En esta realización, la combinación PDX:GOS:LOS puede administrarse en una proporción de alrededor de 50:33:17. Alternativamente, la proporción de la combinación PDX:GOS:LOS que puede administrarse puede ser de alrededor de 1:1:1. En una realización particular, la proporción de PDX:GOS:LOS puede estar alrededor de 1:1,5:1.
- 35 [0070] Una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación PDX:GOS:LOS puede estar entre alrededor de 1,0 g/L y 10,0 g/L, para administración diaria. En otra realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación PDX:GOS:LOS puede estar entre alrededor de 2,0 g/L y 8,0 g/L, para administración diaria. En una realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación PDX:GOS:LOS puede estar alrededor de 2 g/L de PDX, 2 g/L de GOS y 2 g/L de LOS, para administración diaria. En una realización particular, una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación de PDX:GOS:LOS puede estar alrededor de 2 g/L de PDX, 1,32 g/L de GOS y 2,6 g/L de LOS, para administración diaria. En otra realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación PDX:GOS:LOS puede estar entre alrededor de 4 g/L de PDX, 2,64 g/L de GOS y 3,6 g/L de LOS, para administración diaria.
- 40 [0071] En una realización de la presente invención, la PDX puede combinarse con uno o más probióticos para administración a un bebé. Cualquier probiótico conocido en la técnica será aceptable en esta realización. En una realización particular, el probiótico se elige entre el grupo que consiste en Bifidobacterium spp. o Lactobacillus spp. En una realización, el probiótico es el Lactobacillus rhamnosus GG (LGG). En otra realización, el probiótico es Bifidobacterium lactis. En una realización específica, el probiótico es Bifidobacterium lactis Bb-12, disponible en Chr. Hansen Biosystems, en Milwaukee, WI., EE. UU.
- 45 [0072] En otras realizaciones del uso de la presente invención, la fórmula para bebés puede contener otros agentes activos tales como ácidos grasos poli insaturados de cadena larga (LCPUFA). Los LCPUFAs apropiados incluyen, pero no se limitan a ácido α -linoléico, ácido γ -linoléico, ácido linoléico, ácido linolénico, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido araquidónico (ARA) y docosahexaenoico (DHA). En una realización, la PDX se administra en combinación con DHA. En otra realización, la PDX se administra en combinación con ARA. En aún otra realización, la PDX se administra en combinación con ambos DHA y ARA. La fórmula para bebés comercialmente disponible que contiene DHA, ARA, o una combinación de éstos puede suplementarse con PDX y utilizarse en la presente invención. Por ejemplo, el Enfamil® LIPIL®, el cual contiene niveles efectivos de DHA y ARA, está disponible comercialmente y puede suplementarse con LGG y utilizarse en la presente invención.
- 50 [0073] En una realización, tanto DHA y ARA se administran en combinación con PDX. En esta realización, la proporción de peso ARA:DHA es típicamente de alrededor de 1:3 a alrededor de 9:1. Alternativamente, esta proporción puede ser de alrededor de 1:2 a alrededor de 4:1. En aún otra alternativa, la proporción puede ser de alrededor de 2:3 a alrededor de 2:1. En una realización particular la proporción es de alrededor de 2:1.
- 55

5 [0074] La cantidad eficaz de ARA en una realización de la presente invención es típicamente de alrededor de 3 mg por kg de peso corporal por día a alrededor de 150 mg por kg de peso corporal por día. En una realización de la invención, la cantidad es de alrededor de 6 mg por kg de peso corporal a alrededor de 100 mg por kg de peso corporal. En otra realización de la invención, la cantidad es de alrededor de 10 mg por kg de peso corporal por día a alrededor de 60 mg por kg de peso corporal por día. En aún otra realización, la cantidad es de alrededor de 15 mg por kg de peso corporal por día a alrededor de 30 mg por kg de peso corporal por día.

10 [0075] La cantidad eficaz de ARA en una realización de la presente invención es típicamente de 5 mg por kg de peso corporal por día a alrededor de 150 mg por kg de peso corporal por día. En una realización de esta invención, la cantidad varía de alrededor de 10 mg por kg de peso corporal por día a alrededor de 120 mg por kg de peso corporal por día. En otra realización, la cantidad la cantidad varía de alrededor de 15 mg por kg de peso corporal por día a alrededor de 90 mg por kg de peso corporal por día. En aún otra realización, la cantidad varía de alrededor de 20 mg por kg de peso corporal por día a alrededor de 60 mg por kg de peso corporal por día.

15 [0076] La cantidad de DHA en fórmulas para bebés para uso con la presente invención típicamente varía de alrededor de 5 mg/100 kcal a alrededor de 80 mg/kcal. En una realización de la presente invención ésta varía de alrededor de 10 mg/100 kcal a alrededor de 50 mg/100 kcal; y en otra realización en alrededor de 15 mg/100 kcal a alrededor de 20 mg/100 kcal. En una realización particular de la presente invención, la cantidad de DHA es de alrededor de 17 mg/100 kcal.

20 [0077] La cantidad de ARA en fórmulas para bebés para uso con la presente invención típicamente varía de alrededor de 10 mg/100 kcal a alrededor de 100 mg/100 kcal. En una realización de la presente invención, la cantidad de ARA varía de alrededor de 15 mg/100 kcal a alrededor de 70 mg/100 kcal. En otra realización la cantidad de ARA varía de alrededor de 20 mg/100 kcal a alrededor de 40 mg/100 kcal. En una realización particular de la presente invención, la cantidad de ARA es de alrededor de 34 mg/100 kcal.

25 [0078] La fórmula para bebés suplementada con aceites que contienen DHA y ARA para uso con la presente invención puede producirse utilizando técnicas estándar conocidas en la técnica. Por ejemplo, ellas pueden añadirse a la fórmula reemplazando una cantidad equivalente de un aceite, tal como aceite de girasol oleico alto, que está presente normalmente en la fórmula. Como otro ejemplo, los aceites que contienen DHA y ARA pueden añadirse a la fórmula reemplazando una cantidad equivalente del resto de la mezcla total de grasa presente en la fórmula sin DHA y ARA.

30 [0079] La fuente de DHA y ARA puede ser cualquier fuente conocida en la técnica. En una realización de la presente invención, las fuentes de DHA y ARA son aceites de célula única como exponen las Patentes de los EE. UU. Nos. 5 374 567; 5 550 156; y 5 397 591. Sin embargo, la presente invención no se limita solamente a tales aceites. Los DHA y ARA pueden estar en forma natural o refinada.

35 [0080] En una realización, la fuente de DHA y ARA está sustancialmente libre de ácido eicosapentaenoico (EPA). Por ejemplo, en una realización de la presente invención la fórmula para bebés contiene menos de alrededor de 16 mg EPA/100 kcal; en otra realización menos de alrededor de 10 mg EPA/100 kcal; y en aún otra realización menos de alrededor de 5 mg EPA/100 kcal. Una realización particular no contiene sustancialmente EPA. Otra realización está libre de EPA tal que aún trazas de EPA están ausentes de la fórmula.

40 [0081] La fórmula para bebés de la presente invención puede prepararse utilizando cualquier método conocido en la técnica. En una realización la PDX se proporciona en forma de polvo. Ésta puede mezclarse con agua y otros ingredientes de fórmulas para bebés en un tanque de mezclado. Si se incluyen GOS y/o LOS en la fórmula para bebés, ellos pueden proporcionarse en forma de polvo o líquido. La mezcla puede entonces pasteurizarse, homogenizarse y secarse mediante rociado para obtener un polvo terminado o comprimirse y enlatarse para producir un producto líquido.

45 [0082] En la presente invención, al bebé se le alimenta mediante fórmula. En una realización al bebé se le alimenta mediante fórmula desde el nacimiento. En otra realización, el bebé se alimenta mediante leche materna hasta una edad menor de un año, y se alimenta mediante fórmula de ahí en adelante, en cuyo momento comienza el suplementado con PDX.

50 [0083] Los oligosacáridos de leche materna pueden incrementar la población y especies de bacterias beneficiosas en el tracto intestinal, tener un perfil SCFA elevado en acetato y muy bajo en butirato, y de fermentación lenta, evitando la producción de gases excesivos. Como se verá en los ejemplos, la administración de PDX, sola o en combinación con otros prebióticos, puede utilizarse para incrementar la población y especies de bacterias beneficiosas en el tracto intestinal, puede transformar de manera preferida la producción de SCFA hacia la producción de más acetato y propionato, limitando de esta manera la producción de butirato, y puede desacelerar la velocidad de fermentación en el intestino tal que se limite la producción de gas, minimizando la incomodidad del bebé. Por tanto, la administración de PDX, por sí sola o en combinación con uno o más prebióticos, puede simular los atributos funcionales de oligosacáridos de leche materna en un bebé alimentado mediante fórmula.

55 [0084] Los siguientes ejemplos describen diversas realizaciones de la presente invención. Otras realizaciones dentro del alcance de las reivindicaciones aquí presentadas serán aparentes a los expertos en la técnica a partir de la consideración de la especificación o práctica de la presente invención tal como aquí se expone. Es la intención que la especificación, conjuntamente con los ejemplos, se considere solo a manera de ejemplo, indicado el alcance de la

presente invención mediante las reivindicaciones que siguen a los ejemplos. En los ejemplos, todos los porcentajes se brindan sobre una base del peso a menos que se indique lo contrario.

Ejemplo 1

5 [0085] Este ejemplo ilustra el modelo de fermentación fecal in vitro utilizado en la presente invención. El modelo de fermentación fecal in Vitro imita la acción de la microbiota de colon en bebés. Durante la fermentación, los carbohidratos se consumen y se producen SCFA y gases. Después de la fermentación, puede llevarse a cabo un análisis del efecto de los prebióticos en las poblaciones y especies de microorganismos presentes.

[0086] Los carbohidratos individuales que se estudiaron se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1: Carbohidratos Individuales

GOS: GOS Vivinal: Deb. No. 00026961 Borculo Domo Ingredients; recibida 09/17/02, pureza 95,1%
LOS: Lactulosa Anhidra Morinaga: MLC-A(F), Lote No. FRDL020926; Morinaga Milk Industry Co Ltd; recibida 10/4/02; pureza 97%
PDX: PDX Sta-Lite III: Lote No. DZ2K0351913; A.E. Staley
FOS: Raftilosa P95 Fructo oligosacáridos: Lote No. PCAB022B02; Raffinerie Notre-Dame/Orafti SA; recibido 9/6/02; Pureza 95,1%
PDX2: Litesse® Ultra™ PDX: polímero alto peso molecular, max 22 000 MW; Danisco; Lote V36020I
INU: Raftiline® HP: inulina DP cadena larga ≥ 23 (Lote No. Hptoh11oh1; Orafti B.V.; recibido octubre 2002; D.S. 96,9%, Inulina 99,9%, Sucrosa+Fructosa+Glucosa 0,1%).

10

[0087] Se recolectaron muestras fecales de bebés sanos de 2,5 a 13 meses de edad. Se mantuvieron en operación cinco grupos experimentales, utilizando diferentes combinaciones de carbohidratos prebióticos en cada grupo de fermentación. Se alistaron 12 bebés para las fermentaciones de los Grupos 1 y 2; 17 bebés para la fermentación del Grupo 3; 19 bebés para la fermentación del Grupo 4, y 23 bebés para la fermentación del Grupo 5. En los grupos 1 al 3, solo cinco bebés pudieron donar una muestra aceptable. Los bebés alistados para la primera fermentación eran de 4, 4, 4, 6, 6, 6, 8, 8, 9, 9, 9 y 10 meses de edad, para la segunda fermentación eran de 3, 4, 6, 6, 6, 7, 8, 9, 10, 10, 12 y 13 meses de edad, y para la tercera fermentación de 2, 2,5, 3, 4, 4, 4, 4,5, 5, 5, 6, 6, 6, 9, 9, 10, 10 y 11 meses de edad. Las edades de los bebés cuyas muestras se utilizaron en la fermentación fueron del Grupo 1: 6, 8, 9, 9, 9 meses; Grupo 2: 4, 8, 10, 12, 13 meses; y el Grupo 3: 2,5, 5, 6, 10, 11 meses. En la fermentación del Grupo 4, 10 bebés (uno de ellos dos veces) pudieron donar una muestra aceptable. Los donantes para la fermentación del Grupo 4 eran de 2, 2.5, 4, 5, 7, 9, 9, 10, 11 y 15 meses de edad. Para la fermentación del Grupo 5, doce bebés pudieron donar muestras, de las cuales se eligieron los cuatro donantes más jóvenes. Por tanto los donantes eran de 5, 6, 6.5 y 6.5 meses de edad.

15

20

[0088] La fermentación fecal in Vitro se llevó a cabo en correspondencia con el método de Karpinen. Karpinen S. et al., In Vitro Fermentation of Polysaccharides of Rye, Wheat, and Oat Brans and Inulin by Human Faecal Bacteria, J. Sci. Food Agric. 80:1469-76 (2000).

25

[0089] En el presente estudio, se pesaron 100 mg de muestras de carbohidratos en frascos de 50 ml e hidrataron utilizando 2 ml de búfer de carbonato fosfato a pH 6,9. Las muestras se mantuvieron bajo condiciones anaeróbicas durante la noche a 5° C hasta la preparación de la inoculación. Se preparó una mezcla pastosa fecal (12,5%, peso/volumen) bajo condiciones estrictamente anaeróbicas en el mismo búfer mezclando heces frescas de bebés. Se dosificaron ocho ml de la suspensión a las muestras de sustratos y se cerraron los frascos en la cámara anaeróbica arrojando una concentración final de la mezcla pastosa fecal del 10% (peso/volumen) Las muestras se incubaron a 37° durante 1, 2, 4, 8 o 24 horas. Se prepararon muestras de hora 0 de manera similar a la de los tubos de centrifugación y se congelaron rápidamente utilizando nitrógeno líquido. Se incluyeron muestras fecales limpias sin carbohidratos añadidos en todos los experimentos de fermentación.

30

35

[0090] Se terminó la fermentación al retirar los frascos del baño de María colocándolas en hielo excepto antes de la medición de gas, cuando las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente para muestreo inmediato. Se midió el volumen de gas y la muestra de gas (5 ml) se inyectó en un frasco nitrogenado diseñado para inyección en cámara de aire. El frasco se colocó en hielo después del muestreo. La muestra de fermentación se transfirió a un tubo de centrifugación, se midió el pH y se extrajo una alícuota (2 ml) de la mezcla pastosa para análisis SCFA y se congeló rápidamente con nitrógeno líquido.

40

Ejemplo 2

[0091] Este ejemplo ilustra los materiales y métodos necesarios para determinar la efectividad de la povidexosa como un prebiótico para bebés alimentados mediante fórmula. Específicamente, este ejemplo ilustra los materiales y métodos necesarios para analizar SCFAs y gases.

5 [0092] Los SCFAs se extrajeron con éter dietilo y analizaron con cromatografía de gas tal como describe Karppinen, et al. Karppinen S., et al., In Vitro In Vitro Fermentation of Polysaccharides of Rye, Wheat, and Oat Brans and Inulin by Human Faecal Bacteria, J. Sci. Food Agric. 80:1469-76 (2000). Los gases (hidrógeno, dióxido de carbono, metano, bisulfuro de hidrógeno y oxígeno como control de calidad) se analizaron isotérmicamente a 30° C, utilizando una técnica de cromatografía de gases que consiste en el análisis estático mediante inyección en cámara de aire en correspondencia con Karppinen, et al. Id.

Ejemplo 3

15 [0093] Este ejemplo ilustra el efecto de la PDX en el perfil in vitro de SCFA producido por la microbiota de colon del bebé. Las Figuras 1 y 2 ilustran que la velocidad de fermentación varía entre diferentes prebióticos. La producción de SCFA total (una suma de ácidos acético, propiónico y butírico) se muestra en la Figura 1. Una disminución en el pH, mostrada en la Figura 2, es también una indicación de producción de SCFA.

20 [0094] Como puede verse en las figuras, la PDX2 es un carbohidrato de fermentación lenta, mientras que los FOS, GOS y LOS se fermentaron total y rápidamente. La velocidad de fermentación de la PDX fue comparable a la de las fibras dietéticas de cereales. No solo fermentó la PDX2 a la velocidad inicial más lenta, sino que la magnitud de fermentación estuvo solo ligeramente por encima de la muestra fecal limpia. Por el contrario, la velocidad de fermentación de los FOS fue tan rápida que se consumió casi totalmente dentro de los primeros marcadores de tiempo produciendo la cantidad mayor de SCFAs entre los prebióticos examinados.

25 [0095] Como muestra la Figura 3-5, la fermentación de PDX2 da como resultado la producción más elevada de propionato y la más baja de butirato luego de 24 horas. El acetato seguía siendo el SCFA de más elevada producción durante la fermentación de PDX, aunque la velocidad inicial fue mucho más baja con respecto a la de los otros sustratos. La velocidad inicial de producción de propionato a partir de la PDX2 fue similar a la de los otros sustratos, pero se encontraron niveles superiores al final de la fermentación. Por el contrario, la fermentación de FOS; GOS y LOS mostró concentraciones incrementadas de acetato y butirato y concentración disminuida de propionato. Como resultado, la proporción combinada relativa de acetato y propionato fue muy superior para la PDX2 que para los FOS, LOS y GOS. Estos resultados también pueden verse en la Figura 6. Estos resultados demuestran que la PDX2 fue el sustrato de menor producción de butirato y el único sustrato para incrementar la proporción relativa de propionato.

30 [0096] Estos resultados están en concordancia con un estudio in Vitro conducido por Wang, X & Gibson, G. R., Effects of the in Vitro Fermentation of Oligofructose and Inulin by Bacteria Growing in the Human Large Intestine, J. Appl. Bacteriol. 75:337-380 (1993), en el cual la mezcla fecal pastosa a partir de donantes adultos se utilizó en la fermentación de varios carbohidratos. Sin embargo, la producción más elevada de propionato a partir de la PDX in Vitro no se mostró in vivo en una prueba clínica con adultos chinos Jie, Z, et al., Studies on the Effects of Polydextrose Intake on Physiological Functions In Chinese People, Am. J. Clin. Nutr. 72:1503-09 (2000), en la cual tres concentraciones diferentes de PDX incrementaron los niveles de butirato y acetato, pero no la proporción de propionato. Una mayor producción de butirato a partir de GOS y FOS se ha mostrado también con ratas asociadas a flora fecal humana (Djouzi, Z., et al., Compared Effects of Three Oligosaccharides on Metabolism of Intestinal Microflora in Rats Inoculated with a Human Faecal Flora, Br. J. Nutr. 78:313-24 (1997).

Ejemplo 4

45 [0097] Este ejemplo ilustra el efecto de combinaciones de prebióticos en la velocidad de fermentación in vitro mediante microbiota de colon de bebé. Diversas combinaciones de carbohidratos prebióticos se eligieron en un intento de lograr una velocidad apropiada de fermentación microbiana in Vitro. En este ejemplo, las combinaciones de sustratos se compararon con respecto a su velocidad de fermentación (producción total de SCFA) y los cambios en pH, mostrados en las Figuras 7-8.

50 [0098] La adición de PDX a la preparación de GOS disminuyó la velocidad de fermentación de la combinación medida mediante producción total de SCFA (Figura 7). De manera similar la adición de PDX a la preparación de LOS disminuyó la velocidad de fermentación de la combinación. La adición de PDX a LOS y GOS también resultó en una disminución más moderada en pH, como se muestra en la Figura 8. Esta menor velocidad de acidificación del contenido de la evacuación puede llevar a menor irritación de la membrana intestinal o de la región anal, incrementando la tolerancia del bebé. La disminución más lenta del pH mediante la PDX es consistente con la menor producción de SCFA y la velocidad de fermentación total in vitro en comparación con GOS y LOS. Estos resultados demuestran que la PDX puede utilizarse para desacelerar la velocidad de fermentación de las mezclas de PDX y prebióticos tradicionales tales como GOS o LOS.

55 [0099] Se estudió también el efecto de la proporción PDX:GOS en la producción total de SCFA, acetato, propionato y butirato también (Figuras 9-12). La Figura 9 demuestra que una proporción de PDX:GOS de 8:2 condujo a una

5 velocidad menor de producción total de SCFA que la proporción de PDX:GOS de 5:5. La Figura 9 confirma que una proporción de PDX:GOS de 8:2 produjo menos SCFA total que una proporción de 5:5 o 1:9. Por tanto, estos resultados demuestran que una cantidad superior de PDX en la mezcla PDX:GOS da como resultado una velocidad menor de fermentación in vitro. La adición de PDX a GOS también tuvo la tendencia a disminuir la velocidad de producción de acetato y butirato, pero tuvo poco impacto sobre la velocidad en su conjunto y producción final de propionato.

Ejemplo 5

10 [0100] Este ejemplo ilustra el efecto de PDX sobre la producción de gas in vitro por parte de la microbiota de colón de bebé. La producción total de gas, medida como volumen total por frasco de fermentación, fue aproximadamente igual con GOS, LOS y FOS, mostrada en la Figura 13. Por el contrario, la PDX da como resultado una producción menor de gas en su conjunto durante la fermentación por parte de la microbiota bacteriana fecal del bebé. La menor producción de gas en su conjunto vista en PDX también indica que se fermenta más lentamente que los otros prebióticos estudiados.

15 [0101] En adición a la producción total de gas, la producción de dióxido de carbono es también medida importante de la tolerancia del bebé a prebióticos dietéticos. El producto principal de gas de todos los prebióticos examinados fue el dióxido de carbono. Se produjo en cantidades 3 y 44-76 veces mayores que el hidrógeno o bisulfuro de hidrógeno, respectivamente.

20 [0102] En general, la producción de dióxido de carbono fue la menor para la PDX en comparación con FOS, GOS y LOS (Figura 14). El dióxido de carbono fue el gas principal producido durante la fermentación de FOS, GOS y LOS, mostrando niveles máximos entre 320-380 μmol . Por el contrario, la PDX mostró un nivel mucho menor de formación de dióxido de carbono (200 μmol). La formación de hidrógeno a partir de PDX mediante la microbiota fecal de bebé fue menor (alrededor de un tercio) con respecto a la producción de dióxido de carbono, y considerablemente menor que los niveles de hidrógeno producidos a partir de FOS, GOX y LOS (Figura 15). La formación de bisulfuro de hidrógeno a partir de PDX fue de: 1:44 en comparación con la formación de dióxido de carbono y la máxima producción de bisulfuro de hidrógeno estuvo alrededor del mismo nivel de concentración para todos los prebióticos examinados (Figura 16). La proporción mayor de formación de dióxido de carbono comparada con la formación de hidrógeno (1 000 veces) y metano (10 veces) se mostró también por Wang y Gibson. Wang, X. & Gibson, G.R., Effects of the In Vitro Fermentation of Oligofructose and Inulin by Bacteria Growing in the Human Large Intestine, J. Appl. Bacteriol. 75:373-380 (1993). Como no se observó metanogénesis en el presente estudio, el bisulfuro de hidrógeno se formó presumiblemente a partir de hidrógeno primario. Levitt, et al., Gas Metabolism in the Large Intestine, CRC Press, Boca Raton 131-154 (1995). Es posible que el hidrógeno no se detectara debido a su metabolismo posterior a gas secundario, bisulfuro de hidrógeno, en posteriores marcadores de tiempo.

Ejemplo 6

35 [0103] Este ejemplo ilustra los materiales y métodos necesarios para determinar el efecto de PDX en la población y especies de microbiota a partir del colón de bebé. Brevemente, el ejemplo utiliza un modelo de intestino de bebé para evaluar ciertos compuestos prebióticos. El modelo in vitro de intestino utilizado, el cual se basó en un modelo adulto, estaba compuesto por dos recipientes de vidrio de 100 ml, colocados en serie para representar las regiones proximal y distal del colon de bebé. El flujo de alimentación se controló a una velocidad que tomaba en cuenta el tiempo de tránsito más corto en el intestino de bebé, en comparación con un intestino adulto. Para modelar las diferencias in vivo del pH dentro del colon, el recipiente 1 (V1) se controló a pH 5,2 y el recipiente 2 (V2) se controló a pH 6,7. La temperatura se controló a 37° C mediante un baño de María en circulación. Los recipientes de alimentación y cultivo se agitaron magnéticamente y mantuvieron bajo una atmósfera anaeróbica mediante influjo de nitrógeno libre de oxígeno (15mL/min).

45 [0104] Una vez que el sistema se inoculó con mezcla pastosa fecal de bebé, los dos recipientes de fermentación se dejaron hasta 24 horas en modo de tanda. Esto le permitió a las poblaciones bacterianas equilibrarse en su nuevo entorno y aumentar en densidad. Entonces se inició el flujo de alimentación y el fermentador ensayó en modo continuo de cultivo durante el resto del experimento. La velocidad del flujo de alimentación se controló a 11,11 ml/h. En este estudio, los fermentadores se mantuvieron en operación durante 12 días, alimentando durante 6 días fórmula Enfalac para bebé (Mead Johnson Nutritionals, Evansville, IN) y otros 6 días adicionales alimentados con Enfalac y el prebiótico añadido o combinación de prebióticos.

50 [0105] Las muestras de 5 ml se extrajeron entonces de manera aséptica de los V1 y V2 y se prepararon para el procedimiento de enumeración microbiana de cultivo independiente "Fluorescence In Situ Hybridisation" (FISH) y microscopía para la identificación y enumeración de especies bacterianas específicas. La utilización de FISH permite la determinación precisa del efecto de prebióticos sobre poblaciones bacterianas específicas en las regiones proximal y distal del colon de bebé.

55 [0106] Se añadieron prebióticos a la alimentación individualmente o en combinaciones, a una concentración total de 7,5 g/l (0,75 % p/v). Se utilizaron los siguientes oligosacáridos:

Tabla 2. Prebióticos Examinados

Prebiótico	Tipo	Fabricante
Lactulosa (LOS)	Sirope	Morinaga Milk Ind. Co. Ltd., Japón
Galacto oligosacárido (GOS)	Polvo E0002	Suministrado por Mead Johnson
Polidextrosa	Polvo 'Litesse Ultra'	Danisco
Fructooligosacárido	Polvo Raftilose® P95	Orafti

5 [0107] Los bebés donantes se eligieron cuidadosamente y de manera ideal de 2-4 meses de edad, alimentados mediante fórmula (exclusivamente donde fuera posible), saludables y que no estuvieran bajo tratamiento antibiótico reciente. Se prefirió una edad mínima de dos meses ya que la microbiota del intestino del bebé se establece a esta edad.

Tabla 3. Información de Donante

Código de Donante	Edad	Alimentación	Ensayo de Fermentación
KB	16 semanas	SMA Gold	F1
JS	13 semanas	Cow & Gate	F2
F	19 semanas	SMA Gold y alimentación materna	F3
AE	9 ½ semanas	Alimentación materna	F4
AE	14 semanas	Alimentación materna	F5

10 [0108] Se proporcionó la flora microbiana del intestino de bebé para exámenes de fermentación a partir de heces de bebés recientemente evacuadas. Se requirió usualmente una muestra fecal de al menos 3,5 g. La muestra fecal se retuvo en el pañal, el cual, inmediatamente después de retirarlo del bebé, se colocó por parte del cuidador dentro de una vasija anaeróbica con un colector de gas abierto anaeróbico. Esta se recolectó y procesó tan pronto como fue posible (usualmente dentro de la hora).

15 [0109] En el laboratorio, las heces se retiraron del pañal y se pesaron. Se preparó una mezcla pastosa fecal al 10% (p/v) homogeneizando las muestras en solución 1 x PBS anóxica y precalentada (durante la noche en el gabinete anaeróbico), utilizando un estomaguero a velocidad media durante 120 segundos.

[0110] Cada uno de los recipientes de fermentación se inoculó con 5 ml de la suspensión fecal al 10% p/v. También se tomó para análisis una alícuota de la suspensión fecal (muestra S).

20 [0111] Se requirió una muestra de 375 µl de la suspensión fecal (muestra S) o de cada muestra del fermentador en duplicado para conteo bacteriano mediante FISH. Cada muestra se fijó mezclando a fondo en 1,125 ml de solución fría, filtrada de solución de paraformaldehído al 4% (p/v) en PBS (pH 7,2) y almacenándola durante la noche a 4° C (o al menos 4 horas).

25 [0112] La muestra fijada se centrifugó a 13 000 xg durante 5 minutos desechando el material flotante. La pella se lavó dos veces resuspendiendo la misma en 1 ml de 1xPBS fría, filtrada, bombardeando las células cada vez mediante centrifugación y desechando el material flotante. La pella se resuspendió finalmente a fondo en 150 µl de PBS filtrada; mezclando bien también 150 µl de etanol al 96% (v/v). La preparación celular se almacenó entonces a -20° C durante al menos 1 hora antes de procesamiento posterior.

30 [0113] En el paso de hibridación, se mezclaron 16 µl de la preparación celular (llevada a temperatura ambiente) con 200 µl de búfer de hibridación 2x filtrado, precalentado (30,3 mM Tris-HCl pH 7,2, 1,4 mM NaCl) conteniendo 15,1 ml/l al 10% (p/v) de SDS. Esta mezcla se calentó a la temperatura apropiada de hibridación y entonces se mezcló con la sonda (50 ng/µl) en la proporción 9:1 respectivamente. La preparación de hibridación se regresó entonces al horno de hibridación para incubarla durante la noche.

35 [0114] Finalmente, las preparaciones celulares hibridadas se recolectaron en filtros de 0,2 µl para observación microscópica. En dependencia de la densidad celular, se añadieron entre 5 µl y 100 µl de la preparación celular al búfer de lavado (5-7 ml 20 mM Tris HCl pH 7,2, 0,9 M NaCl) filtrado, precalentado (a temperatura de hibridación). También se

añadieron 20 µ DAPI (4', 6-diamino-2-fenilidol) a la mezcla para teñir todas las células y obtener conteos celulares totales para cada muestra. Esto se filtró entonces al vacío en un filtro de policarbonato 0,2m y se colocó en una placa de microscopio. Para minimizar el desvanecimiento del tinte fluorescente, se colocó en el filtro una gota de SlowFade™ (Sondas Moleculares) y se cubrió con un cubre placa; entonces las placas se almacenaron en la oscuridad a 4º c hasta su uso. Las bacterias marcadas con una sonda fluorescente Cy3 se contaron utilizando microscopía de fluorescencia (Leite, Wetzlar, Alemania) a 500 nm; se utilizó luz ultravioleta para contar las bacterias teñidas mediante DAPI. Las bacterias se contaron en al menos 15 campos tomados al azar y el promedio de estos se utilizó para estimar el número de células por ml de la muestra original.

[0115] Se mantuvieron en operación cuatro exámenes de comparación, fermentación tal como se lista a continuación:

Tabla 4: Ensayos de Fermentación

Ensayo de Fermentación	Sustancias a Examen	
F1	FOS	
F2	Leche materna	PDX
F3	GOS	
F4	1:1 LOS:GOS	1:1 PDX:LOS
F5	LOS	1:1 PDX:GOS

Ejemplo 7

[0116] Este ejemplo ilustra el efecto de PDX en la población y especies de bacterias en el intestino del bebé. En el ensayo de fermentación 1 (F1), se añadió FOS a la toma de fórmula y se ensayó en un sistema de fermentación. FOS, que se ha considerado tradicionalmente como un buen ingrediente prebiótico, resultó en incrementos en Bifidobacteria y Clostridia y disminuciones en Lactobacilli y Bacteroides en V1. La adición de FOS a la toma de fórmula resultó en que no se produjeron cambios en los niveles de Bifidobacteria y Lactobacilli e incrementos en Clostridia y Bacteroides en V2.

[0117] En F2, PDX y leche materna se mantuvieron en operación en sistemas paralelos de fermentación. El pabellón de maternidad proporcionó las muestras de leche materna y se almacenaron congeladas. Estas fueron muestras tempranas de leche de diversos volúmenes a partir de varios donantes. La toma de leche materna se ensayó sin dilución o adición de lactosa para mantener niveles comparables de oligosacáridos y otros nutrientes. No hubo suficiente leche materna para correr este fermentador durante 12 días, en paralelo con el fermentador de PDX. Por tanto se tomaron muestras más frecuentes, en los días 0, 4, 6 y 8. A los efectos de comparación, se tomaron muestras adicionales del fermentador de PDX en el día 8, y también en el día 11.

[0118] Como era de esperar, la leche materna propició buen crecimiento de bacterias beneficiosas, tanto Bifidobacteria y Lactobacilli, y disminuyó los niveles de Clostridia, como se muestra en la Figura 17. Las Bifidobacteria y Lactobacilli incrementaron claramente en población en ambos recipientes. Los números de Bacteroides se mantuvieron en un nivel similar a lo largo de la fermentación.

[0119] Los resultados de la adición de PDX a la toma de fórmula también fueron favorables, con un marcado incremento en Lactobacilli y disminución tanto en Clostridia como en Bacteroides en ambos recipientes (Figura 17).

[0120] En F3, se añadió GOS a la toma de fórmula y se ensayó en un sistema de fermentación. La adición de GOS a la toma de fórmula tuvo poco efecto aparente sobre Lactobacilli en cualquiera de los recipientes, pero incrementó las Bifidobacteria en V1 y V2, y disminuyó la Clostridia y Bacteroides en V1 pero no en V2.

[0121] La combinación de LOS:GOS (1:1) se ensayó con respecto a 1:1 PDX:LOS en un sistema paralelo de fermentación durante F4. La combinación LOS:GOS fue eficaz al incrementar el número de Lactobacilli en ambos recipientes y Bifidobacteria en V1, y en la disminución de Bacteroides en V1. Clostridia disminuyó en V2 pero incrementó en V1.

[0122] El suplemento de la toma de fórmula con una combinación 1:1 de PDX:LOS resultó en un incremento en Lactobacilli en V1, pero una disminución ligera en Bifidobacteria en cada recipiente. Clostridia tendió a disminuir en ambos recipientes mientras que Bacteroides disminuyó fundamentalmente en V2.

[0123] En F5, LOS se suplementó en la toma de fórmula y se ensayó en un sistema paralelo de fermentación con respecto a una combinación 1:1 de PDX y GOS. La adición de LOS a la toma de fórmula incremento los Lactobacilli en ambos recipientes. Sin embargo, Clostridia también incrementó en V2 y las Bifidobacteria disminuyeron en ambos recipientes. También los Bacteroides disminuyeron en V1 pero esto no se mantuvo en V2. La adición de PDX:GOS a la toma de fórmula incrementó los niveles de Bifidobacteria y Lactobacilli en ambos recipientes, pero también provocó incremento de los niveles de Clostridia en ambos recipientes. Los niveles de Bacteroides incrementaron solo en V2.

- [0124] En general, las Bifidobacteria incrementaron en proporción a la población bacteriana total en V1 con la leche materna, GOS, FOS, PDX y la combinación PDX:GOS. En V2, GOS, la combinación PDX:GOS y la combinación LOS:GOS llevó a un incremento en Bifidobacteria. La Clostridia disminuyó en proporción a la población total en V1 con leche materna, GOS y PDX, y disminuyó en V2 con leche materna, PDX y la combinación LOS:GOS.
- 5 [0125] En V1, los Lactobacilli mostraron un incremento seguido del suplemento con combinaciones de LOS, PDX, leche materna o combinaciones de PDX, mientras que los incrementos en Lactobacilli se observaron en V2 con combinaciones de LOS, PDX, leche materna y GOS. Los incrementos en el porcentaje de Lactobacilli fueron particularmente notables con PDX y la combinación PDX:GOS y la combinación LOS:GOS en V2.
- 10 [0126] En general, la PDX fue eficaz en el incremento de Lactobacilli y niveles disminuidos de Clostridia y Bacteroides, con solo ligeros incrementos en Bifidobacteria en V1. La combinación PDX:GOS también pareció favorable para Bifidobacteria, las cuales incrementaron entre las bacterias totales (aunque no como un porcentaje de los cuatro grupos) e incrementó Lactobacilli a un pH de 5,2, pero también tuvo un efecto desfavorable al incrementar los números de Bacteroides.
- 15 [0127] Cuando la leche materna examinada en el sistema modelo diseñado por los inventores, los niveles de Bifidobacteria y Lactobacilli incrementaron en número, mientras Clostridia disminuyó en número. Este efecto se duplicó muy consistentemente con PDX, y con GOS, ya fuera solo o en combinación con LOS o PDX. FOS, el cual fue otro carbohidrato actualmente utilizado en diversas fórmulas para bebés, se examinó y no produjo los mismos efectos deseados.

Ejemplo 8

- 20 [0128] Este ejemplo ilustra una realización de una fórmula para bebé de la presente invención

Tabla 5: Información de nutrientes de fórmula para bebés

Ingrediente	Por 10.000 L
Sólidos desmineralizados de suero de leche	534,337 kg
Mezcla de grasas	339,695 kg
Sólidos de leche desgrasada	191,234 kg
Lactosa	136,321 kg
Sólido de sirope galacto oligosacárido	35,096 kg
Polidextrosa	22,222 kg
Citrato de potasio	7,797 kg
Mono y diglicéridos	7,233 kg
Aceite de célula única de ácido araquidónico	6,486 kg
Fosfato de calcio, tribásico	4,185 kg
Acido ascórbico	1.403,323 g
Ascorbato de sodio	1.168,402 g
Inositol	407,029 g
Taurino	402,962 g
Sólidos de sirope de maíz	188,300 g
Niacinamida	89,857 g
Pantotenato de calcio	42,443 g
Vitamina B ₁₂	23,613 g
Trituración de biotina	23,613 g

HCl tiamina	8,022 g
HCl piridoxina	6,176 g
Acido fólico	2,260 g
Concentrado de lecitina	3,694 kg
Aceite de célula única de ácido docosahexaenoico	3,243 kg
Carrageenan	2,826 kg
Cloruro de calcio	2,650 kg
Cloruro de sodio	1,410 kg
Maltodextrina	484,199 g
CMP, ácido libre	151,951 g
AMP, ácido libre	33,944 g
GMP, sal de disodio	18,347 g
UMP, sal de disodio	7,559 g
Sulfato ferroso	0,620 kg
Citrato de Sodio	0,455 kg
Acetato Tocoferil, DL-Alfa	160,882 g
Aceite de soja	139,612 g
Palmitato Vitamina A	17,253 g
Concentrado de colecalciferol	5,715 g
Fitonadiona líquida, Vitamina K	0,538 g
Sulfato de zinc	214 225 g
Selenita de sodio	51 112 g
Sulfato cúprico	22,885 g
Lactosa	12,659 g
Sulfato de manganeso	3,119 g
Agua, desfluorizada	10.311,900 kg

[0129] LOS se genera cuando se calienta la lactosa a una alta temperatura. Por tanto, en esta realización el producto contiene LOS natural. El nivel de LOS natural en el producto es de aproximadamente 2 g/L.

Ejemplo 9

5 [0130] Este ejemplo ilustra otra realización de una fórmula para bebé de la presente invención

Tabla 6: Información de nutrientes de fórmula para bebés

Ingrediente	Por 10 000 L
Sólidos desmineralizados de suero de leche	534,337 kg
Mezcla de grasas	339,695 kg

ES 2 356 196 T3

Sólidos de leche desgrasada	191,234 kg
Lactosa	142,000 kg
Sólido de sirope de galacto oligosacárido	23,164 kg
Polidextrosa	22,222 kg
Sólido de sirope de lactulosa	10,353 kg
Citrato de potasio	7,794 kg
Mono y diglicéridos	7,233 kg
Aceite de célula única de ácido araquidónico	6,486 kg
Fosfato de calcio, tribásico	4,185 kg
Acido ascórbico	1.403,323 g
Ascorbato de sodio	1.168,402 g
Inositol	407.929 g
Taurino	402.962 g
Sólidos de aceite de maíz	1.88,300 g
Niacinamida	89,857 g
Pantotenato de calcio	42,443 g
Vitamina B ₁₂	23,613 g
Trituración de biotina	23,613 g
HCl tiamina	8,022 g
HCl piridoxina	6,176 g
Acido fólico	2,260 g
Concentrado de lecitina	3,694kg
Aceite de célula única de ácido docosahexaenoico	3,243 kg
Carrageenan	2,826 kg
Cloruro de calcio	2,650 kg
Cloruro de sodio	1,410 kg
Maltodextrina	484,199 g
CMP, ácido libre	151,951 g
AMP, ácido libre	33,944 g
GMP, sal de disodio	18,347 g
UMP, sal de disodio	7,559 g
Sulfato ferroso	0,620 kg
Citrato de sodio	0,455 kg
Acetato tocoferil, DL-alfa	160,882 g
Aceite de soja	139,612 g

Palmitato Vitamina A	17,253 g
Concentrado de colecalciferol	5,715 g
Fitonadiona líquida, vitamina K	0,538 g
Sulfato de zinc	214. 225 g
Selenita de sodio	51,112 g
Sulfato cúprico	22,885 g
Lactosa	12,659
Sulfato de manganeso	3,119 g
Agua, desfluorizada	10.311,900 kg

[0131] LOS se genera cuando la lactosa se calienta a una alta temperatura. Por tanto, en esta realización el producto contiene tanto LOS natural como añadido. El nivel total de LOS en el producto, incluyendo tanto LOS añadido como natural, es de aproximadamente 2,6 g/L.

5 Ejemplo 10

[0132] Este ejemplo ilustra aún otra realización de una fórmula para bebés de la presente invención

Tabla 7: Información de nutrientes en fórmula para bebés

Ingredientes	Por 10.000 L
Sólidos desmineralizados de suero de leche	534,337 kg
Mezcla de grasas	339,695 kg
Sólidos de leche desgrasada	191,234 kg
Lactosa	119,321 kg
Sólido de sirope de galacto oligosacárido	46,327 kg
Polidextrosa	44,44 kg
Sólido de sirope de lactulosa	20,706 kg
Citrato de potasio	7,797 kg
Mono y diglicéridos	7,233 kg
Aceite de célula única de ácido araquidónico	6,486 kg
Fosfato de calcio, tribásico	4,185 kg
Acido ascórbico	1.403,323 g
Ascorbato de sodio	1.168,402 g
Inositol	407,029 g
Taurino	402,962 g
Sólidos de aceite de maíz	188,300 g
Niacinamida	89,857 g
Pantotenato de calcio	42,443 g

ES 2 356 196 T3

Vitamina B ₁₂	23,613 g
Trituración de biotina	23,613 g
HCl tiamina	8,022 g
HCl piridoxina	6,176 g
Acido fólico	2,260 g
Concentrado de lecitina	3,694 kg
Aceite de célula única de ácido docosahexaenoico	3,243 kg
Carrageenan	2,826 kg
Cloruro de calcio	2,650 kg
Cloruro de sodio	1,410 kg
Maltodextrina	484,199 g
CMP, ácido libre	151,951 g
AMP, ácido libre	33,944 g
GMP, sal disodio	18,347 g
UMP, sal disodio	7,559 g
Sulfato ferroso	0,620 kg
Citrato de sodio	0,455 kg
Acetato tocoferil, DL-alfa	160,882 g
Aceite de soja	39,612 g
Palmitato Vitamina A	17,253 g
Concentrado de colecalciferol	5,715 g
Fitonadiona líquida, vitamina K	0,538 g
Sulfato de zinc	214,25 g
Selenita de sodio	51,112 g
Sulfato cúprico	22,885 g
Lactosa	12,659
Sulfato de manganeso	3,119 g
Agua, desfluorizada	10.325,600 kg

[0133] LOS se genera cuando la lactosa se calienta a una alta temperatura. Por tanto, en esta realización el producto contiene tanto LOS añadida como natural. El nivel total de LOS en el producto, incluyendo tanto LOS añadida como natural, es de aproximadamente 3,6 g/L.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de povidextrosa ("PDX") en la producción de una fórmula para bebés para simular los atributos funcionales de oligosacáridos de leche materna incrementando la producción de acetato y disminuyendo la producción de butirato para producir un perfil de ácido graso de cadena corta en un bebé alimentado mediante fórmula similar a aquel producido en un bebé alimentado con leche materna, y disminuyendo la velocidad y magnitud de fermentación de prebióticos dentro del intestino de un bebé alimentado mediante fórmula.
2. El uso según la reivindicación 1, donde la cantidad de PDX en la fórmula para bebés está entre 1,0 g/L y 10,0 g/L, para administración diaria.
- 10 3. El uso según la reivindicación 1, donde la cantidad de PDX en la fórmula para bebés está entre 2,0 g/L y 8,0 g/L, para administración diaria.
4. El uso según la reivindicación 1, donde la fórmula para bebés comprende adicionalmente galacto oligosacárido ("GOS")
5. El uso según la reivindicación 4, donde la proporción de PDX:GOS está entre 9:1 y 1:9.
6. El uso según la reivindicación 4, donde la proporción de PDX:GOS está entre 5:1 y 1:5.
- 15 7. El uso según la reivindicación 4, donde la proporción de PDX:GOS está entre 3:1 y 1:3.
8. El uso según la reivindicación 4, donde la proporción de PDX:GOS es de alrededor de 5:5.
9. El uso según la reivindicación 4, donde la proporción de PDX:GOS es de alrededor de 8:2.
- 20 10. Una fórmula para bebés que comprende PDX y GOS, donde la cantidad de PDX presente en la fórmula para bebés es de alrededor de 2,0 g/L, y la cantidad de GOS presente en la fórmula para bebés es de alrededor de 2,0 g/L, para administración diaria.
11. Una fórmula para bebés que comprende PDX y GOS, donde la cantidad total de PDX y GOS en la fórmula está entre 1,0 g/L y 10, g/L, para administración diaria.
12. La fórmula para bebés según la reivindicación 11, donde la proporción de PDX a GOS está entre 9:1 y 1:9.
- 25 13. La fórmula para bebés según la reivindicación 11, donde la fórmula comprende además al menos un ácido graso poli(insaturado) de cadena larga.
14. La fórmula para bebés según la reivindicación 13, donde el, al menos un, ácido graso poli(insaturado) de cadena larga se elige entre el grupo que consta de ácido docosahexaenoico, ácido araquidónico y ácido eicosapentaenoico.

Figura 1

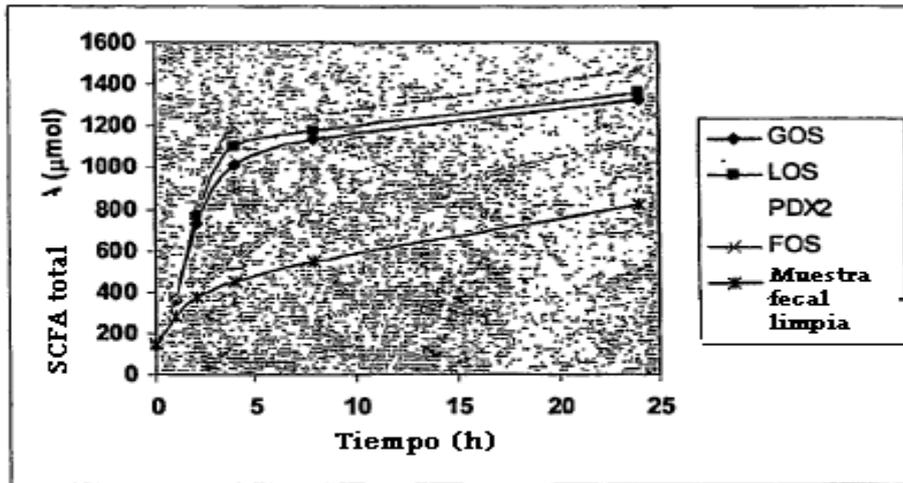


Figura 2

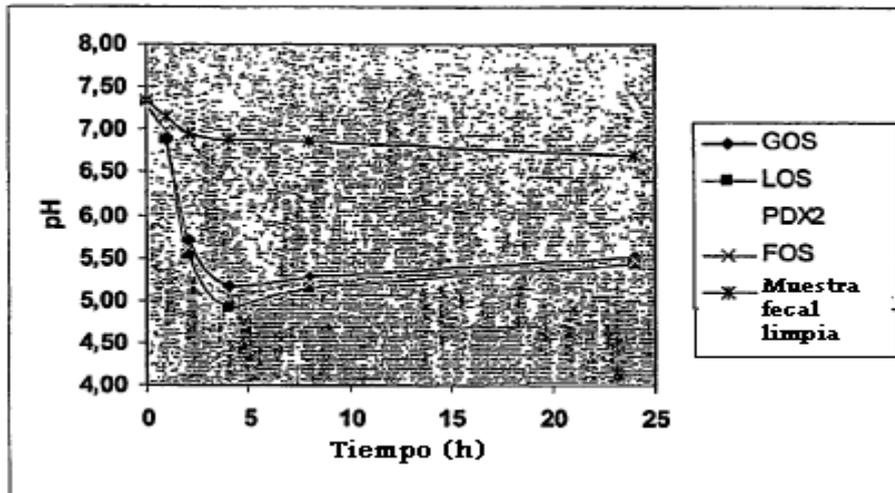


Figura 3

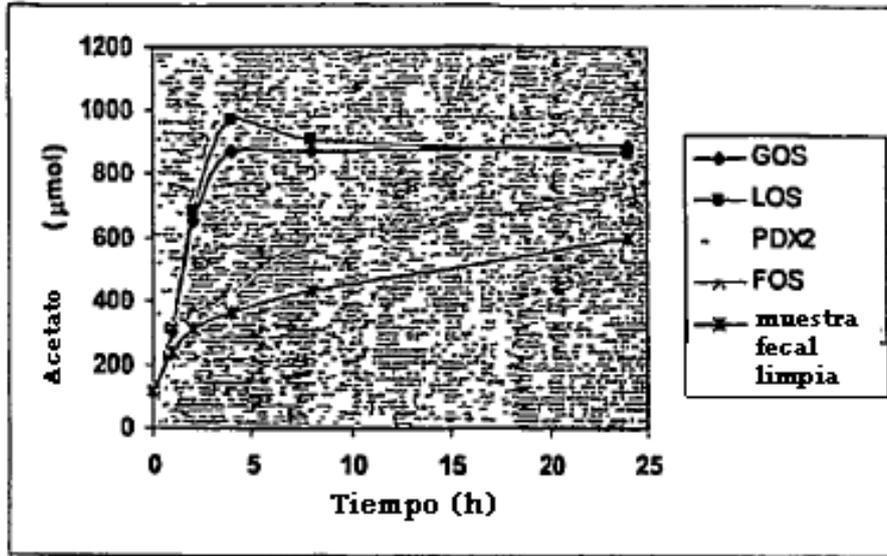


Figura 4

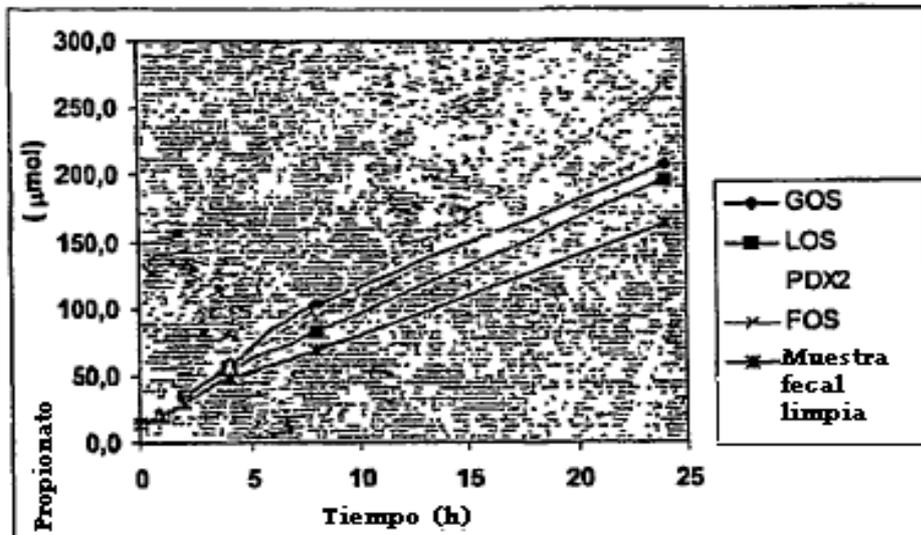


Figura 5

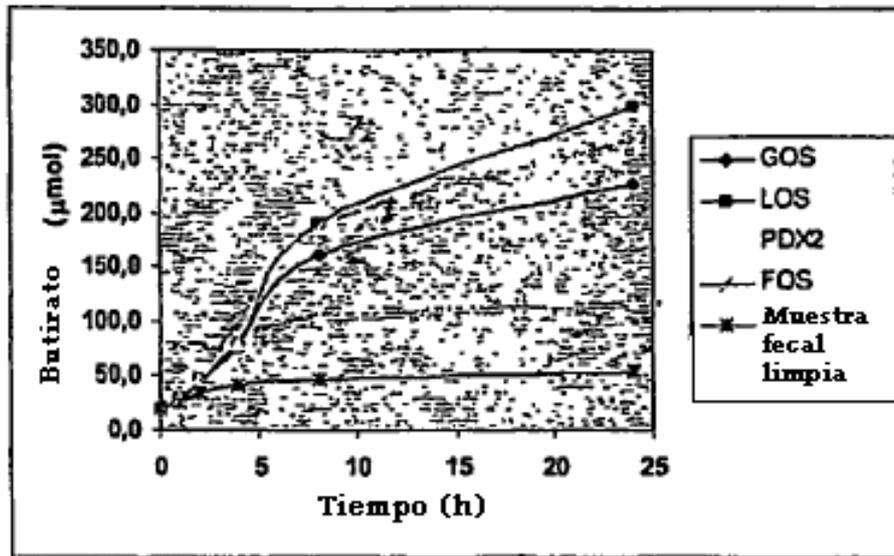


Figura 7

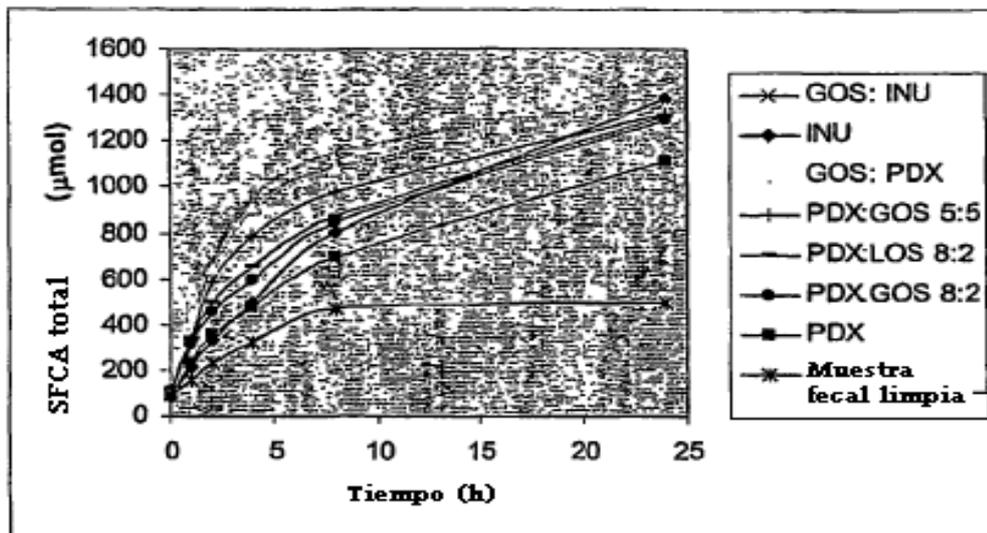


Figura 6

Proporciones relativas de ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico y producción total de SCFA (promedio y D.E.) en la fermentación de sustratos del grupo 3

		Acido acético %	ácido propiónico %	Acido butírico %	SCFA μmol Promedio
Tiempo (h)	GOS				
	0	79,3	8,6	12,1	144
	1	86,5	5,6	7,8	354
	2	89,5	4,6	5,9	727
	4	86,3	5,7	8,0	1010
	8	76,8	9,0	14,2	1134
	24	67,1	15,7	17,2	1325
Tiempo (h)	LOS				
	0	76,7	9,6	13,7	143
	1	85,9	6,0	8,1	365
	2	89,2	4,7	6,1	770
	4	88,0	5,0	7,0	1104
	8	77,0	7,0	16,1	1181
	24	63,7	14,5	21,9	1359
Tiempo (h)	PDX2				
	0	77,8	9,2	13,1	156
	1	83,1	7,1	9,8	303
	2	81,2	7,6	11,2	426
	4	75,7	9,9	14,4	550
	8	74,3	12,5	13,2	775
	24	66,5	23,3	10,2	1128
Tiempo (h)	FOS				
	0	78,4	9,0	12,7	143
	1	86,4	5,8	7,8	376
	2	89,7	4,4	5,9	816
	4	86,8	5,0	8,3	1195
	8	77,7	7,4	15,0	1254
	24	66,9	14,9	18,2	1470
Tiempo (h)	Muestra fecal limpia				
	0	78,3	9,0	12,7	151
	1	83,3	7,3	9,3	280
	2	82,7	8,1	9,2	373
	4	80,1	10,7	9,2	450
	8	78,8	12,5	8,8	548
	24	73,4	20,0	6,6	817

Figura 8

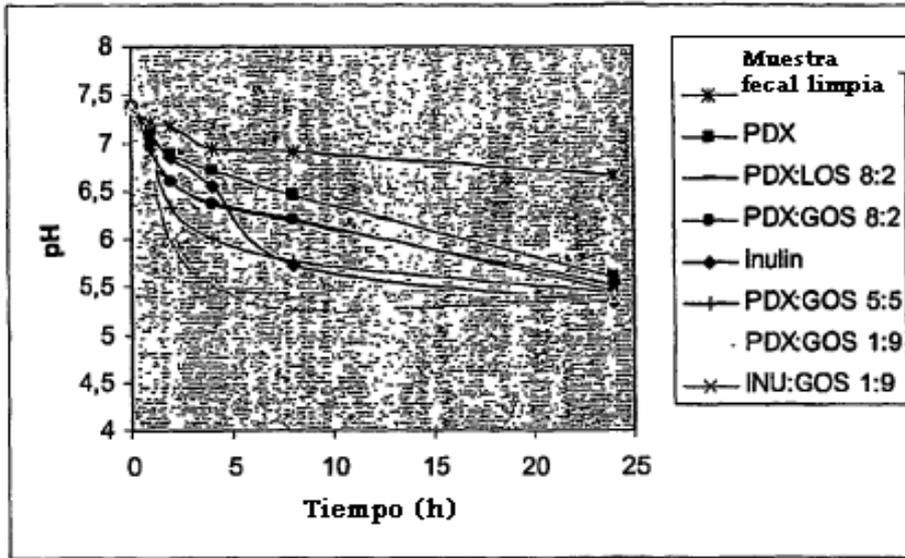


Figura 9

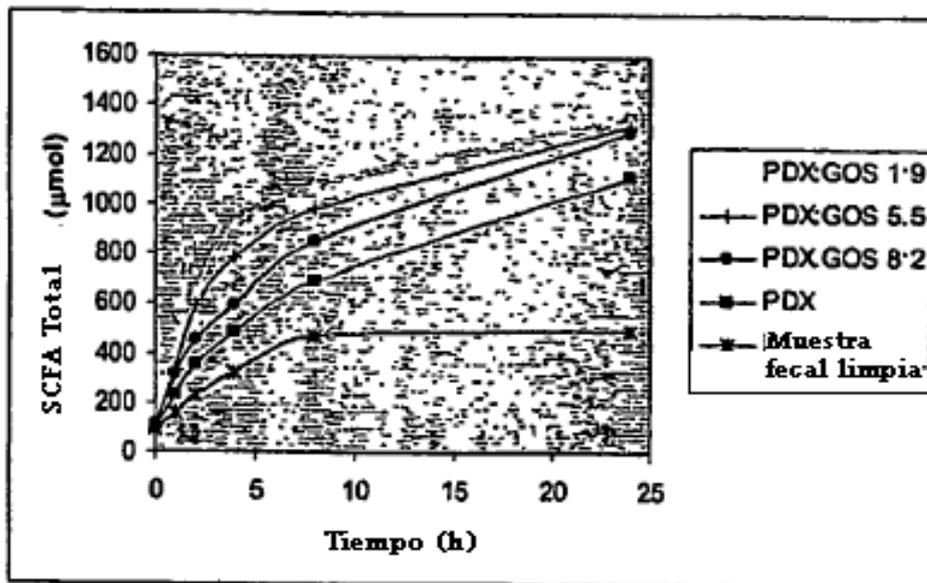


Figura 10

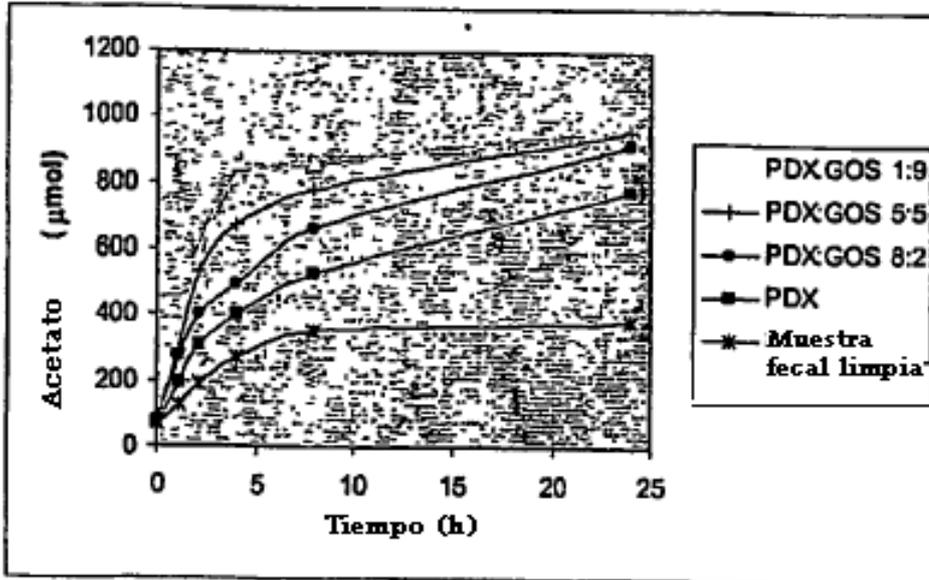


Figura 11

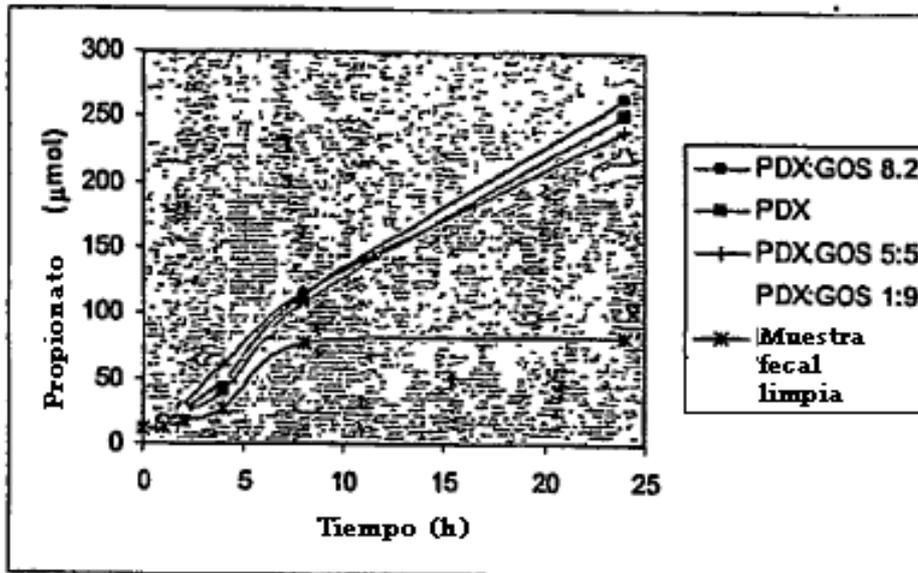


Figura 12

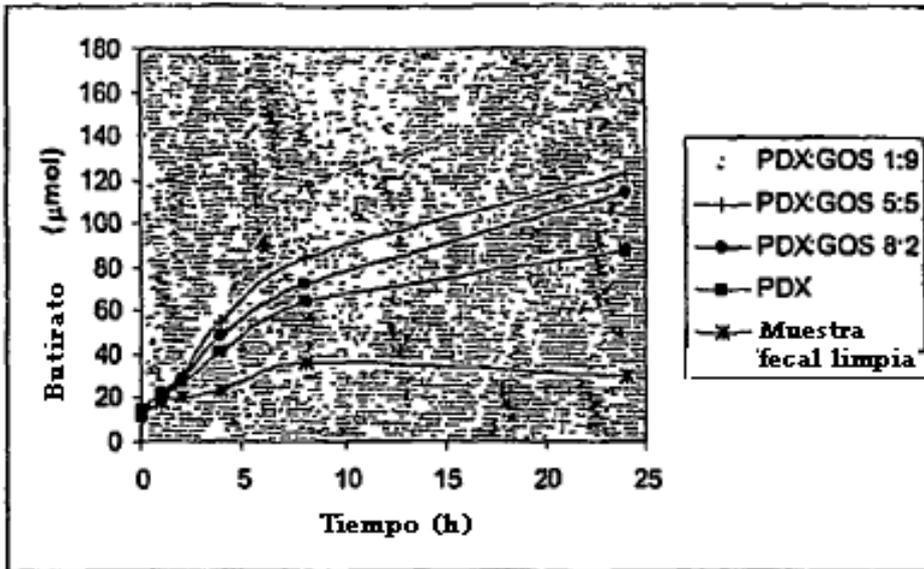


Figura 13

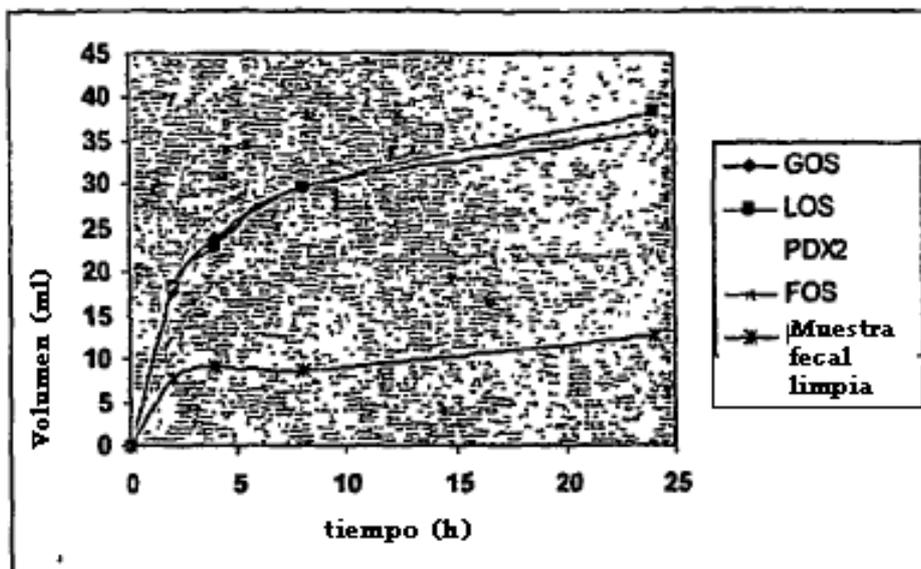


Figura 14

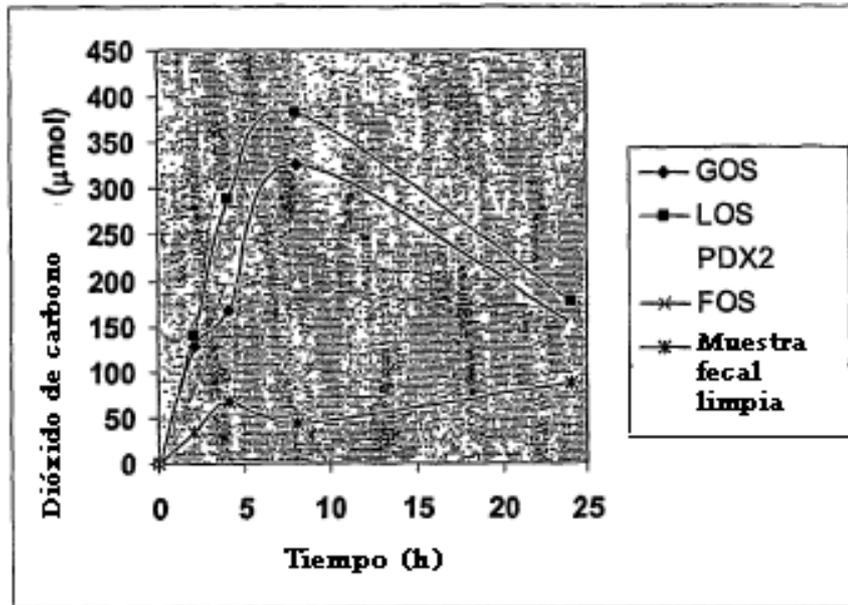


Figura 15

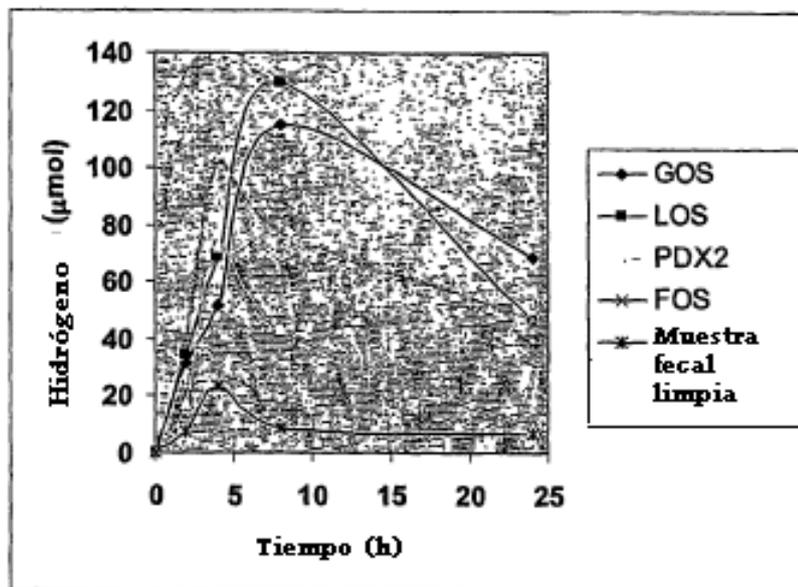


Figura 16

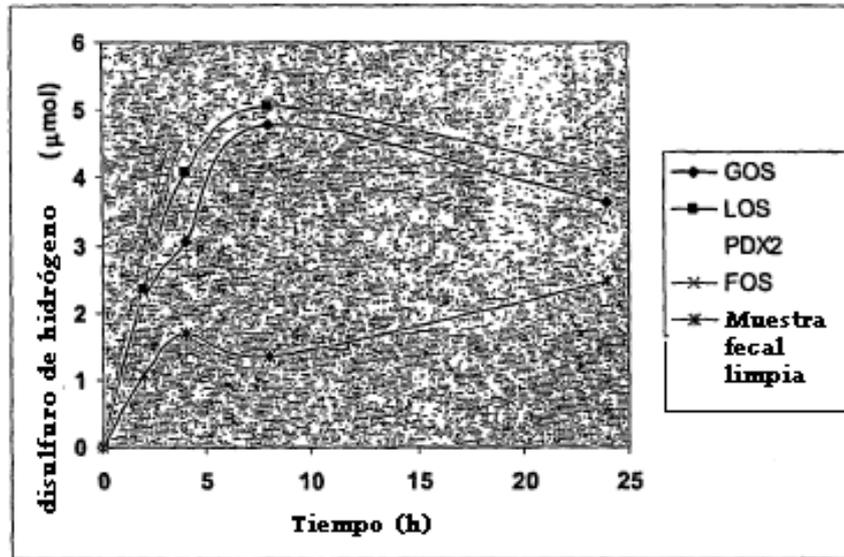


Figura 17

Resumen de Efectos de Prebióticos en Microflora Fecal

Prebiótico de examen	Incremento Log10 con prebiótico (T12-T6)							
	Bifidobacteria		Lactobacilli		Clostridia		Bacteroides	
	V1	V2	V1	V2	V1	V2	V1	V2
leche materna	1.34	2.13	1.66	1.87	-1.00	-2.55	0.09	-0.12
FOS	1.55	0.05	-1.26	0.26	1.14	0.71	-0.48	0.97
LOS	-0.50	-0.28	0.70	1.19	0.11	1.22	-0.59	0.20
GOS	0.33	0.75	0.00	0.00	-1.31	-0.15	-0.85	0.03
PDX	0.23	-0.17	1.35	0.55	-1.79	-0.88	-1.64	-1.79
1:1 PDX:GOS	0.58	0.47	1.21	0.81	0.91	0.43	0.00	0.74
1:1 PDX:LOS	-0.32	-0.33	0.57	-0.25	-0.22	-0.10	0.12	-0.41
1:1 LOS:GOS	0.14	0.53	0.21	1.53	0.48	-1.63	-1.60	2.04

Nota: fermentación V1 a pH:5,2; fermentación V2 a pH: 6,7