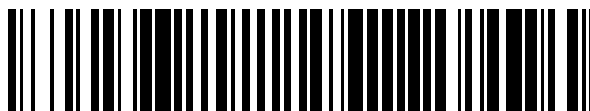


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 401 217**

51 Int. Cl.:

**C07H 3/04** (2006.01)

**C07H 3/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.02.2009 E 09715865 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.01.2013 EP 2257562**

54 Título: **Ingrediente oligosacárido**

30 Prioridad:

**26.02.2008 EP 08101975**

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

**17.04.2013**

73 Titular/es:

**NESTEC S.A. (100.0%)  
Avenue Nestlé 55  
1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:

**BERROCAL, RAFAEL;  
FICHOT, MARIE-CLAIRE y  
SPRENGER, NORBERT**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 401 217 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).

## DESCRIPCION

Ingrediente oligosacárido

5 Sector de la invención

La presente invención, se refiere a un ingrediente oligosacárido, rico en ácido siálico, a productos alimenticios que comprenden el citado oligosacárido, y a procedimientos para producir el citado ingrediente oligosacárido.

10 Antecedentes y trasfondo de la invención

Se conoce el hecho de que, la leche humana, contiene una gran cantidad de oligosacáridos indigeribles. De hecho, los oligosacáridos indigeribles, representan el tercer mayor sólido (después de la lactosa y de los lípidos), en la leche del pecho, la cual acontece a una concentración de 12 – 15 g/l, en el calostro, y a una concentración de 5 – 8 g/l en la leche natural. Los oligosacáridos de la leche natural, son muy resistentes a la hidrólisis enzimática, indicado el hecho de que, estos oligosacáridos, pueden exhibir funciones esenciales, no directamente relativas a su valor calórico.

En las dos últimas décadas, las estructuras químicas de los oligosacáridos de la leche humana, se han venido estudiando mediante la utilización de espectroscopia de NMR y espectroscopia de masas. Cada oligosacárido individual, se basa en una combinación de glucosa, galactosa, ácido siálico (ácido N-acetilneuramínico), fucosa y / o N-acetilglucosamina, con muchos y variados vínculos entre éstos, contando así, de este modo, para el enorme número de oligosacáridos diferentes, en la leche humana, - habiéndose identificado, hasta ahora, más de 130 estructuras.

La gran cantidad de oligosacáridos sialilados en la leche humana, es de un interés particular. El ácido siálico, es un azúcar de nueve C, el cual es vital para el componente estructural y funcional de los gangliósidos del cerebro. Se cree que, éste, juega un rol interpretativo principal en la transmisión de células nerviosas, la formación de la memoria, y la comunicación de célula a célula. Estudios realizados en cachorros de ratas, indican el hecho de que, la suplementación temprana con ácido siálico, mejora ambos, el ácido siálico en los gangliósidos, y la capacidad de aprendizaje en animales bien alimentados y mal alimentados, y que, estos cambios, persisten en la edad adulta.

La leche materna, se recomienda para todas las edades. No obstante, en algunos casos, la alimentación con el pecho, es inadecuada o no exitosa, por razones médicas o porque la madre decide no realizar una alimentación con el pecho. Las fórmulas para bebés, se han desarrollado para dichas situaciones. No obstante, la leche bovina, la cual se utiliza usualmente, como base para fórmulas para bebés comercialmente disponibles en el mercado, tiene un contenido de oligosacáridos sialilados mucho menor que la leche humana. Como estructura para leche humana y las funciones de los componentes individuales de ésta, se entiende mejor, se evidencia el hecho de que sería deseable el mejorar el contenido de ácido siálico en las fórmulas para bebés a base de leche bovina.

Existen algunas fuentes de ácido siálico, las cuales incluyen ácido N-acetilneuramínico libre, sialil-lactosa y otros oligosacáridos sialilados, gangliósidos que contienen ácido siálico, y el péptido caseinoglicomacropéptido. El caseinoglicomacropéptido ó CGMP, es un péptido hidrofílico, ampliamente rico en hidratos de carbono, el cual es la porción C-terminal, de la  $\kappa$ -caseína, a partir de la cual puede escindirse, mediante tratamiento enzimático o ácido. En la solicitud de patente estadounidense nº 2005 / 0 096 295, se propone el incrementar el contenido de ácido siálico de la fórmula para bebés, incluyendo un nuevo ingrediente de CGMP, el cual tiene una concentración incrementada de ácido siálico. Este ingrediente, tiene un contenido de ácido siálico, de más de 60 mg/g de péptido, comparado con los 40 a 60 mg/g de péptido, en el CGMP de origen natural. Éste puede producirse, o bien ya sea mediante fraccionamiento, utilizando cromatografía de aniones, o bien mediante hidrólisis parcial, seguido de fraccionamiento, mediante la utilización de cromatografía de aniones.

No obstante, continúa existiendo una necesidad en cuanto al hecho de proporcionar otros ingredientes ricos en ácido siálico, y los cuales puedan utilizarse para enriquecer fórmulas para bebés, y otras composiciones nutricionales, en este importante componente.

55 Resumen de la invención

La presente invención, proporciona un ingrediente oligosacárido, el cual comprende aminoácidos glicosilados y péptidos de la fórmula general  $R_n\text{Sac}_m$ , en donde, R, es un residuo aminoácido, Sac, es un monosacárido, seleccionado de entre el grupo que comprende el ácido N-acetilneuramínico, la N-acetilgalactosamina, y la galactosa, n, tiene un valor comprendido entre 1 y 10, con la condición de que, si n tiene el valor de 1, R, es un residuo de treonina o un residuo de serina, y si n tiene un valor comprendido entre 2 y 10, el péptido contiene por lo menos un residuo de treonina o de serina, m, tiene un valor comprendido entre 2 y 4, y por lo menos un porcentaje del 20% molar del ingrediente, es el ácido N-acetil-neuramínico.

Este ingrediente, es un nuevo ingrediente de grado alimenticio, rico en ácido siálico, el cual es apropiado para su adición a composiciones nutritivas, tales como las consistentes en fórmula para bebés, para incrementar el contenido de ácido siálico de la composición.

5 La invención, se extiende, adicionalmente, a un procedimiento para producir un ingrediente oligosacárido que comprende aminoácidos glicosilados y péptidos de la fórmula general  $R_nSac_m$ , en donde, R, es un residuo de aminoácido, Sac, es un monosacárido, seleccionado de entre el grupo que comprende el ácido N-acetilneuramínico, la N-acetilgalactosamina, y la galactosa, n, tiene un valor comprendido entre 1 y 10, con la condición de que, si n tiene el valor de 1, R, es un residuo de treonina o un residuo de serina, y si n tiene un valor comprendido entre 2 y 10, el péptido contiene por lo menos un residuo de treonina o de serina, m, tiene un valor comprendido entre 2 y 4, y por lo menos un porcentaje del 20% molar del ingrediente, es el ácido N-acetil-neuramínico, el cual comprende las etapas de hidrolizar el caseinoglicomacropéptido con una exoproteasa y una endoproteasa, para obtener una mezcla de aminoácidos libres y péptidos, con una longitud de cadena entre 2 y 10, y sometiendo la mezcla hidrolizada a nanofiltración, de tal forma que se retenga la fracción que tiene un peso molecular comprendido entre 1000 y 2000 Dalton.

La invención, se extiende, también, a un producto alimenticio, el cual comprende un ingrediente oligosacárido, de la forma que se ha descrito anteriormente, arriba. De una forma opcional, el producto alimenticio es un alimento o fórmula alimenticia, para bebés, pero, el producto, puede ser cualquier producto alimenticio o bebida alimenticia, susceptible de poder consumirse por parte de los bebés. El consumo de un producto alimenticio que contenga tal tipo de ingrediente oligosacárido, puede incrementar la incorporación del ácido siálico al interior de los gangliosidos del cerebro, y mejorar así, de este modo, las funciones neurológicas tales como la neurotransmisión.

Descripción detallada de la invención

25 En la presente especificación, se proporcionan las definiciones de las palabras que facilitan a continuación, las cuales deben tomarse en consideración, cuando se lea y se interprete la especificación, los ejemplos, y las reivindicaciones.

“CGMP”: caseino-glicomacropéptido, a saber, el gicomacropéptido que se escinde de la  $\kappa$ -caseína, mediante la acción de la enzima renina.

“Fórmula para niños pequeños lactantes”: producto alimenticio previsto para la nutrición completa niños pequeños lactantes, durante un período de tiempo que va desde la primera hora hasta los seis meses de edad, y para su nutrición parcial, posteriormente. El término, incluye a ambas, las fórmulas de inicio, y las fórmulas de seguimiento.

“Ácido siálico”: ácido N-acetilneuramínico.

35 La invención, proporciona un ingrediente oligosacárido, el cual comprende aminoácidos glicosilados y péptidos de la fórmula general  $R_nSac_m$ , en donde, R, es un residuo aminoácido, Sac, es un monosacárido, seleccionado de entre el grupo que comprende el ácido N-acetilneuramínico, la N-acetilgalactosamina, y la galactosa, n, tiene un valor comprendido entre 1 y 10, con la condición de que, si n tiene el valor de 1, R, es un residuo de treonina o un residuo de serina, y si n tiene un valor comprendido entre 2 y 10, el péptido contiene por lo menos un residuo de treonina o de serina, m, tiene un valor comprendido entre 2 y 4, y por lo menos un porcentaje del 20% molar del ingrediente, es el ácido N-acetil-neuramínico, así como productos para niños pequeños lactantes o para adultos, que comprenden tal tipo de ingrediente oligosacárido.

45 De una forma preferible, n, tiene un valor comprendido entre 1 3, y m, tiene un valor de 3 ó 4.

El ingrediente, contiene un porcentaje de por lo menos un 20% molar de ácido siálico, como parte de una cadena de sacárido, unido al grupo hidroxilo de treonina o serina. El ácido siálico, puede formar parte de la cadena, o puede, en sí mismo, ser un sustituyente de una unidad de monosacárido en la cadena. Así, de este modo, el ingrediente oligosacárido, puede contener los siguientes monosacáridos:

Compuesto	% molar
N-acetilgalactosamina (GalNAc)	15 - 25
Galactosa (Gal)	15 - 25
Ácido N-acetil-neuramínico (NeuAc)	50 - 20

El ingrediente oligosacárido, puede contener un porcentaje del 15 al 25% molar, de una mezcla de serina y de

treonina.

El ingrediente oligosacárido, puede contener los siguientes aminoácidos glicosilados o péptidos:

NeuAc- $\alpha$ -2,3-Gal- $\beta$ -1,3-(NeuAc- $\alpha$ -2,6-)-GalNAc-R<sub>n</sub>

5 NeuAc- $\alpha$ -2,3-Gal- $\beta$ -1,3-GalNAc-R<sub>n</sub>

Gal- $\beta$ -1,3-(NeuAc- $\alpha$ -2,6-)-GalNAc-R<sub>n</sub>

Gal- $\beta$ -1,3-GalNAc-R<sub>n</sub>

10 El ingrediente oligosacárido de la invención, puede producirse mediante la hidrólisis del CGMP, utilizando una exoproteasa y una endoproteasa, para obtener una mezcla de aminoácidos libres y péptidos, con una longitud de cadena comprendida entre 2 y 10, y sometiendo la mezcla hidrolizada, a nanofiltración, para retener la fracción que tiene un peso molecular correspondiente a un valor comprendido entre 1000 y 2000 Dalton.

15 El CGMP en sí mismo, es un subproducto de la fabricación del queso, en el cual, la leche entera, se trata con la enzima renina, para precipitar la caseína. En este proceso, el CGMP, se escinde de la  $\kappa$ -caseína, y permanece en solución, con las proteínas de suero lácteo. Este producto, se conoce como suero lácteo dulce. El CGMP, puede separarse de las proteínas de suero lácteo, mediante cualquier procedimiento conocido en el arte de la técnica especializado. Un procedimiento apropiado, es el que se describe en el documento de patente europea EP nº 98 312.

20 La hidrólisis, puede llevarse a cabo mediante la utilización de cualquier combinación de enzimas apropiada. Un ejemplo de un sistema de enzimas comercialmente disponible en el mercado, con actividad exoproteasa y endoproteasa, es el producto comercializado con el nombre de Flavourzyme®, de procedencia de la división Novozymes de la firma Nordisk.

25 El producto del proceso de hidrólisis, es una mezcla de aminoácidos libres, treonina y treonina glicosiladas, péptidos glicosilados que contienen por lo menos un residuo de treonina o serina, y péptidos no glicosilados, teniendo, los péptidos, una cadena de 2 a 10 residuos aminoácidos. Esta mezcla, se somete a nanofiltración, para separar y retener la fracción que tiene un peso molecular comprendido dentro de unos márgenes que van desde 1000 hasta 30 2000 Dalton. Esta fracción, comprenderá el ingrediente oligosacárido de la invención.

35 En un aspecto preferido de la presente invención, el ingrediente oligosacárido descrito anteriormente, arriba, se incorpora en un producto alimenticio. En el contexto de la presente invención, el término "producto alimenticio", pretende abarcar a cualquier materia consumible. Así, de este modo, éste puede ser un producto pretendido para el consumo, por parte de humanos, de una forma particular, una fórmula para bebés, una fórmula de seguimiento, una fórmula para niños pequeños lactantes, tales como una fórmula para bebés, a base de cereales, y por el estilo. De una forma particular, el ingrediente oligosacárido, de la invención, puede incorporarse en fórmulas para bebés, leches para el crecimiento, y leches deshidratadas o mezclas de cereales.

40 El producto alimenticio, puede prepararse de cualquier forma apropiada, que sea conocida en el arte especializado de la técnica, en concordancia con el tipo de producto y, el ingrediente oligosacárido de la invención, puede añadirse al producto, en una etapa apropiada, en el proceso de fabricación. Así, por ejemplo, una fórmula para bebés, puede prepararse procediendo a mezclar, conjuntamente, la fuente de proteínas, cualesquiera hidratos de carbono, distintos de la lactosa, y la fuente de grasa, en una proporciones apropiadas. En el caso en el que así se desee, 45 pueden añadirse emulsionantes. Las vitaminas y minerales, pueden añadirse en este punto, pero, éstas, se añaden, usualmente, posteriormente, con objeto de evitar una degradación térmica. Cualesquiera vitaminas lipofílicas, emulsionantes y por el estilo, pueden disolverse en la fuente de grasa, previamente al mezclado. A continuación, puede añadirse agua, mezclándola, de una forma preferible, agua que se haya sometido a osmosis inversa, con objeto de formar una mezcla líquida.

50 La mezcla líquida, puede entonces tratarse térmicamente, con objeto de reducir las cargas bacterianas. Así, por ejemplo, la mezcla líquida, puede calentarse rápidamente, a una temperatura correspondiente a un valor comprendido dentro de unos márgenes que van desde los aproximadamente 80°C hasta los aproximadamente 110°C, durante un transcurso de tiempo que va desde los 5 segundos hasta los 5 minutos. Esto puede llevarse a 55 cabo, mediante inyección de vapor, o mediante intercambiador de calor, como por ejemplo, un intercambiador de calor de placas.

60 La mezcla líquida, puede entonces enfriarse, a una temperatura correspondiente a una valor comprendido dentro de unos márgenes que van desde los aproximadamente 60°C hasta los aproximadamente 85°C, como por ejemplo, mediante enfriamiento flash (de evaporación instantánea). A continuación, puede procederse a homogeneizar la mezcla líquida, por ejemplo, en dos etapas, a una presión correspondiente a un valor comprendido dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente 7 MPas hasta aproximadamente 40 MPa, en la primera etapa, y a una presión correspondiente a un valor comprendido dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente 2 MPa hasta aproximadamente 14 MPa, en la segunda etapa. A continuación, la mezcla homogeneizada, puede enfriarse

adicionalmente, para añadir cualesquiera componentes sensibles al calor, tales como vitaminas y minerales. El valor pH y el contenido de sólidos de la mezcla homogeneizada, se estandariza, de una forma conveniente, en este punto.

5 La mezcla homogeneizada, se transfiere a un aparato de secado apropiado, tal como el consistente en un secador por proyección pulverizada (spray) o de secado mediante congelación (liofilización), y ésta se convierte en una materia en polvo. La materia en polvo, tiene un contenido de humedad correspondiente a un porcentaje inferior a un 5%, en peso.

10 El ingrediente oligosacárido de la invención, puede añadirse directamente a la fórmula para bebés, mediante mezclado en seco o, en el caso en que se trate de un líquido, en la etapa de batido o mezclado (en húmedo) que se ha discutido anteriormente, arriba. En ambos casos, se apreciará el hecho de que, la adición de los ingredientes, acarrea la adición simultánea de una cantidad de amino-nitrógeno, y puede por lo tanto ser necesario, el ajustar el contenido de proteínas de la fórmula para bebés, u otro producto, al cual se le está añadiendo el ingrediente, de una forma correspondientemente en concordancia, tal y como resultará evidente, para una persona experta en el arte especializado de la técnica. El contenido de proteína permisible y el perfil de los aminoácidos, de las fórmulas para bebés, se encuentran especificados en la legislación, tal como la legislación de Directriz de la Comisión Europea 91/321/EEC, de fecha 14 de Mayo de 1991 y, las personas expertas en el arte especializado de la técnica, estarán fácilmente capacitados para ajustar el contenido de proteínas del perfil de aminoácidos de la fórmula para bebés, para tener en cuanta de amino-nitrógeno adicional introducido mediante el ingrediente de la invención, así como el contenido de treonina y serina adicional.

25 La concentración final del ingrediente oligosacárido, en producto alimenticio o fórmula alimenticia para bebés o para niños pequeños lactantes, puede ser la correspondiente a un porcentaje comprendido dentro de unos márgenes que van desde un 0,2% hasta un 4,0%, en peso, de una forma preferible, de un 0,5 a un 2,0%, en peso, de materia seca. No obstante, estas cantidades, no deberían considerarse como siendo limitativas, y deben adaptarse a población diana, como por ejemplo, en base al peso o a la edad, o la salud del bebé o niño pequeño. De una forma preferible, la fórmula alimenticia o producto alimenticio que contiene el ingrediente oligosacárido de la inyección, proporciona, al bebé, en cada alimentación.

30 Si bien es preferible el proceder a suplementar los productos alimenticios específicamente objetivizados como diana, para una nutrición de niños pequeños lactantes o de bebés, podría ser beneficioso el proceder a suplementar productos alimenticios no específicamente objetivizados como diana, u objetivizados como diana, para la población adulta. Así, por ejemplo, el ingrediente oligosacárido de la invención, puede incorporarse a productos de nutrición para el cuidado de la salud, y productos nutricionales, para personas de avanzada edad. Tales tipos productos, pueden incluir leche, yogurt, cuajada, queso, leches fermentadas, productos fermentados a base de leche, helados (cremas heladas), productos a base de cereales fermentados, o productos de base de leche, entre otros.

40 Adicionalmente al ingrediente oligosacárido de la invención, un producto alimenticio tal como un producto para niños pequeños lactantes, puede comprender uno o más oligosacáridos, los cuales pueden añadirse por separado.

La invención, se ilustrará, ahora, mediante referencia al ejemplo que sigue a continuación.

Ejemplo 1

45 Un ejemplo de la composición de una fórmula para niños pequeños lactantes, la cual contiene un ingrediente oligosacárido en concordancia con la presente invención, es el que se facilita abajo, a continuación.

Nutriente	por 100 kcal	por litro
Energía (kcal)	100	670
Proteína (g)	183	12,3
Grasa (g)	5,3	35,7
Ácido linoléico (g)	0,79	5,3

## ES 2 401 217 T3

(Continuación tabla)

Ácido $\alpha$ -linoléico (mg)	101	675
Lactosa (g)	11,2	74,7
Ingrediente OS (g)	0,15	1,0
Minerales (g)	0,37	2,5
Na (mg)	23	150
K (mg)	89	590
Cl (mg)	64	430
Ca (mg)	62	410
P (mg)	31	210
Mg (mg)	7	50
Mn ( $\mu$ g)	8	50
Se ( $\mu$ g)	2	13
Vitamina A ( $\mu$ g RE)	105	700
Vitamina D ( $\mu$ g)	1,5	10
Vitamina E (Mg Te)	0,8	5,4
Vitamina K1 ( $\mu$ g)	8	54
Vitamina C (mg)	10	67
Vitamina B1 (mg)	0,07	0,47
Vitamina B2 (mg)	0,15	1,0
Niacina (mg)	1	6,7

(Continuación tabla)

Vitamina B6 (mg)	0,075	0,50
Ácido fólico (µg)	9	60
Ácido pantoténico (mg)	0,45	3
Ácido fólico (µg)	0,3	2
Biotina (µg)	2,2	15
Colina (mg)	10	67
Fe (mg)	1,2	8
I (µg)	15	100
Cu (mg)	0,06	0,4
Zn (mg)	0,75	5

5 Ejemplo 2

Se procedió a disolver 50 g de caseinoglicomacropéptido (Biopure GMP, Davico, USA) a una concentración del 10% (peso/volumen), en 500 ml de agua desionizada. La solución, se calentó a una temperatura de 40°C, durante un transcurso de tiempo de 30 minutos, al mismo tiempo que se procedía a agitar suavemente, y a hacerla recircular a través de un sistema de filtrado tangencial a escala de laboratorio (Millipore, USA9, con una cassette de filtro del tipo "Pellicon 1000 Da filter cassette (0,1 m<sup>2</sup>), a una presión de alimentación de 1,2 bar, y sin presión de retención.

A continuación, se procedió a añadir una aminopeptidasa procedente de *Aspergillus oryzae* (Flavourzyme 1000L, con un contenido de 1000 unidades de aminopeptidasa por gramo (LAPU/g) Novozymes, DK), a razón de 3500 LAPU por 50 g de proteína. Después de un transcurso de tiempo de aproximadamente 1 hora, se procedió a iniciar la diafiltración, procediendo a incrementar la presión del retenido, a una presión de 3 bar, con una presión de alimentación de 3 bar. Después de un transcurso de tiempo de 5 horas, se procedió a parar la filtración, y se recolectó el retenido. El retenido y las 7 fracciones de permeado, que se recolectaron durante el proceso, se liofilizaron. A continuación de ello, se procedió a determinar el contenido de materia seca (DM – del inglés, dry matter -), y de ácido siálico de cada fracción. El contenido de ácido siálico, se midió después de una suave hidrólisis ácida y etiquetado o marcaje, mediante la utilización del procedimiento del DMB (1,2-diamino-4,5-metilendioxi-benceno), y análisis en una HPLC, equipada con una columna de fase inversa del tipo Shodex C18, y un detector de fluorescencia, utilizando NeuAc auténtico, como patrones estándar externos. La tabla 1, muestra el equilibrio de masas y el contenido de ácido siálico en el material de partida, las fracciones de permeado, y el retenido.

25

Tabla 1

	Masa (g)	NeuAC (% de DM)	Rendimiento (%)	produc-tivo	Enriquecimiento
Material de partida	50	7,5	100		1,00
Permeado 1	4,32	0,2	8,64		0,03
Permeado 2	3,1	0,2	6,2		0,02
Permeado 3	6,1	0,3	12,2		0,04
Permeado 4	4,29	1,4	8,58		0,18
Permeado 5	3,56	0,8	7,12		0,10
Permeado 6	2,8	0,4	5,6		0,05
Permeado 7	2,94	0,3	5,88		0,04
Retenido	22,6	14,4	45,2		1,92

5 Se procedió a determinar al contenido de N-acetil-galactosmina en el retenido, después de la hidrólisis ácida, utilizando una HPAEC equipada con una columna analítica del tipo "Dionex CarboPac PA1 analytical column", y un detector de amperometría pulsado. En resumen, el retenido, se disolvió en agua y se añadió ácido tri-fluoroacético, hasta una concentración final de 2 M. La solución, se calentó, durante un transcurso de tiempo de 3 horas, a una temperatura de 100°C, se calentó bajo una corriente de nitrógeno, y se redisolvió en agua. La cuantificación, se realizó con galactosa y galactosamina auténticas (la N-acetilgalactosamina, se convierte en galactosamina, durante el tratamiento con ácido), como patrones estándar externos.

15 El retenido final secado, contenía un porcentaje del 24,4%, en peso de (NeuAC)<sub>2</sub>-Gal-GalNac-Th, con la estructura probable consistente en NeuAc- $\alpha$ -2,3-Gal- $\beta$ -1,3-(Neu-Ac- $\alpha$ -2,6)-GalNac-treonina/péptido, con un porcentaje del 43% molar de ácido siálico, un porcentaje del 20,5% molar de galactosa, un porcentaje del 18,4% molar de N-acetilgalactosamina, y un porcentaje del 18% molar de treonina.



**REIVINDICACIONES**

- 5 1.- Un ingrediente oligosacárido, el cual comprende aminoácidos glicosilados y péptidos de la fórmula general  $R_n\text{Sac}_m$ , en donde, R, es un residuo aminoácido, Sac, es un monosacárido, seleccionado de entre el grupo que comprende el ácido N-acetil-neuramínico, la N-acetilgalactosamina, y la galactosa, n, tiene un valor comprendido entre 1 y 10, con la condición de que, si n tiene el valor de 1, R, es un residuo de treonina o un residuo de serina, y si n tiene un valor comprendido entre 2 y 10, el péptido contiene por lo menos un residuo de treonina o de serina, m, tiene un valor comprendido entre 2 y 4, y en donde, el citado ingrediente oligosacárido, comprende un porcentaje que va de un 15 a un 25% molar de N-acetilgalactosamina, un porcentaje que va de un 15 a un 25% molar de galactosa, un porcentaje que va de un 20 a un 50% molar de ácido N-acetilneuramínico, y un porcentaje que va de un 15 a un 25% molar de treonina o serina, o de una mezcla de éstas.
- 10
- 2.- Un ingrediente oligosacárido, según se reivindica en la reivindicación 1, en donde, n, tiene un valor comprendido entre 1 y 3.
- 15
- 3.- Un ingrediente oligosacárido, según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde, m, tiene un valor de 2 ó 3.
- 20
- 4.- Un producto alimenticio, el cual comprende un ingrediente oligosacárido, según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
- 5.- Un producto alimenticio, según se reivindica en la reivindicación 4, el cual es una fórmula para niños pequeños lactantes.
- 25
- 6.- Un producto alimenticio, según se reivindica en la reivindicación 5, el cual comprende un porcentaje que va del 0,2 al 4,0%, en peso, del ingrediente oligosacárido.
- 30
- 7.- Un procedimiento para producir un ingrediente oligosacárido, según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, el cual comprende las etapas de hidrolizar el caseinoglicomacropéptido con una exoproteasa y una endoproteasa, para obtener una mezcla de aminoácidos libres y péptidos, con una longitud de cadena entre 2 y 10, y sometiendo la mezcla hidrolizada a nanofiltración, de tal forma que se retenga la fracción que tiene un peso molecular comprendido entre 1000 y 2000 Dalton.