



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: 2 362 572

(51) Int. Cl.:

A61K 36/28 (2006.01)

$\widehat{}$,
12	TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA
(2)	I NADUCCION DE FAI ENTE EUNOFEA

Т3

- 96 Número de solicitud europea: 03740343 .3
- 96 Fecha de presentación : **26.06.2003**
- 97 Número de publicación de la solicitud: 1515615 97 Fecha de publicación de la solicitud: 23.03.2005
- (54) Título: Composición nutricional para la detoxificación y la prevención del cáncer.
- (30) Prioridad: **26.06.2002 US 180773**

(73) Titular/es: **NESTEC S.A. Avenue Nestlé 55** 1800 Vevey, CH

Fecha de publicación de la mención BOPI: 07.07.2011

(2) Inventor/es: Malnoe, Armand; Offord Cavin, Elizabeth y Cavin, Christophe

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente: 07.07.2011

74 Agente: Isern Jara, Jorge

ES 2 362 572 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 para la detoxificación y la prevención del cáncer.

La presente invención se refiere en general a las composiciones nutricionales. Más específicamente, la presente invención se refiere a las composiciones nutricionales que incluyen extractos de achicoria, para mejorar la salud de humanos y animales.

Fundamento de la invención

5

10

15

20

25

30

55

La necesidad de mejorar la salud de los mamíferos ha sido y sigue siendo el motivo de los esfuerzos continuos en investigación y de los descubrimientos para prevenir enfermedades. En general, se sabe que los alimentos, las fuentes dietéticas u otras fuentes nutricionales contienen una serie de constituyentes o agentes que se cree que son capaces de ejercer un efecto protector tanto en humanos como en animales.

Por ejemplo, se sabe que los oligosacáridos, como la inulina y diversos fructooligosacáridos, tienen efectos prebióticos, como promover el crecimiento de las bifido- y lactobacterias en el tracto gastrointestinal a costa de los patógenos que incluyen, por ejemplo, el Clostridium perfringens. Ver, por ejemplo, Gibson y cols., Food Microbiology, 11(6), páginas 491-498(1994). Aunque la mayoría de la experimentación se ha llevado a cabo in vitro, existen informes de que estos oligosacáridos tienen un efecto similar en el intestino de ratas y humanos. A este respecto, en general se sabe que incentivar el crecimiento de bifido y lactobacterias mediante el uso de oligosacáridos puede proporcionar una diversidad de efectos beneficiosos en animales y humanos, como la prevención y/o el tratamiento de diarrea, mayor crecimiento, una mayor capacidad de reproducción o bien otros efectos beneficiosos para la salud.

Además, un mecanismo básico por el cual se cree que los agentes dietéticos protegen contra el cáncer es porque inducen la detoxificación enzimática que impide que los agentes causantes del cáncer reaccionen o se unan a puntos de referencia críticos susceptibles al crecimiento de células cancerosas. La investigación ha indicado que los compuestos bioactivos como el cafestol y el kahweol en el café pueden inducir la actividad total de la glutatión-Stransferasa ("GST") A.C. Huggett y cols.; Chemoprotective Effects of coffee and its components Cafestol and Kahweol; Effects on xenobiotic metabolising enzymes, Asic, 16 Colloque, Kyoto, pp. 65-72(1995). De las enzimas GST se cree que básicamente son una familia esencial de enzimas con distribución específica tisular que son capaces de promover la inactivación carcinogénica por su capacidad para catalizar la reacción de una amplia variedad de electrófilos al glutatión. A este respecto, se piensa en general que la mayoría de carcinógenos o cancerígenos activados son grupos electrófilos. Wim A. Nijhoff y cols.; Carcinogenesis, vol. 16 no. 4, pp. 955-957 (1995)

La inulina o bien otros agentes dietéticos que presumiblemente mejoran la salud en los humanos y animales tal como se ha comentado antes, pueden proceder de plantas o bien otras fuentes naturales. Por ejemplo, se sabe que la inulina se obtiene de plantas que tienen una alta concentración en inulina, como la chicoria, Jerusalem artichoke, puerro y espárrago. A este respecto, la planta se purifica o trata previamente a su uso para aumentar el sabor de la misma, así como para eliminar, o al menos minimizar un gusto amargo típicamente asociado a la chicoria. Ver por ejemplo, la patente americana 4.865.852. En la chicoria, el sabor amargo procede de las lactonas de sesquiterpeno, como la lactucina y lactucopicrina. Además, se cree que la purificación o bien cualquier otro tratamiento de la planta previamente al uso puede aportar un control más exacto de las cantidades de los agentes bioactivos, como la inulina, que se añadirá a la dieta de un ser humano y/o animal.

En general, el producto de la planta purificada se prepara por hidrólisis con ácidos o enzimas. Luego se recoge el hidrolizado y se condensa para obtener el agente bioactivo, como la inulina. Por ejemplo, el documento de la patente japonesa nr. 63-309147 informa sobre la trituración de tubérculos de chicoria, hidrolizándolos parcialmente con ácidos y luego secando el hidrolizado con o sin neutralización. Sin embargo, la purificación de, por ejemplo, fructooligosacáridos e inulina, se puede añadir al coste del producto dietético. Como consecuencia de ello, el uso de productos dietéticos se ha limitado generalmente a alimentos especiales o productos dietéticos en humanos y animales.

Por lo tanto existe una necesidad de una composición nutricional que incluya ingredientes naturales, como chicoria y/o extractos de la misma, que sean agradables para los humanos y animales, que se puedan fabricar de forma económica, y que puedan mejorar la salud de los humanos y animales, así como prevenir el cáncer.

Resumen de la invención

La presente invención se refiere a las composiciones nutricionales que se pueden utilizar para mejorar la salud en seres humanos y animales, en particular, para prevenir el cáncer. Las composiciones nutricionales de la presente invención incluyen al menos un agente fitoquímico.

Los solicitantes han descubierto que la combinación de fibra dietética fermentable, preferiblemente fibras prebióticas, y agentes fitoquímicos puede proceder de una fuente común, como una planta incluyendo la achicoria. Usando modelos in vitro de hepatocitos de roedores, los solicitantes han demostrado que los extractos de raíz de achicoria

también contienen sustancias fitoquímicas (además de fibra dietética fermentable, preferiblemente fibras prebióticas como la inulina). Las sustancias fitoquímicas son capaces de potenciar la actividad de la enzima GST, que a su vez puede potenciar la detoxificación, estimular una protección antioxidante o bien potenciar otros procesos similares en un mamífero que se cree que son responsables de la prevención del cáncer. A este respecto, los solicitantes han averiguado sorprendentemente que la combinación de fibras prebióticas (por ejemplo, inulina), las cuales tienen conocidas propiedades antitumorales, y los agentes fitoquímicos quimiopreventivos se puede originar en la misma planta que se puede utilizar para reducir el riesgo de cáncer, especialmente cáncer asociado al intestino o bien a otros lugares sensibles.

- 10 Con esta finalidad, en una configuración de la presente invención se propone una composición nutricional capaz de reducir un riesgo de cáncer. La composición nutricional se ha definido en las reivindicaciones adjuntas. Preferiblemente, el extracto de achicoria en la composición nutricional incluye una cantidad de al menos un 0,5% en peso sobre una base seca.
- 15 En una configuración, los extractos de achicoria son tal como se han definido en las reivindicaciones adjuntas. En una configuración, los extractos de achicoria son de pulpa de achicoria, raíz de achicoria, similares y combinaciones de los mismos.
- En una configuración, el agente fitoquímico induce la actividad de la glutatión-S-transferasa (GST) y es capaz de potenciar la detoxificación en un tejido de mamífero. En otra configuración, la actividad de la GST es capaz de estimular la protección antioxidante en el tejido del mamífero.
 - La presente invención también ofrece un producto alimenticio para animales tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.
 - En todavía otra configuración de la presente invención, se muestra un método para preparar una comida nutricional para animales capaz de reducir la incidencia del cáncer en un mamífero. El proceso incluye las etapas tal como se definen en las reivindicaciones adjuntas.
- 30 En una configuración de la presente invención, el extracto de achicoria se manipula desengrasando el material de la planta para crear un primer extracto vegetal y posteriormente este se trata con acetato de etilo por hidrólisis ácida para dar lugar al extracto vegetal.
 - Un método para reducir un riesgo de cáncer en un mamífero con riesgo de cáncer se describe a continuación.
 - También se describe un método para incrementar la detoxificación en un tejido de mamífero.
 - Se cree que la actividad enzimática elevada puede promover la detoxificación reduciendo con ello el riesgo de cáncer.
- 40 Además también se describe un método para estimular una protección antioxidante en tejido de un mamífero. Se piensa que la actividad enzimática elevada puede estimular la protección antioxidante reduciendo con ello el riesgo de incidencia del cáncer.
- Una ventaja de la presente invención es que aporta una composición nutricional mejorada que se puede utilizar para reducir una incidencia del cáncer en los mamíferos. A este respecto, la composición nutricional es capaz de potenciar los procesos de detoxificación, las protecciones antioxidantes, o bien procesos similares o combinaciones de los mismos en mamíferos y todo ello reduce la incidencia de cáncer.
- Otra ventaja de la presente invención es que aporta una composición nutricional mejorada que incluye un extracto de achicoria tal como se define en las reivindicaciones adjuntas, donde el extracto de achicoria contiene una sustancia fitoquímica capaz de inducir la actividad de la GST con el fin de reducir el riesgo de cácer en mámíferos con riesgo de cáncer.
- Incluso otra ventaja de la presente invención consiste en lograr métodos que produzcan composiciones nutricionales mejoradas que contengan un material vegetal que pueda mejorar el sabor de la composición nutricional manteniendo las propiedades de detoxificación enzimática del material vegetal.
 - Otra ventaja de la presente invención consiste en lograr métodos de prevención del cáncer en mamíferos que incluyan la administración de una composición nutricional mejorada. La composición nutricional se ha definido en las reivindicaciones adjuntas.
 - Aquí se describen las características y ventajas adicionales de la presente invención que se pondrán de manifiesto en la siguiente descripción detallada de la invención.

Descripción detallada de la invención

65

60

25

35

La presente invención se refiere a las composiciones nutricionales tal como se definen en las reivindicaciones

adjuntas, que se pueden utilizar para prevenir de forma eficaz el cáncer en los humanos y animales, en particular el cáncer asociado al intestino, lo que incluye, por ejemplo, el cáncer de colon. Los solicitantes han descubierto de forma sorprendente que ciertas plantas y/o extractos de plantas de los mismos, como la achicoria, contienen sustancias fitoquímicas que pueden estimular las vías de detoxificación para prevenir el cáncer, así como estimular las enzimas de la fase II que incluyen la glutatión-S-transferasa.

Además de las sustancias fitoquímicas tal como se ha comentado antes, se sabe que plantas como la achicoria contienen fibras dietéticas fermentables, como las fibras prebióticas. Las fibras prebióticas pueden incluir una serie de materiales adecuados, como los oligosacáridos que incluyen la inulina. También se cree que las fibras dietéticas fermentables reducen la incidencia del cáncer, en particular en el colon. A este respecto, los solicitantes piensan que se consiguen grandes ventajas en la prevención del cáncer en humanos y animales gracias al efecto combinado de las sustancias fitoquímicas dietéticas fermentables que puede estimular las vías de detoxificación.

10

15

20

40

65

Los solicitantes también han demostrado que loas propiedades detoxificantes de la composición nutricional de la presente invención no se ven afectadas esencialmente por las condiciones en las que se preparan las composiciones nutricionales en virtud de la presente invención. Por ejemplo, la purificación del material vegetal que se lleva a cabo conforme a la presente invención, que se ha utilizado para reducir la amargura del extracto vegetal y por tanto hacer que sea más agradable el sabor tanto para humanos como para animales, tiene un insignificante efecto en las propiedades de detoxificación del producto purificado resultante. A este respecto, las propiedades para prevenir el cáncer pueden proceder esencialmente de los extractos vegetales crudos, como la achicoria. Esta puede eliminar la necesidad de una purificación cara o bien de cualquier otro tratamiento similar de un material vegetal para producir la fracción bioactiva deseable.

Tal como aquí se indica, el término "agente bioactivo" o bien otros términos similares "fracciones bioactivas" significa o equivale cualquier constituyente o constituyentes que puedan exteriorizar la actividad biológica, la actividad química o bien cualquier actividad similar en un mamífero, que sean capaces de mejorar la salud de un mamífero. Ejemplos de agentes bioactivos incluyen, por ejemplo, las fibras dietéticas fermentables, como las fibras prebióticas, las sustancias fitoquímicas o similares.

Tal como se ha utilizado aquí, el término "prebiótico" o bien otros términos similares que incluyen "fibras prebióticas" equivale a una sustancia o un constituyente que puede promover el crecimiento de los microorganismos beneficiosos en los mamíferos.

El término "fitoquímico" o bien otros términos similares que incluyen "sustancias fitoquímicas" y "agentes fitoquímicos" equivale a cualquier sustancia química fabricada por una planta, que se cree que mejora la salud en los humanos y/o animales, como preventivo del cáncer.

Tal como aquí se utiliza, el término "actividad enzimática" o bien otros términos similares, como "actividad del enzima" hace referencia a cualquier enzima que puede actuar como un catalizador durante algún proceso biológico, químico o similar apropiado, que se cree que mejora la salud en un mamífero. Por ejemplo, el aumento de la actividad enzimática en relación con la glutatión-S-transferasa puede potenciar la detoxificación en los tejidos, estimular una protección antioxidante en el tejido o bien procesos similares que se cree que son responsables de la prevención del cáncer.

La composición nutricional puede incluir cualquier tipo y cantidad adecuada y compatible de constituyentes de manera que la composición nutricional pueda utilizarse de forma eficaz para prevenir el cáncer. En una configuración, la composición nutricional incluye un extracto de achicoria tal como se ha definido en las reivindicaciones adjuntas cuando es capaz de inducir o promocionar la actividad de la enzima GST, que se cree que es responsable de la detoxificación de los agentes que causan el cáncer. Se cree que el agente fitoquímico además de potenciar la detoxificación a través de una actividad enzimática elevada, estimula las defensas antioxidantes, o bien estimula otros procesos similares en humanos y/o mamíferos. Como resultado de ello, se piensa que el agente fitoquímico es capaz de mejorar la salud en los mamíferos, reduciendo la incidencia del cáncer.

En una configuración, la composición nutricional comprende un extracto de achicoria tal como se ha definido en las reivindicaciones adjuntas. El extracto se puede fabricar a partir de cualquier parte adecuada de la planta, por ejemplo, la raíz, pulpa, o combinaciones de las mismas. El extracto se manipula de manera que puede aumentar su sabor. Por ejemplo, los sabores amargos que se asocian típicamente a los materiales vegetales, como el de la achicoria, se pueden eliminar transformando la planta en un extracto. El extracto también se puede preparar de manera que la cantidad de agente bioactiva en el extracto final se pueda controlar de la forma deseada.

Sería de agradecer que la achicoria pueda ser transformada para formar un extracto en una serie de formas distintas y variadas. En general, el material vegetal, como la raíz de achicoria, se tritura, pulveriza o se suministra en cualquier forma adecuada. Luego puede ser tratado en diferentes etapas para dar lugar al extracto del producto. En una configuración, se realiza un proceso desengrasante en el material vegetal para crear un extracto que sea el resultado de la eliminación de las grasas del material vegetal. El procedimiento desengrasante se puede llevar a cabo en cualquier condición desengrasante adecuada con cualquier tipo y cantidad de disolvente que incluya, por

ejemplo, hexano.

10

15

20

30

50

55

60

65

En una configuración, el extracto resultante del procedimiento desengrasante es sometido además a una hidrólisis ácida para crear otro tipo de extracto vegetal que pueda ser añadido a la composición nutricional de la presente invención. El procedimiento de hidrólisis ácida se realiza en cualquier proceso con acetato de etilo.

Los agentes fitoquímicos pueden incluir cualquier tipo y cantidad adecuada que sea capaz de inducir la actividad de la GST que se cree es responsable de la detoxificación de los carcinógenos. En una configuración, el agente fitoquímico incluye antioxidantes, catequina, constituyentes o combinaciones similares. En una configuración el agente fitoquímico del extracto de achicoria es capaz de inducir la actividad enzimática de fase II, como la actividad de la enzima GST. Al inducir la actividad de la GST, se cree que las sustancias fitoquímicas son capaces de incrementar la detoxificación en los tejidos mamíferos (por ejemplo, incrementando la actividad de la GST), capaces de estimular una protección antioxidante en los tejidos mamíferos (por ejemplo, aumentando los niveles de glutatión), o bien capaces de mejorar la salud de los mamíferos en otros mecanismos similares que se cree que son ideales para prevenir el cáncer.

Se debería apreciar que la composición nutricional de la presente invención pueda incluir una variedad de formas diferentes y adecuadas. En una configuración, la composición nutricional puede incluir un suplemento nutricional, un preparado alimenticio para humanos y/o animales, comida para animales o algo similar. La composición nutricional se puede añadir al producto alimenticio en cualquier cantidad apropiada. En una configuración. el producto alimenticio incluye el extracto de achicoria de la composición nutricional en una cantidad de al menos un 0,5% en peso, preferiblemente entre un 0,5% y un 30% en peso, más preferiblemente entre un 0,5% en peso y un 2% en peso.

En una configuración, la presente invención proporciona un producto alimenticio para animales que incluye una matriz de almidón y una cantidad eficaz de extracto de achicoria que incluye un agente fitoquímico capaz de inducir la actividad de la GST que se cree que mejora la salud en los mamíferos y actúa en la prevención del cáncer. El producto alimenticio para animales de la presente invención puede incluir cualquier número, tipo y cantidad adecuada de constituyentes y ser manipulado de forma adecuada para dar lugar a un producto deseable.

En una configuración, la presente invención incluye un producto a base de cereales gelatinizados que contiene una cantidad de extracto de achicoria. El material vegetal al menos incluye una sustancia fitoquímica capaz de estimular la actividad de la GST en los mamíferos que se cree que mejora la salud en los mismos, tal como se ha escrito antes.

Tal como se describe a continuación, los ingredientes restantes incluidos en el producto a base de cereales gelatinizados pueden ser cualquier ingrediente adecuado utilizado frecuentemente en productos a base de cereales gelatinizados. En general, estos ingredientes incluyen una fuente de algodón y una fuente de proteínas. Las fuentes de almidón adecuadas son, por ejemplo, los granos como el maíz, arroz, trigo, remolacha, cebada, avena, soja y mezclas de los mismos. Las fuentes proteínicas adecuadas se pueden seleccionar de cualquier fuente proteínica adecuada animal o vegetal. Los ejemplos incluyen comida a base de carne, harina de huesos o huesos en polvo, comida a base de pescado, concentrados de proteínas de soja, proteínas de la leche, gluten y similares. La elección del almidón y de las fuentes proteínicas viene determinada principalmente por las necesidades nutricionales de los animales o humanos, consideraciones sobre el sabor, el tipo de producto a base de cereales producido o o bien otras consideraciones similares. Otros ingredientes, por ejemplo, azúcar, sal, especias, condimentos, vitaminas, minerales, agentes aromatizantes, grasas y similares también se pueden incorporar al producto cereal gelatinizado si se desea.

El producto cereal gelatinizado se puede preparar de formas muy diferentes según se desee. Sin embargo, para un producto cereal secado, una forma especialmente adecuada de fabricar el producto es la cocción por extrusión. Esto se puede hacer siguiendo una técnica bien conocida. Por ejemplo, en un proceso adecuado, se introduce una mezcla alimenticia en un preacondicionador. La mezcla alimenticia está constituida básicamente de una fuente de almidón, una fuente de proteínas, y el material vegetal, como la achicoria. En una configuración, la achicoria incluye al menos aproximadamente un 1% en peso del material alimenticio, preferiblemente al menos aproximadamente un 2% en peso. En una configuración, el material vegetal oscila entre un 10% y un 20% en peso, preferiblemente aproximadamente un 10% en peso. En el preacondicionador, agua o bien vapor o ambos, se mezclan en la mezcla alimenticia. Una cantidad suficiente de agua o vapor se mezcla en la mezcla alimenticia para humedecer la mezcla alimenticia. Si se desea, la temperatura de la mezcla alimenticia se puede incrementar en el preacondicionador a aproximadamente 60°C hasta 90°C en peso. En la 4.752.139 americana se describe un preacondicionador adecuado. No es preciso el uso de un preacondicionador.

El alimento humedecido que sale del preacondicionador pasa luego al extrusor. El extrusor puede ser cualquier extrusor de cocción de tornillo simple o doble tornillo. Los extrusores adecuados se pueden obtener de Wenger Manufacturing Inc., Clextral SA, Bühler AG, y similares. Durante el paso por el extrusor, el alimento humedecido pasa a través de una zona de cocción, en la cual es sometido a cizallamiento mecánico y se calienta. En una configuración, el alimento humedecido se calienta hasta una temperatura máxima de unos 150ºC, y una zona de conformación. La presión en la zona de conformación es de unos 300 kPa hasta 10 MPa, según se desee. Si se

desea, agua o vapor, o ambos, se pueden introducir en la zona de cocción. Durante el paso por el extrusor, la fuente de almidón del alimento humedecido es gelatinizada para dar lugar a una estructura matricial gelatinizada básicamente de almidón, proteína y el material vegetal, como la achicoria. La matriz gelatinizada que sale de la extrusora es forzada a través de un molde adecuado, por ejemplo, un molde tal como se describe en la Solicitud de Patente Europea nr. 0665051, a cuya descripción se hace referencia en el presente documento. Un extrudado moldeado, que tiene una forma o perfil transversal que corresponde a la del orificio del molde, sale del molde. Dependiendo de las condiciones en el extrusor y de la fuente de almidón empleada, el extrudado moldeado se expande en mayor o menor grado. El extrudado moldeado se cortará luego en piezas usando cuchillas. Las piezas individuales se secan luego y, si se desea, se recubre de agentes protectores o aromatizantes, o ambos. Tras el enfriado, las piezas pueden envasarse en paquetes adecuados. Alternativamente, se pueden trocear las piezas individuales y luego secar.

10

15

20

25

30

45

60

Dependiendo de los ingredientes utilizados, el producto a base de cereales gelatinizados puede encontrarse en forma de un triturado seco que se utilizará como alimento para animales, piezas expandidas adecuadas para ser utilizadas en los cereales del desayuno, escamas o copos adecuados para utilizar en los cereales del desayuno, y similares

También es posible fabricar un producto a base de cereales secos mezclando agua y los ingredientes del producto de cereales, por ejemplo, en un preacondicionador. La mezcla húmeda se puede moldear a una forma deseada utilizando rodillos moldeadores. La mezcla moldeada puede ser cocina luego en un horno, a una temperatura adecuada. A continuación, la mezcla moldeada se puede cocer en un horno, a cualquier temperatura adecuada. En una configuración, la temperatura oscila entre unos 220°C y unos 280°C durante un tiempo de cocción adecuado. En una configuración, el tiempo de cocción oscila entre unos diez minutos y aproximadamente 1 hora. El producto a base de cereales secos tiene el aspecto de una galleta cocida.

En caso de que se desee fabricar un producto con aspecto de carne que se pueda emplear en los alimentos envasados para animales, se puede llevar a cabo cualquier proceso. Por ejemplo, los procesos pueden ser los mencionados en US 4.781.939 y 5.132.137. En estos procesos, se emulsiona una fuente proteínica, en especial una carne. Esta carne puede ser cualquier fuente de proteínas animales, por ejemplo, la carne del músculo o del esqueleto de los mamíferos, carne de aves, de pescado o de productos secundarios, como corazones, hígado, riñones, lengua y similares o bien comidas a base de carne. También se pueden incluir las fuentes de proteínas vegetales. La composición exacta se puede elegir conforme al coste y al sabor deseado. La emulsificación se puede llevar a cabo en cualquier equipo adecuado.

La achicoria seca se añade a la emulsión. Es decir, si se desea o necesita, se pueden añadir proteínas a la emulsión. Las proteínas adicionales pueden ser cualquier fuente proteínica tal como se ha mencionado antes. La elección exacta dependerá de la disponibilidad, del coste y del sabor. La proteína adicional se puede añadir en cualquier cantidad adecuada. En una configuración, las proteínas adicionales se añadirán en una cantidad que oscilará entre un 5% y aproximadamente un 35% en peso.

Si se desea o requiere, también se pueden añadir grasas a la emulsión. En general, la cantidad de grasas en la emulsión debe ser controlada para facilitar el tratamiento y para obtener un producto aceptable. Sin embargo, la carne puede contener la cantidad de grasas deseada y quizás no se precise ningún ajuste. Lo típico en esta etapa es que la emulsión contenga un nivel máximo de grasas de aproximadamente un 25% en peso. En una configuración, la cantidad de grasa en la emulsión se encuentra entre un 5% y un 15% en peso, más preferiblemente alrededor del 7% al 12% en peso. El cociente de masa de proteína frente a grasa en la emulsión es preferiblemente de 1:1 a 7:1. En caso de que se añadan, las grasas pueden ser cualquier tipo de grasa animal, como sebo o quizás grasas vegetales.

Los ingredientes adicionales como los azúcares, las sales, especias, condimentos, minerales, agentes aromatizantes, y similares también se pueden añadir a la emulsión. En una configuración, la cantidad de ingredientes adicionales utilizada oscila entre un 1% y un 5% en peso de cereal gelatinizado. También se puede añadir agua para proporcionar a la emulsión entre un 45% y un 80% de humedad. Si existe suficiente humedad en la carne, no es preciso añadir agua.

Una vez mezclados, la emulsión se hace pasar preferiblemente a través de un dispositivo de relleno de vacío, o bien un aparato de desaireación similar para desairear la emulsión. Este elimina el aire que puede causar la ruptura del producto de la emulsión mencionada y reducir su aspecto de carne. La emulsión se introduce luego en un molino donde es sometida a un calentamiento mecánico rápido y a un cizallamiento. Se puede utilizar cualquier molino de emulsión adecuado como, por ejemplo, el molino mencionado en la patente americana 5.132.137. Otros molinos de emulsión adecuados se encuentran disponibles bajo el nombre comercial de TRIGONAL y se pueden obtener en Siefer Machinenfabrik GmbH & Co KG. Bahnhofstrasse 114, Postfach 101008. Velbert 1, Alemania

La temperatura de la emulsión se puede elevar hasta la temperatura de coagulación deseada en el molino de emulsión durante unos segundos. En una configuración, la temperatura de coagulación oscila entre unos 100°C y unos 120°C. En una configuración, la temperatura oscila entre unos 45°C y unos 75°C, tal como se ha descrito en la

patente americana 5.132.137. En general, la energía mecánica generada en el molino de emulsión será suficiente para calentar la emulsión a la temperatura deseada pero esto puede ir complementado con la inyección de vapor supercalentado.

- La emulsión calentada que sale del molino se puede hacer pasar a un tubo de retención. En el tubo de retención, la emulsión calentada se coagula mientras se desplaza lentamente a lo largo del tubo. El tiempo de residencia de la emulsión calentada en el tubo de fijación es suficiente para que la emulsión haya coagulado dando un producto emulsionado firme al llegar a la salida del tubo de retención.
- El producto de la emulsión firme que sale del tubo de retención se transfiere luego a un cortador donde se corta en trozos o piezas, como pedazos, de un tamaño apropiado para su uso en la comida de animales. Los pedazos tienen el aspecto y la textura de la carne. Los pedazos o las piezas se cortarán en escamas o astillas si se desea.
- Se conocen otros procedimientos para fabricar pedazos o piezas y se pueden utilizar, como la extrusión de una mezcla alimenticia, la cocción de una mezcla alimenticia en un horno de vapor, y el corte del extrudado cocinado en pedazos.
- Si se desea fabricar un alimento envasado para animales en forma de una rebanada de carne, se puede preparar una masa o pasta de carne emulsionando un material a base de carne para fabricar una emulsión de carne. El material a base de carne puede ser cualquier tipo de carne, por ejemplo, la descrita antes. Los agentes de gelificación adecuados incluyendo las gomas como la carragenina o goma carragenato tipo kappa, la goma de grano o semillas de algarrobo, goma guar, goma xantano o similares, se pueden añadir a la emulsión de carne. En una configuración, no se utiliza más de aproximadamente el 2% en peso de goma. El material vegetal seco como la achicoria se añadirá luego a la emulsión de carne.
 - Los ingredientes adicionales como los azúcares, sales, especias, condimentos, minerales, agentes aromatizantes, y similares también se pueden añadir a la emulsión de carne. La cantidad de ingredientes adicionales utilizada es tal que preferiblemente constituyen entre un 0,25% y un 5% en peso de la masa de carne. También se puede añadir agua a la emulsión de carne para lograr entre un 70% y un 80% en peso. Si existe suficiente humedad en la carne, no es preciso añadir agua.
 - La emulsión de carne se calienta luego a una temperatura por encima de unos 65°C en un agitador-aparato de cocción. Puede inyectarse vapor en la masa de carne si se desea. La emulsión de carne calentada se emulsiona otra vez para lograr una rebanada de masa de carne que se mantendrá a una temperatura algo superior a unos 60°C hasta su envasado.
 - Se debería tener en cuenta que el producto a base de cereales gelatinizados se puede fabricar siguiendo cualquier proceso adecuado y no solamente los descritos con anterioridad. También se pueden incluir otros tipos de oligosacáridos en el cereal gelatinizado, como los fructooligosacáridos y los oligosacáridos de soja. Los oligosacáridos de soja se pueden añadir en forma de preparado de soja.
 - Los productos a base de cereales se pueden encontrar en cualquier forma que incluirá, por ejemplo, la forma seca, húmeda y semi-húmeda. Sin embargo, la matriz que constituye el producto a base de cereales se debe gelatinizar para eliminar o destruir los compuestos de sesquiterpeno que pueden estar presentes en el material vegetal. Se debería tener en cuenta que el producto a base de cereales de la presente invención sirve tanto para consumo animal como humano.
 - Ejemplos de productos alimenticios para animales fabricados según la configuración de la presente invención se ilustran a continuación.

Ejemplo 1

30

35

40

45

50

55

- Una mezcla alimenticia consta de aproximadamente un 58% en peso de maíz, aproximadamente un 6% en peso de gluten de maíz, aproximadamente un 23% en peso de carne y comida, achicoria seca y sales, vitaminas y minerales. La achicoria seca se encuentra en forma de extracto de achicoria preparado según una configuración de la presente invención y que se añade en una cantidad de un 5% o menos.
- La mezcla alimenticia se introduce en un preacondicionador y se humedece. El alimento humedecido se introduce luego en un extrusor-aparato de cocción y se gelatiniza. La matriz gelatinizada a medida que va saliendo del extrusor se hace pasar por un molde y forma un extrudado. El extrudado se cortará en trozos o piezas adecuadas para alimentar a perros, se secarán a unos 110ºC durante unos 20 minutos, y se enfriarán para formar gránulos. Se debe considerar que parte o bien la totalidad de la mezcla grasa, o bien de la grasa y aceites utilizados, se puede añadir en una etapa posterior, por ejemplo, a modo de revestimiento.
- La achicoria añadida puede mejorar la salud en un mamífero, como medida de prevención del cáncer, por ejemplo, potenciando y/o estimulando la detoxificación, las defensas antioxidantes o similares en los tejidos, tal como se ha

comentado antes.

Ejemplo 2

Un alimento seco para animales se prepara del mismo modo que en el ejemplo 1. Incluye además un ingrediente adicional asociado típicamente al aumento o la mejora del sabor del alimento seco para gatos. La achicoria añadida puede mejorar la salud en un mamífero, como medida de prevención del cáncer, por ejemplo, potenciando y/o estimulando la detoxificación, las defensas antioxidantes o similares en los tejidos, tal como se ha comentado antes.

10

15

Ejemplo 3

Una mezcla alimenticia consta de aproximadamente un 58% en peso de maíz, aproximadamente un 6% en peso de gluten de maíz, aproximadamente un 23% en peso de carne de pollo, achicoria seca y sales, vitaminas y minerales. La achicoria se añade en una cantidad de aproximadamente un 5% o menos. Tal como se ha comentado previamente, la achicoria añadida puede estimular la actividad enzimática que se cree que mejora la salud en el animal, como medida de prevención del cáncer, por ejemplo, potenciando y/o estimulando la detoxificación, las defensas antioxidantes o similares en los tejidos.

La mezcla alimenticia se introduce en un preacondicionador y se humedece. El alimento humedecido pasa luego a un extrusor-aparato de cocción y se gelatiniza. La matriz gelatinizada a medida que va saliendo del extrusor se hace pasar por un molde y forma un extrudado. El extrudado se cortará en trozos o piezas adecuadas para alimentar a gatos, se secarán a unos 110ºC durante unos 20 minutos, y se enfriarán para formar gránulos. En esta fase, se añade a los gránulos un polvo liofilizado de una o más cepas de la especie *Lactobacillus*, como *Lactobacillus rhamnosus* NCC2583 (CNCM I-2449), *Lactobacillus acidophilus* NCC2628 (CNCM I-2453) y *Enterococcus faecium* SF68 (NCIMB 10415). Una cantidad suficiente de polvo se aplica a los gránulos de manera que la ingesta dietética correspondiente para el gato oscile entre 1.0E+07 hasta 1.0E+9cfu/día. A este respecto, una parte del polvo se mezcla en una primera masa de gránulos que son posteriormente ensacados. Una segunda parte del polvo se mide y mezcla con un portador de lípidos que luego se pulveriza sobre una segunda masa de gránulos. Los gránulos son ensacados una vez se haya secado el revestimiento a unos 50-60ºC durante unos minutos.

Ejemplo 4: Comida para animales envasada y suplemento

Se prepara una mezcla de aproximadamente un 73% de carcasa de pollo, pulmones de cerdo e hígado de ternera (triturado), aproximadamente un 16% de harina de trigo, aproximadamente un 2% de colorantes, vitaminas y sales inorgánicas. Esta mezcla se emulsiona a 12°C y es extruida en la forma de un pudding. La achicoria seca en forma de un extracto preparado según una configuración de la presente invención se añade a la emulsión en una cantidad de aproximadamente un 5% o algo menos. Tal como se ha comentado con anterioridad, la achicoria añadida puede mejorar la salud de un mamífero. La emulsión se cocina luego a una temperatura de 90°C. Se enfría a 30°C y luego se corta en pedazos. Aproximadamente un 45% de los pedazos se mezcla con un 55% de una salsa que se prepara a partir de aproximadamente un 98% de agua, un 1% de colorante y un 1% de goma guar. Las latas de estaño fino se llenan con los pedazos y la mezcla de salsa y se esterilizan a 125°C durante unos 40 minutos.

Como suplemento probiótico que se va a mezclar con el alimento para animales se dispone de unos sobrecitos o bolsitas con cepas de las especies *Lactobacillus* siguientes: *Lactobacillus rhamnosus* NCC2583 (CNCM I-2449), *Lactobacillus acidophilus* NCC2628 (CNCM I-2453) o *Enterococcus faecium* SF68 (NCIMB 10415). La correspondiente ingesta dietética del suplemento para animales oscila entre 106-10¹² cfu/día, dependiendo del tipo de animal, por ejemplo, un gato o un perro, y de los factores físicos de los animales, como la masa corporal. El suplemento se envasa de manera que se adhiere al envase o lata, junto con unas instrucciones sobre el alimento.

50

35

El ensayo o prueba experimental tal como se describe en detalle a continuación se ha realizado para demostrar la eficacia de la presente invención.

Prueba in vitro

55

60

Los inventores han llevado a cabo una serie de ensayos o pruebas experimentales para demostrar los efectos beneficiosos de la presente invención. En general, los cultivos de hepatocitos de rata se preparaban y trataban con diversas cantidades de extractos e achicoria durante un periodo de unas 48 horas. Los experimentos se realizaban para determinar los efectos citotóxicos y los efectos de inducir o estimular la actividad enzimática en mamíferos, lo que se cree que es responsable de una mejora en la salud del mamífero, como puede ser la prevención y/o el tratamiento del cáncer, ya que potencian la detoxificación y la protección antioxidante en tejidos, tal como se ha comentado con anterioridad. La preparación y los procedimientos experimentales de prueba y los resultados se comentan a continuación con más detalle.

65 Preparación del cultivo celular

Los hepatocitos aislados se obtenían por perfusión del hígado de las ratas Sprague-Dawley (250g) con una solución de colagenasa tal como se ha descrito en, por ejemplo, Sidhu J.S y cols.; Archive of Biochemistry & Biophysic; 301, pp.1-11, 1993. La viabilidad celular, estimada por la prueba de exclusión Trypan Blue, era de 90 al 95%.

Las células se espolvoreaban a una densidad de 10⁶ células/ml sobre unas placas de cultivo tisular de plástico de 60 mm en 3 ml de medio de William con un suplemento de L-glutamina 2mM, Hepes 10mM pH 7.4, ITS+, 15000U de penicilina/estreptomicina, dexametasona 100 nM y un 5% de suero bovino fetal (hi-clona). Se dejaba que los hepatocitos se adhirieran durante dos horas y luego se lavaban con EBSS para eliminar los restos y las células no adheridas. Se añadía un medio libre de suero que contenía 25 nM de dexametasona y luego se aplicaba una capa de matrigel (233 µg/ml). Una solución nueva de matrigel se añadía a los cultivos cada dos días tras cambiar el medio de cultivo. Para estudiar los efectos de los extractos de achicoria, se añadían los componentes al medio de cultivo 24 horas después de la siembra celular durante un periodo de tiempo de 48 horas.

Preparación de los extractos de achicoria

15

20

25

40

55

60

65

Se preparaban cuatro extractos de achicoria distintos, A-D según una configuración de la presente invención. Inicialmente, se hacían pasar por un cedazo de 0,5 mm 40 gramos (g) y una muestra de 10 g de achicoria en forma de polvo Luego las muestras se manipulaban para eliminar las grasas mezclándolas con hexano durante unos treinta minutos a temperatura ambiente. Se añadían 600 mililitros (ml) de hexano a la muestra tamizada de 40 g de achicoria y se añadían 150 ml a 10g de muestra tamizada. El hexano se evaporaba al vacío a aproximadamente 50°C para formar el extracto A.

El extracto B se preparaba eliminando la grasa de 40 g de polvo de achicoria triturado tal como se ha comentado antes. La muestra sin grasas se hidrolizaba en 300 ml de un ácido, como HCI, en un baño de agua hirviendo durante unos 20 minutos. Tras enfriar y centrifugar (8000 rpm, 5 minutos, 10°C), la solución se extraía con 150 ml de un disolvente, como el acetato de etilo, que se encuentra disponible en el comercio, por ejemplo en MERCK. El disolvente se evaporaba hasta sequedad. Después de un posterior secado sobre sulfato sódico anhidro al vacío y a 50°C, se formaba el extracto B.

30 Los extractos C y D se preparaban del modo siguiente. Primero, se eliminaba la grasa de una muestra de 10 g de polvo de achicoria triturado tal como se ha comentado con anterioridad. La segunda parte del polvo desgrasado se extraía con unos 250 ml de una mezcla de disolvente/agua, en una proporción volumétrica 1:1 de MeOH y agua. La extracción se realizaba agitando a temperatura ambiente (por ejemplo, entre 20 y 25°C) durante unos 30 minutos. Después de la centrifugación, la solución se divide en dos volúmenes iguales. En la primer parte volumétrica de la solución, el disolvente orgánico es evaporado al vacío y aproximadamente 50°C. La fase acuosa restante se liofiliza para formar el extracto C.

La segunda parte volumétrica de la solución se tratará con unos 2g de polivinilpirrolidona, en continua agitación durante 30 minutos para separar los polifenoles. El material adsorbente se elimina por filtración, centrifugación o algún procedimiento similar. El disolvente orgánico es evaporado al vacío a unos 50ºC. La fase acuosa restante se liofiliza para formar el extracto D.

Efectos citotóxicos del extracto de achicoria

Los ensayos experimentales se realizaban para determinar las dosis no citotóxicas de extracto de achicoria utilizando una valoración MTT. Los hepatocitos de rata se trataban con diversas cantidades de extracto de achicoria B, cuya preparación se ha comentado con anterioridad. Los resultados de los ensayos indicaban que la citotoxicidad de los extractos de achicoria era aproximadamente de 200 microgramos/mililitro o más.

50 Análisis por inmunotransferencia

Los extractos de proteína entera de los cultivos celulares tratados durante 48 horas con extractos de achicoria (A-D) se resolvían por SDS-PAGE sobre geles del 10% (análisis de 10 o 25 µg de proteína/banda para glutatión-S transferasa ("GST") y de proteína de choque térmico ("HSP"), respectivamente), utilizando el sistema tampón discontinuo de Laemmli y se transferían electroforéticamente a membranas de nitrocelulosa. Se incubaban los solutos electro transferidos durante 1 hora en una solución de leche seca al 5% en PBS quye contenía un 0,1% de Tween para bloquear los puntos de enlace proteínicos. Los solutos electrotransferidos se incubaban con anticuerpos policlonales de conejo enfrentados a rata GST Ya, Yc, Yb1, Yb2, Yp (BIOT-RIN) y rata GST Yc2 (disponibles en Dr. J. Hayes, universidad de Dundee). El anticuerpo contra la rata GST Yc2 es un anticuerpo policlonal conocido por interaccionar con otras subunidades alfa de rata GST. Ver Hayes J.D. y cols., Biochemical: J, 279, 385-398, 1991; y Cavin C y cols., Carcinogenesis 19, 1369-1375, 1998.

En las inmunotransferencias, se ven claramente dos bandas, de manera que la banda superior y la banda inferior corresponden respectivamente a las subunidades Yc1 e Yc2. Los solutos inmunotransferidos se incubaban también con el anticuerpo policional de rata frente a la hemo-oxigenasa (HO-1) también llamada HSP 32 (gen de estrés, AMS). Los solutos inmunotransferidos se analizaban posteriormente con un anticuerpo secundario conjugado a la

peroxidasa de rábano picante. El complejo se visualizaba indirectamente por quimioluminiscencia usando un estuche de detección de inmunotransferencia ECL (disponible en AMERSHAM LIFE SCIENCE, Inglaterra). Las concentraciones proteínicas se medían usando el método de Bradford que había sido estandarizado usando BSA.

Los resultados de las pruebas indicaban que el extracto de achicoria B que se había preparado con acetato de etilo, aumentaba la expresión de algunas subunidades GSTs (Yc2, Yb1, Yp) en hepatocitos de rata frente a controles y células tratadas con extractos de achicoria A, C y D.

Análisis enzimáticos

10

15

Las actividades de la GST de las fracciones citosólicas se analizaban tal como se describe en Habig W.G y cols, Journal of Biological Chemistry 249, 7130-7139 (1974). La 1-cloro-2,4-dinitrobenceno (CDNB) se utilizaba como un sustrato para medir la actividad general de la GST en los cultivos de rata primarios tratados con distintas cantidades de extractos de achicoria, es decir, extractos A-D, tal como se ha comentado previamente. Las incubaciones se realizaban a 30°C. Además, el ácido etacrínico se utilizaba como un sustrato para medir la actividad enzimática específica de la GST-P en los cultivos de rata tratados con diversas cantidades de extractos de achicoria, es decir extractos A-D tal como se ha comentado con anterioridad.

Los resultados de las pruebas indicaban que el extracto B mostraba un nivel elevado de actividad de GST en hepatocitos de rata en comparación con los controles y extractos A, C y D.

Determinación de glutatión total

El nivel de glutatión total en las células se medía por reciclado enzimático tal como se describe en Gallagher E.P. y cols., In Methods in toxicology Vol. IB, 349-366(1994). El glutatión (GSH) se medía con una valoración cinética que utiliza la reducción continua de de glutatión catalizada por la reductasa del reactivo sulfhidrilo 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB; reactivo de Ellman) al producto cromofórico ácido 2-nitro-5-tiobenzoico. La detección del cromóforo es controlada por vía espectrofotométrica a 412 nm.

Los hepatocitos de cultivos primarios de rata se trataban durante 48 horas con diversas concentraciones (50, 100 y 200 μg/ml) de extracto de achicoria A (hexano), extracto de achicoria B (acetato de etilo) y extracto de achicoria C (MetOH/H₂O). Las células se lavaban y volvían a suspender en 125 microlitros de 5-SSA 20 mM. El GSH celular se liberaba luego por sonificación y las muestras se centrifugaban a 10000g durante dos minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante que contiene GSH libre se utilizaba luego para la determinación de glutatión total. La muestra o bien el GSH estándar se mezclaba con 700 μl de fosfato sódico 125 mM que contenía EDTA 6,3 mM (pH 7,5), 100 μl de DTNB 6 mM y 20 μl de NADPH 20 mM. Tras la equilibración de las cubetas a 25°C, se añaden 10 μl de GSSG reductasa (50 U/ml) para medir la formación de ácido 2-nitro-5-tiobenzoico a 412 nm. Una muestra en blanco a la que le falta el GSH se trata por separado y la formación resultante del producto se resta del valor de muestra antes de la cuantificación del GSH.

40

Los resultados de la prueba indicaban que el extracto de chicoria B daba lugar a unos niveles de GSH celulares elevados en hepatocitos de rata en comparación con los controles y los extractos de chicoria A y C. Además, los resultados de la prueba indicaban que los niveles celulares de GSH aumentaban a medida que aumentaban las cantidades de extracto de chicoria B.

45

50

55

60

Efecto del tratamiento alimenticio

Se preparaban muestras de ensayo para evaluar los efectos del tratamiento alimenticio en las propiedades de detoxificación del constituyente del material vegetal del producto alimenticio resultante. El ensayo se realizaba en comida para animales que contenía aproximadamente un 30% en peso de achicoria siguiendo una configuración de la presente invención. El alimento para animales se procesaba luego por extracción con acetato de etilo de acuerdo con una configuración de la presente invención. El extracto resultante se añadía a los cultivos de hepatocitos en rata en cantidades diversas, es decir, 100 μg/ml, 200 μg/ml y 400 μg/ml. Luego se realizaba el análisis de inmunotransferencia para determinar los efectos del extracto de achicoria en la actividad de la GST de los cultivos de hepatocitos.

Los resultados del ensayo indicaban que el procedimiento de tratamiento alimenticio no reducía y de hecho no incrementaba las propiedades de detoxificación del material vegetal, es decir la achicoria. A este respecto, se medía un nivel elevado de actividad de la GST en lo que se refiere a las diversas cantidades de extracto de achicoria añadidas a los cultivos. Además el nivel de la actividad de GST aumentaba a medida que aumentaban las cantidades de extracto de achicoria.

REIVINDICACIONES

1. Una cantidad eficaz desde el punto de vista biológico de un extracto de achicoria que se utiliza para reducir un riesgo de cáncer en un mamífero, de manera que

5

10

25

30

35

50

- (i) el extracto de achicoria se extrae por hidrólisis ácida y la extracción del disolvente se realiza con acetato de etilo
- (ii) el extracto de achicoria incluye un agente fitoquímico que induce la actividad de la glutatión-S-transferasa en el mamífero.
- 2. El extracto de achicoria para el uso conforme a la reivindicación 1, de forma que el extracto de achicoria es extraído de la raíz de achicoria, la pulpa de achicoria y combinaciones de las mismas.
- El extracto de achicoria para el uso conforme a la reivindicación 1, de forma que el agente fitoguímico se elige 15 del grupo compuesto por un antioxidante, categuinas y combinaciones de los mismos.
 - El extracto de achicoria para el uso conforme a la reivindicación 1, de forma que la actividad de la glutatión-Stransferasa es capaz de potenciar la detoxificación en el tejido de los mamíferos.
- 20 El extracto de achicoria para el uso conforme a la reivindicación 1, de forma que la actividad de la glutatión-Stransferasa es capaz de estimular una protección antioxidante en el tejido de los mamíferos.
 - El extracto de achicoria para el uso conforme a la reivindicación 1, de forma que el extracto de achicoria se formula en una composición nutricional elegida del grupo compuesto por un suplemento nutricional, un producto alimenticio completo desde el punto de vista nutricional, un preparado alimenticio, un producto a base de cereales y un alimento para animales.
 - 7. El extracto de achicoria para el uso conforme a la reivindicación 6, de forma que el alimento para animales comprende una matriz de almidón.
 - Un producto alimenticio para animales que se utiliza en la reducción de un riesgo de cáncer en un mamífero, que comprende un extracto de achicoria extraído de la achicoria por hidrólisis ácida y la extracción del disolvente con acetato de etilo, de manera que el extracto de achicoria incluye un agente fotoguímico que induce la actividad de la glutatión-S-transferasa en el mamífero.
 - 9. El producto alimenticio para animales para el uso conforme a la reivindicación 8, de forma que el producto comprende una cantidad de al menos un 0.5% del extracto de achicoria sobre una base de peso seco.
- 10. El producto alimenticio para animales para el uso conforme a la reivindicación 8, de forma que el agente 40 fitoquímico se elige del grupo formado por un antioxidante, catequinas y combinaciones de los mismos.
 - 11. Un método para preparar un producto alimenticio nutricional capaz de reducir un riesgo de cáncer en un mamífero, de forma que el proceso comprende las etapas de:
- 45 Tratamiento de la achicoria por hidrólisis ácida y extracción del disolvente con acetato de etilo para formar un extracto de achicoria que incluye un agente fotoquímico capaz de inducir la actividad de la glutatión-Stransferasa en el mamífero; y
 - Tratamiento del extracto y uno o más ingredientes alimenticios para formar el producto alimenticio nutricional que incluirá al menos un 0,05% en peso del extracto.
 - 12. El método de la reivindicación 11, donde se elimina la grasa del extracto de achicoria para formar un primer extracto vegetal y posteriormente se trata este primer extracto vegetal con acetato de etilo por hidrólisis ácida para formar el extracto vegetal.
- 55 13. Una cantidad eficaz desde el punto de vista biológico de un extracto de achicoria que se extrae de la achicoria por hidrólisis ácida y extracción de disolvente con acetato de etilo, que contiene un agente fitoquímico que se utiliza para aumentar la detoxificación en el tejido de un mamífero, de manera que el agente fitoquímico induce la actividad de la glutatión-S-transferasa en el mamífero.
- 60 14. El extracto de achicoria para el uso conforme a la reivindicación 13, de forma que la composición nutricional comprende aproximadamente un 0,5% hasta un 2% en peso del extracto.
- 15. Una cantidad eficaz desde el punto de vista biológico de un extracto de achicoria que contiene un agente fitoquímico que se utiliza para estimular una protección antioxidante en el tejido de un mamífero, de manera que 65 el agente fitoguímico induce la actividad de la glutatión-S-transferasa en el mamífero, y de manera que el extracto de achicoria se extrae de la achicoria por hidrólisis ácida y la extracción de disolvente con acetato de

etilo.

5

- **16.** El extracto de achicoria para el uso conforme a la reivindicación 15, de forma que la composición nutricional comprende aproximadamente un 0,5% hasta un 2% en peso del extracto.
- **17.** El extracto de achicoria para el uso conforme a la reivindicación 15, de forma que la actividad elevada de la glutatión-S-transferasa da lugar a un nivel elevado de glutatión.