

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 484 798**

51 Int. Cl.:

**A23L 1/30** (2006.01)

**A23L 1/308** (2006.01)

**A23L 1/29** (2006.01)

**A61K 31/202** (2006.01)

**A61K 31/20** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.04.2006 E 06733074 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.05.2014 EP 1874138**

54 Título: **Alimentación con lípidos y sacáridos no digeribles**

30 Prioridad:

**27.04.2005 EP 05103432**

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

**12.08.2014**

73 Titular/es:

**N.V. NUTRICIA (100.0%)  
Eerste Stationsstraat 186  
2712 HM Zoetermeer , NL**

72 Inventor/es:

**SPEELMANS, GELSKE;  
ALLES, MARTINE, SANDRA y  
KNOL, JAN**

74 Agente/Representante:

**TOMAS GIL, Tesifonte Enrique**

**ES 2 484 798 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**

Alimentación con lípidos y sacáridos no digeribles

5 **CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION**

[0001] La presente invención se refiere a una composición nutricional líquida que mejora la función de barrera intestinal que consta de lípidos con cadenas de acilo graso de cadena corta y sacáridos fermentables no digeribles.

10 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

[0002] La barrera intestinal envuelve el tracto gastrointestinal y separa la parte luminal externa del cuerpo de la parte sistémica interna del mismo. Protege al cuerpo frente a la intrusión de agentes agresores luminales tales como antígenos, toxinas y patógenos. La barrera intestinal consta del epitelio intestinal, una monocapa continua de células epiteliales columnares, enterocitos sellados juntos por complejos proteínicos tales como uniones ocluyentes. Se encuentra una tenue función de barrera intestinal en bebés, donde el intestino no ha madurado aún suficientemente. La barrera intestinal se ve también afectada en el caso de personas que sufren desnutrición, pacientes en ayunas debido a cirugías y pacientes en cuidados intensivos.

20 [0003] Los ácidos grasos de cadena corta estimulan el desarrollo de la barrera intestinal y el mantenimiento íntegro de la misma, sirviendo como una fuente de energía para los enterocitos, estimulando la diferenciación de los enterocitos e incrementando la producción de mucosa.

25 [0004] Por lo tanto, existe una necesidad continua de una composición nutricional que proporcione suficientes ácidos grasos de cadena corta a lo largo del tracto gastrointestinal. Tales composiciones pueden ser usadas ventajosamente por bebés y pacientes con el intestino dañado.

30 [0005] WO 02/039978 describe un suplemento para ser administrado por vía enteral para el mantenimiento o la restauración de la barrera intestinal de enfermos graves, enfermos crónicos o personas que sufren malnutrición. Dicho suplemento se presenta en forma de solución y contiene a) entre 15 y 70 g de glutamina y/o precursores de glutamina, b) al menos dos representantes del grupo de sustancias que actúan como antioxidantes, y c) ácidos grasos de cadena corta y/o precursores de ácidos grasos de cadena corta en una cantidad de 0,5 a 10 g.

35 [0006] WO 2004/112509 describe una composición para la inducción de un modelo de desarrollo de la barrera intestinal similar al observado en la lactancia y capaz de mejorar el desarrollo de la barrera intestinal, por ejemplo durante el estrés neonatal, particularmente una fórmula infantil que contiene una combinación de ingredientes específicos diseñada para proporcionar un efecto sinérgico a lo largo del tracto gastrointestinal en función de barrera.

40 **RESUMEN DE LA INVENCION**

45 [0007] Los productos nutricionales actualmente disponibles no proporcionan la cantidad suficiente de ácidos grasos de cadena corta a lo largo del tracto gastrointestinal. Particularmente, la ingestión de composiciones nutricionales produce normalmente altas concentraciones locales de ácidos grasos de cadena corta, mientras que se han encontrado bajas concentraciones de ácidos grasos de cadena corta en otras partes del tracto gastrointestinal. Los presentes inventores han reconocido las deficiencias de las fórmulas nutricionales actuales.

[0008] La invención se describe mejor en la reivindicación 1.

50 [0009] La presente composición asegura una disponibilidad suficiente de ácidos grasos de cadena corta en el estómago, duodeno, yeyuno, íleon y parte proximal y distal del colon, esto es, a lo largo del tracto gastrointestinal al completo.

55 [0010] Tras la ingestión por parte de un animal monogástrico (p. ej. un humano), las cadenas de acilo graso de cadena corta son liberadas a partir de los lípidos presentes por lipasas en el estómago, duodeno, yeyuno e íleon proximal. Con la liberación de estas cadenas de acilo graso de cadena corta, se proporcionan ácidos grasos de cadena corta en la parte superior del tracto gastrointestinal. No obstante, estos ácidos grasos son absorbidos, por ejemplo, por los enterocitos que revisten el tracto intestinal y que por lo tanto no se encuentran disponibles en las partes inferiores del tracto gastrointestinal. La fermentación del sacárido no digerible y en particular la fermentación de una combinación de dos oligosacáridos no digeribles diferentes causa la producción de ácidos grasos de cadena corta a lo largo del íleon distal y en las partes distal y proximal del colon.

60 [0011] Por lo tanto, la presente composición proporciona los efectos beneficiosos de los ácidos grasos de cadena corta, particularmente con la mejora de la función de barrera intestinal, limitando el crecimiento de patógenos

gastrointestinales, y/o regulando las contracciones musculares intestinales a lo largo del tracto gastrointestinal al completo.

[0012] La presente composición resultó ser particularmente útil en humanos con una función de barrera gastrointestinal dañada o en desarrollo (p. ej. pacientes hospitalizados y niños de entre uno y dos años aproximadamente). En un aspecto, la presente composición es por lo tanto proporcionada como una composición nutricional adecuada para dichos sujetos. Cuando se proporciona como composición nutricional, la fracción de grasa en la misma contiene además preferiblemente cadenas de acilo graso, fundamental en un buen producto nutricional, es decir ácido  $\alpha$ -linoleico (ALA) y ácido linoleico (LA)

[0013] También se encontró que la presente composición puede además mejorarse mediante la combinación de lípidos con cadenas de acilo graso de cadena corta, sacáridos no digeribles y ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA), preferiblemente proporcionados mediante aceite vegetal. Los PUFA estimulan la formación de uniones ocluyentes y con ello refuerzan la superficie del epitelio que se encuentra regenerándose y desarrollándose como resultado de la presente composición de lípido y sacárido. Por lo tanto, la adición de LC-PUFA estimula sinérgicamente el refuerzo de la barrera.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0014] La presente invención incluye la reivindicación 1 y el uso de la misma en un método de nutrición para bebés.

[0015] Otra característica de la presente invención proporciona un método para la prevención y/o tratamiento en humanos de alergias, hipersensibilidad alimentaria, dermatitis atópica, asma, eczema, infecciones gastrointestinales, diarrea, inflamación intestinal, calambres intestinales, cólicos, estreñimiento, translocación bacteriana, bacteriemia y/o sepsis, constando dicho método de la administración de la presente composición en el sujeto humano.

#### Ácidos grasos de cadena corta y cadenas de acilo graso de cadena corta.

[0016] El término "ácidos grasos de cadena corta" tal y como se usa en la presente invención se refiere a los ácidos carboxílicos alifáticos con una cadena de hidrocarburos de uno a seis átomos de carbono. El término "cadena de acilo graso de cadena corta" del modo en el que es usado en la presente invención se refiere a un ácido graso de cadena corta unido por un enlace de tipo éster. En una forma de realización preferida el ácido graso de cadena corta son ácidos grasos no ramificados con dos (ácido acético o ácido etanoico), tres (ácido propiónico o ácido n-propanoico), cuatro (ácido butírico o ácido n-butanoico), cinco (ácido valérico o ácido n-pentanoico) o seis (ácido caproico o ácido n-hexanoico) átomos de carbono.

#### Lípidos que constan de cadenas cortas de acilo ácido graso

[0017] Preferiblemente, la presente composición consta de lípidos que comprenden una o varias cadenas de acilo graso de cadena corta con dos a seis átomos de carbono. En una forma de realización preferida, las cadenas de acilo graso de cadena corta de la forma en la que son usadas en la presente composición son no ramificadas, preferiblemente son no ramificadas e incluso numeradas. La forma más preferible de la presente composición comprende las cadenas de acilo graso de cadena corta constando de dos (ácido acético), cuatro (ácido butírico) y/o seis (ácido caproico) átomos de carbono. Cuando se hace referencia a una cantidad cuantitativa de las cadenas de acilo graso de cadena corta, esta se refiere a la cantidad de todos los ácidos grasos de cadena corta de enlace tipo éster con una longitud de cadena de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 átomos de carbono, preferiblemente a la cantidad de ácidos grasos de cadena corta de enlace tipo éster con una longitud de cadena de 2, 4 y 6 átomos de carbono.

[0018] Los lípidos que comprenden cadenas de acilo graso como se usan preferiblemente en la presente invención son preferiblemente seleccionados del grupo que comprende a los triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, glicolípidos, fosfolípidos y lisofosfolípidos. En una forma de realización preferida la presente composición contiene triglicéridos que constan de cadenas de acilo graso de cadena corta y/o fosfolípidos que constan de cadenas de acilo graso de cadena corta, más preferiblemente triglicéridos que constan de cadenas de acilo graso de cadena corta. El presente triglicérido preferiblemente tiene al menos una cadena de acilo graso de cadena corta, que se encuentra preferiblemente en la posición sn-3.

[0019] Los lípidos son degradados por pequeñas lipasas intestinales y lipasas linguales, gástricas y duodenales (es decir, pancreáticas). Por lo tanto, la administración de lípidos que constan de cadenas de acilo graso de cadena corta produce la liberación de ácidos grasos de cadena corta en el estómago, duodeno, yeyuno e íleon.

[0020] Basándose en el peso total de las cadenas de acilo graso, la presente composición preferiblemente comprende al

5 menos cadenas de acilo graso de cadena corta de 0,6% en peso, preferiblemente al menos 1,2% en peso, de forma más preferible al menos 2,5% en peso, y de forma incluso aún más preferible al menos 5% en peso, y de la forma más preferible al menos 10% en peso basándose en el peso del total de las cadenas de acilo graso. En una forma de realización preferida la presente composición tiene un porcentaje en peso de cadenas de acilo graso de cadena corta por debajo del 50% en peso basado en el peso de las cadenas de acilo graso totales, más preferiblemente por debajo del 25% en peso.

10 [0021] La presente composición contiene entre 0,3 y 5% en peso de ácido butírico basado en el peso de las cadenas de acilo graso totales, preferiblemente entre 0,5 y 2,5% en peso, incluso de forma más preferible entre 0,75 y 2% en peso. La presente composición contiene preferiblemente tributirina (es decir, triglicérido con 3 cadenas de ácido butírico unidas a la estructura de glicerol a través de enlaces de tipo éster).

15 [0022] La presente composición comprende al menos 0,6% en peso de cadenas de acilo graso de cadena corta basado en el peso en seco total de la composición, de la forma más preferible con al menos un 1% en peso. Preferiblemente, la cantidad de cadenas de acilo graso de cadena corta se encuentra por debajo del 30% en peso, más preferiblemente por debajo del 10% en peso y de forma incluso más preferible por debajo del 5% en peso basándose en el peso en seco de la composición. La dosis diaria de cadenas de acilo graso de cadena corta preferiblemente es de al menos 2.5 mg por kg de peso corporal, de forma más preferible de al menos 5 mg por kg de peso corporal, de forma aún más preferible de al menos 10 mg por kg de peso corporal y de la forma más preferible de al menos 20 mg por kg de peso corporal. Preferiblemente, la dosis diaria de cadenas de acilo graso de cadena corta se encuentra por debajo de los 250 mg por kg de peso corporal, más preferiblemente por debajo de los 100 mg por kg de peso corporal

25 [0023] Una fuente preferida de cadenas de acilo graso de cadena corta son lípidos obtenidos a partir de la leche de mamíferos no-humanos, preferiblemente leche de vaca, cabra, oveja, caballo, búfalo, yak, reno, asno y camello, particularmente leche de vaca y/o leche de cabra. El lípido de la leche también es denominado grasa láctea o grasa de mantequilla. En una forma de realización preferida, los lípidos que comprenden cadenas de acilo graso de cadena corta son químicamente sintetizados a partir de glicerol y los ácidos grasos de cadena corta por enzimas tales como las esterasas. Ejemplos de ello son la triacetina y la tributirina. Una fuente preferida de triglicéridos que comprende ácidos grasos de cadena corta es Benefat® de Danisco.

30 Sacáridos fermentables no digeribles

35 [0024] La presente composición consta de sacáridos no digeribles fermentables (de ahora en adelante denominados "sacáridos NDF") con un GP de 2 a 200. El término "sacáridos no digeribles" se refiere en la presente invención a sacáridos que quedan sin digerir en el tracto gastrointestinal y alcanzan el intestino grueso sin ser absorbidos, es decir, sacáridos que no se digieren en el tracto intestinal superior de un humano, preferiblemente un bebé humano, por ejemplo sin ser digeridos por los ácidos o enzimas presentes en el tracto gastrointestinal humano. Por ejemplo, la glucosa, fructosa, galactosa, sacarosa, lactosa, maltosa y maltodextrina son consideradas digeribles. El término "fermentable" como es usado aquí se refiere a la capacidad para experimentar descomposición por parte de los microorganismos, en la parte inferior del tracto gastrointestinal se refiere a las moléculas más pequeñas, en particular a ácidos grasos de cadena corta y lactato. La fermentabilidad de los sacáridos no digeribles se determina preferiblemente por el método descrito en Am. J. Clin. Nutr. 53, 1418-1424 (1991). Preferiblemente el presente sacárido NDF es fermentable por Lactobacilli y/o Bifidobacteria (ver Gibson y Roberfroid, J. Nutr. 125:1401-1412 (1995)). El presente sacárido NDF es preferiblemente hidrosoluble. Los sacáridos hidrosolubles tienen una hidrosolubilidad de al menos el 45 50%, de acuerdo con un método descrito por L. Prosky et al., J. Assoc. Anal. Chem 71: 1017-1023, 1988.

50 [0025] Preferiblemente al menos el 80% en peso, de forma más preferible al menos 95 % en peso y de la forma más preferible al menos 98% en peso del sacárido NDF tiene un grado de polimerización (GP) por debajo de 100, preferiblemente por debajo de 60 y de la forma más preferible por debajo de 40. El GP más bajo reduce ventajosamente la viscosidad y aumenta la fermentabilidad de los sacáridos no digeribles. Preferiblemente al menos 50 % en peso y de forma más preferible al menos e 75 % en peso del sacárido NDF tiene un GP de 2-8.

55 [0026] El presente sacárido NDF se selecciona de entre un grupo que comprende fructo-oligosacáridos, galactooligosacáridos, galactanos y fructopolisacáridos, de forma más preferible un galactooligosacárido e incluso de forma más preferible un trans-galactooligosacárido.

Diferentes sacáridos no digeribles fermentables

60 [0027] De acuerdo con una forma de realización preferida la presente composición contiene dos sacáridos NDF diferentes, es decir, un sacárido no digerible A y un sacárido no digerible B, de ahora en adelante denominados sacárido A y sacárido B respectivamente. La administración de mezclas de sacáridos de diferentes tamaños, "clases" y/o

"estructuras" estimula sinérgicamente la formación de ácidos grasos de cadena corta a lo largo del íleon distal y colon distal y proximal, que influye beneficiosamente en la salud. Los sacáridos A y B son sacáridos diferentes y tienen conexiones glucosídicas, grado de polimerización y/o composición monosacárida diferentes. Después de la fermentación de estos sacáridos no digeribles por la microflora gastrointestinal, se forman ácidos grasos de cadena corta.

5

[0028] Los términos sacárido A y sacárido B tal y como se usan en la presente invención se refieren preferiblemente a las mezclas de sacáridos no digeribles antes que a sacáridos sustancialmente puros. Esta es una práctica común, debido a que el uso de sacáridos con una longitud de cadena, por ejemplo, resulta muy costoso. Cuando el sacárido A y/o el sacárido B son mezclas de sacáridos, los promedios de los respectivos parámetros se usan para definir la presente invención. Por ejemplo, si el sacárido A es una mezcla de los sacáridos individuales 25% en peso Glu-Gal-Gal-Gal, 25% en peso Glu-Gal-Gal y 50% en peso Glu-Gal, la composición monosacárida media es 64% Gal (galactosa) y 36% Glu (glucosa). El grado medio de polimerización (GP) es  $(0,25 \cdot 4 + 0,25 \cdot 3 + 0,5 \cdot 2 =) 2,75$ .

10

#### Composición monosacárida

15

[0029] Preferiblemente al menos el 60%, de forma más preferible al menos el 95% y de forma aun más preferible al menos el 98% del total de las unidades de monosacárido de los sacáridos A y B son monosacáridos seleccionados del grupo que comprende los monosacáridos de galactosa (gal), fructosa (fru) y glucosa (glu). Según una forma de realización preferida de la presente invención, el porcentaje de al menos un tipo de monosacárido en el sacárido A es al menos 40% mol superior al porcentaje del mismo tipo de monosacárido en el sacárido B, preferiblemente al menos 50%, de forma más preferible al menos 75%, incluso de forma más preferible al menos 90%. Una diversidad incrementada de monosacáridos estimula una formación incrementada y más gradual de los ácidos grasos de cadena corta a lo largo del íleon distal y el colon distal y proximal.

20

25

[0030] El porcentaje de un monosacárido en el sacárido puede calcularse simplemente dividiendo la cantidad de la unidad monosacárida respectiva (p. ej. glucosa) en el sacárido por la cantidad total de las unidades monosacáridas en dicho sacárido y multiplicándolo por 100. Cuando el sacárido es una mezcla de sacáridos, debe tenerse en cuenta la aportación de cada sacárido de forma individual en la mezcla. Estos porcentajes pueden determinarse simplemente en una mezcla de sacárido hidrolizando la mezcla por completo y determinando el porcentaje para cada monosacárido.

30

[0031] Por ejemplo, en el caso donde el sacárido A es una mezcla de glu-(gal)<sub>11=2-7</sub> con una composición monosacárida media de 20% glucosa y 80% galactosa y el sacárido B es una mezcla de glu-(fru)<sub>n=2-7</sub> y (fru)<sub>n=2-7</sub> con una composición monosacárida media de 10% glucosa y 90% fructosa, la diferencia en a) glucosa es del 10%; b) fructosa del 90%; y c) galactosa del 80%. En este ejemplo la galactosa cumple el criterio por el cual el porcentaje de al menos un monosacárido seleccionado del grupo que comprende la glucosa, fructosa y galactosa en el sacárido A es al menos 40% mayor que el porcentaje del mismo monosacárido en el sacárido B.

35

[0032] Preferiblemente el sacárido A contiene al menos 40% galactosa, de forma más preferible al menos 67% galactosa y de forma aún más preferible al menos 75% galactosa. Preferiblemente el sacárido B contiene al menos 30% fructosa, de forma más preferible al menos 67% fructosa y de forma aún más preferible al menos 80% fructosa.

40

#### Grado de polimerización

[0033] Los sacáridos A y B tienen un grado de polimerización (GP) de 2 a 200. Preferiblemente al menos un 80% en peso, de forma más preferible al menos 95% en peso y de la forma más preferible al menos 98% en peso del peso acumulativo de los sacáridos A y B tiene un grado de polimerización (GP) por debajo de 100, de forma más preferible por debajo de 60 y de la forma más preferible por debajo de 40. Un GP inferior reduce de manera beneficiosa la viscosidad e incrementa la fermentabilidad de los sacáridos no digeribles. Preferiblemente al menos el 50% en peso y de forma más preferible al menos el 75% en peso del peso acumulativo de los sacáridos de A y B son sacáridos no digeribles con un GP de 2-8. Con la utilización de una mezcla con un alto porcentaje de peso de los sacáridos pequeños se incrementará la fermentabilidad y el efecto de estimulación en la producción de ácido graso de cadena corta.

45

50

[0034] Según una forma de realización preferida de la presente invención, el GP del sacárido A es al menos 5 unidades monosacáridas inferior al grado de polimerización del sacárido B, preferiblemente al menos 10 y de forma aún más preferible al menos 15 unidades. La adición de un sacárido con un grado de polimerización incrementado reduce la carga osmótica, lo cual resulta ventajoso para la nutrición infantil y mejora la estimulación de la formación de ácido graso de cadena corta también en más partes distales del colon.

55

[0035] Preferiblemente, el sacárido A tiene un GP de 2-15, de forma más preferible 2-8. Preferiblemente el sacárido B tiene un GP de 8-100. Los sacáridos A y B con distinto GP pueden tener la misma composición monosacárida o ser la misma ligeramente diferenciada. Cuando los sacáridos A y B tienen diferente GP y composición monosacárida similar la

60

diferencia en el GP medio entre los sacáridos A y B es preferiblemente de al menos 5, de forma más preferible al menos 10 y de forma aun más preferible al menos 15 unidades. Preferiblemente, los sacáridos A y B tienen una composición monosacárida (ver arriba) y GP diferentes.

- 5 [0036] Por ejemplo, si el sacárido A es una mezcla de glu-(fru)<sub>m=2-7</sub> y (fru)<sub>m=2-6</sub> con un GP medio de 3,5 unidades monosacáridas y el sacárido B es glu-(fru)<sub>n=12-100</sub> con un GP medio de 25 unidades monosacáridas; la diferencia en el GP medio es (25-3,5 =) 21,5.

Enlace glucosídico

- 10 [0037] En una forma de realización preferida de la presente invención el porcentaje de al menos un enlace glucosídico del sacárido A basado en los enlaces glucosídicos totales del sacárido A es al menos 40% superior al porcentaje del mismo enlace glucosídico en el sacárido B, preferiblemente al menos un 50% e incluso de forma aun más preferible al menos un 75%. El término "enlace glucosídico" de la forma en la que es usado en la presente invención se refiere a una conexión C-O-C formada entre los anillos de dos monosacáridos cíclicos por la eliminación de agua. Una diversidad incrementada en los enlaces glucosídicos estimula una formación incrementada y más gradual de ácidos grasos de cadena corta a lo largo del íleon distal y el colon distal y proximal.

- 20 [0038] Los enlaces glucosídicos difieren en que enlazan átomos de carbono en las unidades monosacáridas de manera covalente en posiciones diferentemente numeradas, y/o en que forman enlaces  $\alpha$  o  $\beta$ . Ejemplos de diferentes enlaces glucosídicos que ocurren en los sacáridos no digeribles son los enlaces  $\beta(1,3)$ ,  $\alpha(1,4)$ ,  $\beta(2,1)$ ,  $\alpha(1,2)$ , y  $\beta(1,4)$ .

- 25 [0039] Preferiblemente los enlaces glucosídicos en el sacárido A comprenden al menos enlaces glucosídicos de 40%  $\beta(1,4)$  y/o  $\beta(1,6)$ , de forma más preferible al menos 75%. Los enlaces glucosídicos en el sacárido B preferiblemente constan de al menos 40%  $\beta(2,1)$  de enlaces glucosídicos, de forma más preferible al menos 75%.

Combinación de sacáridos

- 30 [0040] En una forma de realización particularmente preferida, los presentes sacáridos A y B difieren en al menos dos características seleccionadas de entre el grupo de enlace glucosídico, grado de polimerización y composición monosacárida. Preferiblemente, dichos sacáridos A y B difieren en el grado de polimerización y en una característica seleccionada de entre el grupo de enlace glucosídico y la composición monosacárida. De forma más preferible, dichos sacáridos A y B difieren en grado de polimerización y composición monosacárida. De la forma más preferible, estas tres características son diferentes.

Concentración de sacárido no digerible

- 40 [0041] La presente composición nutricional comprende al menos 60 mg de sacárido NDF con un GP de 2 a 200 por 100 ml de la presente composición líquida, preferiblemente al menos 150 mg por 100 ml, de forma más preferible al menos 250 mg por 100 ml y de forma aún más preferible al menos 350 mg por 100 ml. Preferiblemente, la presente composición no contiene más de 15 g de sacárido NDF con un GP de 2 a 200 por 100 ml, de forma más preferible no más de 10 g por 100 ml, de forma aún más preferible no más de 5 g por 100 ml., de la forma más preferible no más de 2 g por 100 ml. El presente sacárido NDF es administrado preferiblemente en una dosis diaria de 0.1 a 30 g, de forma más preferible de 0,5 a 15 g y de forma aún más preferible de 3 a 10 g.

- 45 [0042] Preferiblemente la presente composición nutricional consta de al menos 6 mg de sacárido A por 100 ml, preferiblemente al menos 30 mg/100 ml, de forma aún más preferible al menos 100 mg/100 ml y de la forma más preferible al menos 200 mg/100 ml. Preferiblemente la presente composición no contiene más de 10 g de sacárido A por 100 ml, preferiblemente no más de 2 g/100 ml. La presente composición preferiblemente consta de al menos 6 mg de sacárido B por 100 ml, preferiblemente al menos 15 mg/100 ml y de la forma más preferible al menos 30 mg/100 ml. Preferiblemente la presente composición no contiene más de 10 g de sacárido B por 100 ml, preferiblemente no más de 5 g/100ml y de la forma más preferible no más de 1 g/100 ml.

- 55 [0043] La proporción del peso de los sacáridos A y B se encuentra entre 0,01 y 100, de forma más preferible entre 0,5 y 100 y de forma aún más preferible entre 4 y 100. Una proporción de peso alta es particularmente beneficiosa cuando el sacárido A tiene un bajo GP y el sacárido B tiene un GP relativamente alto. Esto asegura un equilibrio óptimo entre osmolaridad y fermentabilidad.

- 60 [0044] Los sacáridos A y B preferiblemente constan de entre 5 y 100% en peso basado en el peso total de los sacáridos no digeribles en la presente composición, de forma más preferible entre 50 y 100% en peso.

## Sacáridos preferibles

[0045] El sacárido no digerible A es preferiblemente un sacárido seleccionado del grupo formado por fructooligosacáridos,  $\beta$ -galactooligosacáridos,  $\alpha$ -galactooligosacáridos y galactanos, preferiblemente  $\beta$ -galactooligosacáridos,  $\alpha$ -galactooligosacáridos y galactanos. Según una forma de realización aún más preferible el sacárido A es un galactooligosacárido, de forma más preferible un  $\beta$ -galactooligosacárido y de forma aún más preferible un transgalactooligosacárido (TOS). Preferiblemente el sacárido A consta de  $\beta$ -galactooligosacáridos con  $\beta(1,4)$  y/o  $\beta(1,6)$  enlaces glucosídicos y una glucosa terminal. Un TOS se encuentra por ejemplo comercialmente disponible bajo el nombre comercial de Vivinal®GOS (Borculo Domo Ingredients, Zwolle, Holanda).

[0046] El sacárido no digerible B es preferiblemente un sacárido seleccionado del grupo formado por fructopolisacáridos y fructooligosacáridos, preferiblemente fructopolisacáridos. Los términos fructopolisacáridos, polifruktosa, polifruktano y fructano se usan aquí de forma intercambiable y se refieren a los polisacáridos que constan de unidades de fructosa  $\beta$ -enlazadas, que se encuentran preferiblemente enlazadas por los enlaces glucosídicos  $\beta(2,1)$  y/o  $\beta(2,6)$ . Preferiblemente, el fructopolisacárido contiene al menos 7 unidades de fructosa  $\beta$ -enlazadas. En otra forma de realización preferida la inulina se usa como sacárido B. La inulina es un tipo de fructopolisacárido en el cual al menos el 75% de los enlaces glucosídicos son enlaces  $\beta(2,1)$ . Típicamente, la inulina tiene una longitud de cadena media de entre 8 y 60 unidades monosacáridas. Un fructopolisacárido adecuado para su uso en composiciones se encuentra comercialmente disponible bajo el nombre comercial de Raftiline®HP (Orafti).

[0047] En otra forma de realización preferida, el sacárido B es un fructooligosacárido. Un fructooligosacárido es un sacárido que comprende unidades de fructosa  $\beta$ -enlazadas, que son preferiblemente enlazadas mediante los enlaces glucosídicos  $\beta(2,1)$  y/o  $\beta(2,6)$ . El fructooligosacárido contiene preferiblemente un  $\beta(2,1)$  de glucosa con enlace glucosídico en el extremo reductor. Preferiblemente, el fructooligosacárido contiene de 2 a 6 unidades de fructosa  $\beta$ -enlazadas. Una fuente apta de fructooligosacárido es Raftilose® (Orafti) o Actilight (Beghin-Meiji).

Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)

[0048] Los PUFA constan de cadenas de acilo graso con 2 o más enlaces dobles en la cadena de acilo, tales como el ácido linoleico (AL, un ácido graso n-6) y el  $\alpha$ -ácido linoleico (AAL un ácido graso n-3). Los PUFA, particularmente AL y AAL, son esenciales para sujetos con un tracto gastrointestinal no desarrollado por razones nutricionales, por ejemplo niños de entre 1 y 2 años y determinados pacientes hospitalizados. Por tanto la presente composición líquida preferiblemente consta de AAL y AL. Preferiblemente la presente composición contiene PUFA en cantidades suficientes y en una proporción equilibrada. Por lo tanto, la composición consta de al menos 7% en peso de PUFA basándose en el total de cadenas de acilo graso, preferiblemente al menos 12% en peso, de forma más preferible al menos 15% en peso y de la forma más preferible al menos 20% en peso basándose en el total de cadenas de acilo graso total. Preferiblemente la composición no contiene más del 80% en peso de PUFA, preferiblemente no más del 50% en peso basándose en el total de cadenas de acilo graso.

[0049] Con el fin de proporcionar los requisitos nutricionales, la presente composición preferiblemente comprende entre 0,2 y 2 g de AL por 100 ml, y de 0,03 a 0,5 g de AAL por 100 ml. La proporción de peso de AL/AAL se encuentra preferiblemente entre 5 y 15. Preferiblemente, la proporción de peso entre los ácidos grasos n-6 y n-3 se encuentra entre 5 y 15.

[0050] Se han encontrado ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA) reduciendo la permeabilidad de las uniones ocluyentes, ayudando así a recuperar la integridad de la barrera intestinal. Los LC-PUFA también estimulan el desarrollo de la barrera intestinal. Los LC-PUFA se encuentran en el cuerpo sintetizados a partir de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), tal como ácido linoleico (AL, un ácido graso n6) y ácido  $\alpha$ -linoleico (AAL, un ácido graso n-3), pero la conversión puede derivar en una baja proporción, especialmente en bebés. Por lo tanto, la presente composición contiene de manera beneficiosa lípidos con cadenas de acilo graso de cadena larga, es decir, con una cadena de 20 y/o 22 átomos de carbono. Preferiblemente la presente composición contiene ácido eicosapentaenoico (EPA, un ácido graso n-3), ácido docosahexaenoico (DHA, un ácido graso n-3) y/o ácido araquidónico (ARA, un ácido graso n-6), de forma más preferible ARA y DHA y de forma aún más preferible ARA, DHA y EPA.

[0051] El contenido de los LC-PUFA con 20 y 22 átomos de carbono preferiblemente no excede del 15% en peso, más preferiblemente no excede del 10% en peso y de forma aún más preferible no excede del 5% en peso del peso total de cadenas de acilo graso. Preferiblemente la presente composición comprende al menos 0,1% en peso, preferiblemente al menos 0,25% en peso, de forma más preferible al menos 0,5% en peso y de forma aún más preferible al menos 0,75% en peso de LC-PUFA con 20 y 22 átomos de carbono del peso total de las cadenas de acilo graso. Por la misma razón, el contenido de EPA preferiblemente no excede del 5% en peso de grasa total, de forma más preferible

no excede del 1% en peso, pero es preferiblemente que tenga al menos 0,05% en peso y de forma más preferible al menos 0,1% en peso de la grasa total. El contenido de DHA preferiblemente no excede del 5% en peso, de forma más preferible no excede el 1% en peso, pero tiene al menos un 0,1% en peso de la grasa total.

5 [0052] Ya que el ARA resultó ser particularmente eficaz en la reducción de la permeabilidad de las uniones ocluyentes, la presente composición comprende cantidades relativamente altas, preferiblemente al menos 0,1% en peso, incluso de forma más preferible al menos 0,25 % en peso y de la forma más preferible al menos 0,5 % en peso del peso total de las cadenas de acilo graso. El contenido de ARA preferiblemente no excede del 5% en peso y de forma más preferible no excede del 1% en peso de la grasa total.

10 [0053] En el presente ARA, que contiene una composición enteral, EPA y DHA se añaden beneficiosamente para equilibrar la acción del ARA que, por ejemplo, reduce la potencial acción proinflamatoria de metabolitos del ARA. El exceso de metabolitos del ARA puede causar inflamación. Por lo tanto, la presente composición preferiblemente consta de ARA, EPA y DHA, donde la proporción en peso del ARA/DHA se encuentra preferiblemente por encima de 0,25, más preferiblemente por encima de 0,5, y de forma aún más preferible por encima de 1. La proporción se encuentra preferiblemente por debajo de 25. La proporción del peso de ARA/EPA se encuentra preferiblemente entre 1 y 100, de forma más preferible entre 5 y 20.

20 [0054] Si la presente composición se usa como fórmula infantil (p. ej. un método de alimentación infantil, constando dicho método de la administración de la presente composición para un bebé), el contenido de LC-PUFA, particularmente de LC-PUFA con 20 y 22 átomos de carbono, preferiblemente no excederá del 3% en peso del contenido de grasa total dado que es deseable imitar la leche materna de forma tan fiel como sea posible. Por la misma razón, el contenido de omega-3 de LC-PUFA preferiblemente no excederá el 1 % en peso del contenido de grasa total; el contenido de omega-6 de LC-PUFA preferiblemente no excederá el 2 % en peso del contenido de grasa total; el contenido de ARA (omega-6) se encontrará preferiblemente por debajo del 1 % en peso del contenido de grasa total; y/o la proporción en peso de EPA/DHA será preferiblemente de 1 o una cifra inferior y de la forma más preferible por debajo de 0,5.

25 [0055] Los LC-PUFA con 20 y 22 átomos de carbono pueden proporcionarse como ácidos grasos libres, en forma de triglicéridos, fosfolípidos o como una mezcla de más de uno de los anteriores. La presente composición consta preferiblemente de al menos un ARA y un DHA en forma de fosfolípido.

30 [0056] Para una óptima reducción de la permeabilidad, la presente composición contiene preferiblemente una cadena corta de proporción equilibrada y una cadena de acilo graso de cadena larga. Por lo tanto, la proporción en peso de ácido butírico/DHA es preferiblemente de al menos 0,5, más preferiblemente de al menos 1, de forma aún más preferible de al menos 2 y de la forma más preferible al menos 4. La proporción no excede preferiblemente 250.

#### Fuente de grasas

40 [0057] La presente composición se encuentra preferiblemente proporcionada en forma de una composición nutricional que es fácil de deglutir y que proporciona una nutrición equilibrada. La presente composición comprende preferiblemente entre 20 y 60% en peso de grasas. De forma más preferible, la presente composición consta de entre un 30 y un 60% en. de grasas, de forma aún más preferible entre un 35 a y 50% en peso, y de la forma más preferible entre un 39 y 50% en peso. La presente composición consta de entre un 15% y un 45% en peso de grasas basado en el peso en seco de la composición. La composición consta preferiblemente de al menos 0,5 g de grasas/100 ml, más preferiblemente de al menos 1 g de grasa/100 ml y de forma más preferible al menos 2,5 g de grasa por 100 ml. Preferiblemente, la composición no contiene más de 10 g grasas/100 ml, de forma más preferible no más de 5 g grasas por 100 ml. La composición consta al menos de una fuente de aceite vegetal con el fin de proporcionar ácidos grasos poliinsaturados. Preferiblemente, la composición consta de aceite de colza y/o aceite de girasol.

#### 50 Otros componentes

55 [0058] La presente composición preferiblemente consta de carbohidrato digerible y proteína con el fin de proporcionar energía y/o a promover el crecimiento y/o desarrollo del sujeto necesitado de la composición. Preferiblemente, el carbohidrato digerible es seleccionado del grupo que consiste de maltodextrina, almidón, lactosa, maltosa, glucosa, fructosa, y sacarosa. Dado que la lactosa es una de las fuentes de carbohidratos más importante para bebés, la presente composición preferiblemente consta de al menos 35% en peso de lactosa basado en el peso del total de carbohidrato digerible, más preferiblemente al menos un 50% en peso y de la forma más preferible al menos 75% en peso. Preferiblemente, la composición consta de al menos 1 g de lactosa/100 ml, de forma más preferible al menos 2 g/100ml, y de forma aún más preferible al menos 5 g por 100 ml. La presente composición preferiblemente consta de entre 4 g y 60 18 g, de forma más preferible entre 4 y 14 g de carbohidratos digeribles por 100 ml de composición. La presente composición preferiblemente consta de entre el 25 a 85 % en. de carbohidratos. La presente composición consta de

forma más preferible de entre 25 y 75% en. de carbohidratos. La presente composición consta de la forma más preferible de entre 40 y 75% en. de carbohidratos. %en. es la abreviación que indica el porcentaje de energía y representa la cantidad relativa que cada constituyente aporta al valor calórico total de la preparación. El valor calórico es proporcionado por las proteínas, grasas y carbohidratos digeribles.

5 [0059] La presente composición consta de entre el 4 y el 20 % en peso, de forma más preferible entre del 5 a 16 % en. y de la forma más preferible del 8 al 12 % en peso de proteína. Preferiblemente la presente composición consta de una proteína seleccionada del grupo que comprende a la caseína, suero de leche, leche descremada y proteína de soja. La presente composición preferiblemente consta de entre 0,7 g y 7 g, de forma más preferible de entre 0,7 g y 3,5 g de proteína por 100 ml de composición. Preferiblemente, la composición consta de entre 4 y 20 % en. de proteína, de 20 a 10 50 % en. de grasa, y de 25 a 85 % en peso de carbohidratos. De forma más preferible, la composición comprende de entre 4 y 20 % en. de proteína, de 30 a 50 % en peso de grasa, y de 25 a 75 % en peso de carbohidratos.

15 [0060] Preferiblemente, la presente composición consta de selenio (Se). El selenio mejora la función de barrera intestinal y es por ello añadido de manera beneficiosa a la presente composición con el fin de mejorar la función de barrera intestinal. Preferiblemente la presente composición contiene al menos 30 ng, de forma más preferible al menos 70 ng, de forma aún más preferible al menos 0.1 µg y de la forma más preferible al menos 0,15 µg de selenio por g de peso en seco de la composición. Preferiblemente, la composición no consta de más de 10 µg y de forma más preferible no consta de más de 1 µg de selenio por g de peso en seco de la composición. Preferiblemente la presente composición consta de 20 selenito de sodio y/o selenometionina.

[0061] Preferiblemente, la presente composición consta de zinc (Zn). El zinc protege la función de barrera intestinal en presencia de patógenos y cuenta con un importante papel en la proliferación de enterocitos. Por tanto, el zinc es añadido 25 beneficiosamente a la presente composición con el fin de mejorar la función de barrera intestinal. La presente composición contiene preferiblemente al menos 10 µg de zinc por g de peso en seco de la composición, de forma más preferible al menos 30 µg y de la forma más preferible al menos 50 µg Zn. Preferiblemente, la presente composición contiene menos de 0,3 mg, más preferiblemente no más de 0,2 mg zinc por g de peso en seco de la presente composición. Preferiblemente el zinc es añadido a la composición en forma de sulfato de zinc, acetato de zinc, cloruro de 30 zinc, lactato de zinc, citrato de zinc, gluconato de zinc y/u óxido de zinc. Preferiblemente, la presente composición consta de vitamina A y/o su precursor β-caroteno. Esta vitamina es esencial para el crecimiento, diferenciación y proliferación de las células epiteliales y es por lo tanto beneficiosamente añadida a la presente composición con el fin de mejorar la función de barrera intestinal. Preferiblemente, se encuentran presentes al menos 4 µg de equivalente de retinol (ER) por g de peso en seco de la composición, de forma más preferible al menos 6 µg de equivalente de retinol (ER). La presente composición contiene preferiblemente al menos 20 µg ER por g de peso en seco de la presente composición.

35 [0062] Las presentes composiciones preferiblemente constan de minerales, oligoelementos y vitaminas, colina, taurina, carnitina, mioinositol y/o mezclas derivadas de las mismas. Preferiblemente la presente composición contiene taurina, que evita daños en los enterocitos provocados por la inflamación. Así la taurina es añadida beneficiosamente a la presente composición. Preferiblemente la presente composición contiene al menos 3 mg, de forma más preferible al 40 menos 6 mg y de la forma más preferible al menos 10 mg de taurina por 100 ml.

#### Composición líquida

45 [0063] Las irregularidades intestinales (heces duras, volumen insuficiente de deposición, diarrea) son el principal problema en muchos bebés y pacientes enfermos que reciben alimentos líquidos. Por lo tanto, la presente composición líquida preferiblemente cuenta con una osmolaridad de entre 50 y 500 mOsm/kg, de forma más preferible entre 100 y 400 mOsm/kg.

50 [0064] También es importante que la presente composición líquida no cuente con excesiva densidad calórica, pero que proporcione suficientes calorías como para alimentar al sujeto. Por lo tanto, el alimento líquido tiene preferiblemente una densidad calórica de entre 0.1 y 2.5 kcal/ml, de forma aún más preferible una densidad calórica de entre 0.5 y 1.5 kcal/ml y de la forma más preferible entre 0.6 y 0.8 kcal/ml.

55 [0065] La presente composición líquida tiene una viscosidad de entre 1 y 100 mPa.s, preferiblemente entre 1 y 60 mPa.s, de forma aún más preferible entre 1 y 20 mPa.s y de la forma más preferible entre 1 y 10 mPa.s. La baja viscosidad asegura una administración adecuada del líquido, por ejemplo, con un correcto paso a lo largo de una boquilla.

60 [0066] La presente composición se prepara preferiblemente incorporandouna composición en polvo que contenga agua. La fórmula infantil se prepara normalmente de este modo. La presente invención se relaciona también así con una composición en polvo empaquetada, cuyo paquete dispone de instrucciones para mezclar el polvo con una cantidad apropiada de líquido, dando como resultado una composición líquida con una viscosidad de entre 1 y 100 mPa.s. Esta

viscosidad se aproxima bastante a la viscosidad de la leche materna. Además, una baja viscosidad da como resultado un vaciado gástrico normal y una mejor toma de energía, lo cual resulta esencial para bebés, los cuales necesitan dicha energía para un crecimiento y desarrollo óptimos. La viscosidad del presente líquido puede determinarse adecuadamente usando un reómetro MCR 300 de Physica (Physica Messtechnik GmbH, Ostfilden, Alemania) a una velocidad de corte de  $95 \text{ s}^{-1}$  a  $20^\circ\text{C}$ .

Aplicaciones

[0067] La composición de acuerdo con la presente invención ha resultado ser particularmente útil como método de nutrición infantil. Por tanto, la presente invención dota de un método para proporcionar alimento a un bebé humano, comprendiendo dicho método la administración de la presente composición líquida a un bebé.

[0068] Preferiblemente el bebé tendrá una edad comprendida entre los 0 y 48 meses, de forma más preferible entre 0 y 36 meses y de la forma más preferible entre 11 y 36 meses.

[0069] Debido a que los ácidos grasos de cadena corta son una fuente de energía importante para los enterocitos y estimulan la diferenciación de los mismos, la presente composición puede ser usada beneficiosamente con el fin de recuperar, mantener y/o desarrollar la función de barrera intestinal a lo largo del tracto gastrointestinal al completo en un humano. La presente composición puede así ser utilizada adecuadamente con el fin de tratar y prevenir enfermedades en las que la función de la barrera intestinal dañada cuenta con un papel importante. La presente composición líquida es especialmente adecuada para el tratamiento y/o prevención de alergias, hipersensibilidades alimentarias, dermatitis atópica, eczemas, infecciones gastrointestinales, diarrea y/o inflamación intestinal en bebés, por la administración por vía oral de la presente composición. Dado que los ácidos grasos de cadena corta también cuentan con un importante papel en el comportamiento neuromuscular intestinal, la composición es especialmente adecuada para la prevención y/o tratamiento de calambres, cólicos y/o estreñimiento. La reducción de la incidencia de estas enfermedades se debe a la producción optimizada de ácido graso de cadena corta a lo largo del tracto gastrointestinal al completo.

[0070] Otros pacientes que padezcan una función reducida de la barrera intestinal pueden también utilizar la presente composición beneficiosamente. Por lo tanto, la presente composición puede también utilizarse beneficiosamente para el tratamiento y/o prevención de la diarrea, translocación bacteriana, bacteriemia, sepsis, malnutrición y/o inflamación intestinal. La presente composición puede también ser utilizada adecuadamente por pacientes que se sometan a cirugías, terapias contra el cáncer y pacientes que padezcan heridas provocadas por calor, fricción, electricidad, radiación o productos químicos. La presente composición es preferiblemente administrada por vía oral. La composición es también particularmente adecuada para su administración a través de un tubo o una pajita.

**EJEMPLOS**

Ejemplo 1: los triglicéridos de cadena corta digeridos inhiben las bacterias patógenas en el intestino delgado.

[0071] La tributirina (Aldrich) fue incubada a una concentración de 33 mM a  $37^\circ\text{C}$  durante 90 minutos bajo condiciones anaeróbicas en el medio representante del estómago (8,3 g/l peptona bacteriológica, 3,1 g/l NaCl, 0,11 g/l  $\text{CaCl}_2$ , 1,1 g/l KCl, 0,6 g/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1,0 g/l glucosa, pH 3,0, 22,2 mg/l pepsina, (proveniente de mucosa de estómago porcino; Sigma P-6887), y 22,2 mg/l lipasa (Rhizopus F-AP15; Amano Pharmaceuticals)). Se realizó una incubación sin tributirina como forma de control. Después de la incubación se realizó una dilución de factor 10 de esta suspensión en el medio que representaba al intestino delgado (5,7 g/l peptona bacteriológica, 1,25 g/l NaCl, 0,055 g/l  $\text{CaCl}_2$ , 0,15 g/l KCl, 0,68 g/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1,0 g/l  $\text{NaHCO}_3$ , 0,3 g/l  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,7 g/l glucosa, pH 6,5, 20,3 g/l pancreatina (pancreatina porcina; Sigma P-1750) y 5,5 g/l bilis (bilis bovina; Sigma B-3883)). Los patógenos (oportunistas) intestinales fueron cultivados durante la noche en caldo BHI (Oxoid) y lavados y concentrados 3 veces en medio del intestino delgado. A  $t=0$  los pocillos de microtitulación rellenos con el medio del intestino delgado con o sin tributirina digerida fueron inoculados por triplicado con los patógenos (20  $\mu\text{l}$  agregados al medio 250  $\mu\text{l}$ ). Se tomaron muestras de 100  $\mu\text{l}$  en los minutos 105 y 210. Las series de diluciones con factor 3 fueron realizadas en buffer fosfato salino (BFS) (Gibco) para cada patógeno y se colocaron por duplicado 5  $\mu\text{l}$  de cada dilución en una placa cuadrada BHI con el uso de una plantilla. Las placas en las que se colocaron las diluciones fueron secadas y anaeróbicamente incubadas durante 48 horas a  $37^\circ\text{C}$ . Tras comparar los resultados de la incubación con tributirina con aquellos de la prueba de control sin tributirina se calculó el porcentaje del efecto inhibitorio de la tributirina hidrolizada. Los resultados se muestran en la tabla 1. No se mostró inhibición en el crecimiento de bifidobacterias o bacterias del ácido láctico en presencia de 10 mM de butirato (datos no mostrados).

Tabla 1: Inhibición del porcentaje mediante tributirina hidrolizada

Cepa	T=105 min	T=210 min
------	-----------	-----------

<i>Shigella flexneri</i> LMG10472	49.4	55.9
<i>Staphylococcus aureus</i> LMG 10147	83.0	91.6
<i>Staphylococcus epidermidis</i> LMG 10273	0	29.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , aislado clínico	44.8	45.1
<i>Clostridium difficile</i> , aislado clínico	92.6	97.0
<i>Streptococcus agalactica</i> LMG 14694	100	100
<i>Yersinia enterocolitica</i> LMG67899	0	50.4

[0072] Estos resultados demuestran que los triglicéridos de cadena corta tras la digestión mediante lipasas ejercen un efecto bactericida o de crecimiento inhibitorio sobre algunos patógenos comunes en el intestino delgado.

5 Ejemplo 2: Los ácidos orgánicos formados a partir de fermentación colónica inhiben el crecimiento de bacterias patógenas.

10 [0073] Se cultivaron las bacterias patógenas durante toda la noche en caldo de soja tréptica (Oxoid) a 37 °C, y se inocularon en el caldo de soja tréptica (5 µl añadido a los 250 µl en los pocillos de una placa de microtitulación) con bien pH 7,0, representando el pH del colon de bebés alimentados con una fórmula infantil estándar o pH 5,5, representando el pH del colon de bebés alimentados con una fórmula infantil suplementada con 0,4 g/l de galactooligosacáridos (de Vivinal Gos) y polifruktosa (raftilinHP) en una proporción de peso 9/1 y que comprende concentraciones de ácidos orgánicos como se observa en las heces de dichos bebés. Como forma de control, no se agregaron ácidos orgánicos. El crecimiento a 37 °C fue monitoreado mediante la medición de la turbidez (OD<sub>600</sub>).

15 [0074] Los resultados se muestran en la tabla 2. Se puede concluir que los cambios fisiológicos (es decir, una reducción del pH combinado con la presencia de ácidos orgánicos) en el colon inducidos por la fermentación de sacáridos no digeribles inhiben el crecimiento de bacterias patógenas. No se inhibió el crecimiento de bifidobacterias y bacterias de ácido láctico (datos no mostrados).

20 Tabla 2: Inhibición del crecimiento mediante ácidos orgánicos y un pH bajo

Cepa	Sin ácidos		Ácidos orgánicos <sup>a</sup>	
	pH 5.5	pH 7.0	pH 5.5	pH 7.0
<u>Escherichia coli</u> ATCC35401	.b	0	---	--
<u>Salmonella typhimurium</u> LMG22714	-	0	---	---
<u>Klebsiella pneumoniae</u> aislada clínicamente	-	0	---	0
<u>Staphylococcus aureus</u> LMG10147	-	0	---	--
<u>Enterococcus faecalis</u> LMG 11396	0	0	---	-

a: ácidos orgánicos: 75 mM acetato, 20 mM propionato, 7,5 mm butirato, 47,5 mM lactato o 100 mm acetato

b: 0: sin inhibición del crecimiento

-.: inhibición del crecimiento débil (5 a 20%) en comparación con el pH 7.0 sin ácidos

--: inhibición del crecimiento media (20 a 60%) en comparación con el pH 7.0 sin ácidos

---: inhibición del crecimiento fuerte: (60 a 100 %) en comparación con el pH 7.0 sin ácidos

25 [0075] De los resultados mostrados en los ejemplos 1 y 2 puede inferirse que, tras la administración oral de una composición que comprende triglicéridos de cadena corta y un sacárido no digerible, se liberan ácidos grasos de cadena corta, teniendo efectos antipatogénicos en el intestino delgado y el colon.

Ejemplo 3: liberación prolongada de ácidos grasos de cadena corta

30 [0076] Se obtuvieron microorganismos de heces recientes de bebés alimentados por medio de un biberón. El material fecal reciente de bebés con un espectro de edad de entre 1 a 4 meses fue reservado y colocado en el medio

conservante durante 2 h.

[0077] Los siguientes prebióticos fueron sustratos para la fermentación:

- 5     1   85 mg TOS (de Vivinal GOS)  
       2   76,5 mg TOS (de Vivinal GOS) y 8,5 mg de inulina (de RaftilinHP) 9/1 (peso de fibra/peso de fibra)  
       3   85 mg de inulina (raftilin hp)  
       4. ninguno (en blanco).
- 10    [0078] Medio de McBain & MacFarlane: agua peptonada bufferada 3,0g/l, extracto de levadura 2,5 g/l. mucina (borde en cepillo) 0,8 g/l, triptona 3,0g/l, L-Cisteína-HCl 0,4 g/l, sales de bilis 0,05 g/l, K<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> ·3H<sub>2</sub>O 2,6 g/l, NaHCO<sub>3</sub> 0,2 g/l, NaCl 4,5 g/l, MgSO<sub>4</sub> ·7H<sub>2</sub>O 0,5 g/l, CaCl<sub>2</sub> 0,228 g/l, FeSO<sub>4</sub> ·7H<sub>2</sub>O 0,005 g/l. se rellenan las botellas Scott de 500 ml con el medio y se esterilizan durante 15 minutos a 121 °C.
- 15    [0079] Medio bufferado: K<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> ·3H<sub>2</sub>O 2,6 g/l, NaHCO<sub>3</sub> 0,2 g/l, NaCl 4,5 g/l, MgSO<sub>4</sub> ·7H<sub>2</sub>O, 0,5 g/l, CaCl<sub>2</sub> 0,228 g/l, FeSO<sub>4</sub> ·7H<sub>2</sub>O 0,005 g/l. Ajustar para pH 6.3 ± 0.1 con K<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> o NaHCO<sub>3</sub>. Se rellenan las botellas Scott de 500ml con el medio y se esterilizan durante 15 minutos a 121 °C.
- 20    [0080] Medio conservante: peptona bufferada 20,0 g/l, L-Cisteína-HCl 0,5 g/l, tioglicolato de sodio 0,5 g/l, 1 pastilla de resazurina por litro, ajustar para pH 6,7 ± 0,1 con 1 M NaOH o HCl. El medio se lleva a ebullición en el microondas. Las botellas de suero de 30 ml se rellenan con 25 ml del medio y se esterilizan durante 15 minutos a 121 °C.
- [0081] Las heces recientes se mezclan con el medio conservante y pueden así ser conservadas varias horas a 4 °C.
- 25    [0082] Suspensión fecal: la solución conservada de heces fue centrifugada a 13,000 r.p.m. durante 15 minutos. El sobrenadante fue eliminado y las heces se mezclaron con el medio de McBain & Mac Farlane en una proporción en peso de 1:5.
- 30    [0083] Se combinaron 3,0 ml de la suspensión fecal con 85 mg de prebiótico o sin adición (en blanco) en una botella y mezcladas minuciosamente. A t=0 se retiró una muestra (0.5 ml). Se trasladaron 2.5 ml de la suspensión resultante a un tubo de diálisis en una botella de 60 ml rellena con 60 ml del medio bufferado. La botella se cerró apropiadamente y se incubó a 37 °C. Se tomaron muestras del tubo de diálisis (0.2 ml) o del buffer de diálisis (1.0 ml) con una jeringa hipodérmica tras 3, 24, Y 48 horas y se aplicó hielo inmediatamente para frenar la fermentación.
- 35    [0084] Los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), acético, propiónico, y n-butírico fueron determinados de forma cuantitativa por un cromatógrafo de gas (CG) Varian 3800 (Varian Inc., Walnut Creek, EEUU.) equipado con un detector de ionización de llamas. Se inyectaron 0,5 µl de la muestra a 80 °C en la columna (Stabilwax, 15 x 0,53 mm, grosor de la película 1,00 µm, Restek Co., EEUU.) usando helio como gas portador (3,0 psi). Tras la inyección de la muestra, el horno fue calentado a 160 °C a una velocidad de 16 °C/min, seguido por un calentamiento a 220 °C a una velocidad de 20 °C/min y finalmente manteniéndolo a una temperatura de 220 °C durante 1,5 minutos. La temperatura del inyector y el detector era de 200 °C. Se usó ácido 2-etilbitírico como estándar interno. Los valores se corrigieron para dejarlos en blanco.
- 40    [0085] Los resultados se muestran en la tabla 3. La tabla 3 muestra que la fermentación de la mezcla de TOS/inulina produce una cantidad significativamente más alta de AGCC por g de fibra que los componentes sencillos.
- 45    [0086] La tabla 4 muestra la cinética de la formación de AGCC. Durante las primeras 3 horas la cantidad máxima de AGCC se forma con la mezcla de prebióticos. Es importante una fermentación rápida al comienzo del colon por causa de los efectos antipatogénicos.
- 50    [0087] La combinación de TOS/inulina HP también muestra una mayor formación de AGCC entre 24 y 48h en comparación con los componentes sencillos, indicando con esto que en la parte distal del colon todavía se forman AGCC, lo cual resulta beneficioso para la permeabilidad de colon, la integridad de la barrera intestinal, la formación mucosa y los efectos antipatogénicos.
- 55    [0088] La alta cantidad de ácidos grasos de cadena corta (tabla 3) indica una provisión suficiente de ácidos grasos de cadena corta en las partes inferiores del tracto gastrointestinal. La cantidad aumentada de ácidos grasos de cadena corta en el intervalo de tiempo 24-48 indica una cantidad relativamente aumentada de ácidos grasos de cadena corta en las partes distales del tracto gastrointestinal inferior. Ambas mediciones son indicativas de la idoneidad de la combinación de los oligosacáridos fermentables no digeribles con las cadenas de acilo graso de cadena corta presentes. Estos resultados son indicativos de los efectos beneficiosos de los oligosacáridos fermentables no digeribles,
- 60

particularmente de los galactooligosacáridos (TOS), y especialmente la combinación de oligosacáridos cortos y largos con una estructura diferente (TOS/inulina HP).

5 Tabla 3: formación de AGCC en heces infantiles (mmol por g de prebiótico), sustrato en blanco corregido, tras 48 h de fermentación in vitro

Prebióticos	SCFA (mmol/g prebiótico)			Total de AGCC
	acetato	propionato	butirato	
TOS	2.95	1.05	0.16	4.16
TOS/inulina HP	3.71	1.03	0.18	4.92
Inulina HP	1.60	0.29	1.03	2.92

10 Tabla 4: Cinética de la formación total de AGCC en heces infantiles (mmol/g de prebiótico) (sustrato en blanco corregido) Intervalo de tiempo (horas)

Prebióticos	Intervalo de tiempo (horas)		
	0-3 hrs	3-24 hrs	24-48 hrs
TOS	0.23	3.85	0.13
TOS/inulina HP	0.40	4.49	0.24
Inulina HP	0.00	3.05	0.05

15 [0089] Puede inferirse de los resultados mostrados en los ejemplos 1 y 2 que tras la administración oral de una composición que consta de triglicéridos de cadena corta y una mezcla de dos sacáridos no digeribles diferentes, los ácidos grasos de cadena corta son liberados teniendo efectos antipatogénicos en el intestino delgado y las partes proximal y distal del colon.

Ejemplo 4:

Nutrición infantil

20 [0090] Bebida, que comprende por 100 ml 67 kcal y

1.9 g proteínas:	(11,3 % en.; proteína de leche de vaca)
3,0 g grasas::	(40,3 % en.; 0,5 g grasa láctea; 1,95 g mezcla de aceite de canola y/ aceite alto oleico de girasol; 0,3 g aceite de maíz)
8,11 g carbohidratos digeribles:	(48,4 % en.; 7,8 g lactosa, 0,22 glucosa; 0,01 galactosa; 0.01 polisacáridos; 0.06 ácidos orgánicos)
0,8 g de fibra:	(0,72 g transgalactooligosacáridos (de Vivinal® GOS, Borculo Ingredients, Holanda); 0,08 g inulina de cadena larga (de Raftilin HP, Orafti, Bélgica)).
Micronutrientes:	0.89 mg zinc; 2.3 µg Se; 65 µg-ER vitamina A of which 24.6 µg-ER β-caroteno; 10 mg colina
Osmolaridad:	355 osmol/kg
Viscosidad:	3 mPa.s

25 [0091] Cadena de acilo graso (ácido graso) composición en g por 100 g de cadenas de acilo graso:

C-4:0 (butírico)	0.87	C-6:0 (caproico)	0.50
C-8:0	0.37	C-10:0	0.75

ES 2 484 798 T3

C-12:0	0.99	C-14:0	2.86
C-16:0	11.69	C-16:1n7	0.77
C-17:0	0.01	C-18:0	4.36
C-18:1n9	46.81	C-18:2n6 (linoleico)	21.74
C-18:3n3 ( $\alpha$ linolenico)	3.57	C-18:3n6	0.07
C-20:0	0.34	C-20:1n9	0.76
C-22:0	0.29	C-22:1n9	0.11
C-24:1n9	0.07		

5

REIVINDICACIONES

1. Composición líquida con una viscosidad de entre 1 y 100 mPa.s que comprende
- 5 (i) al menos una fuente de aceite vegetal;  
(ii) al menos 0.5 g de grasa por 100 ml;  
(iii) al menos 0,6% en peso de cadenas de acilo graso de cadena corta basadas en las cadenas de acilo graso totales y entre un 0,3 y un 5 % en peso de ácido butírico basado en el peso total de las cadenas de acilo graso totales  
10 (iv) al menos 7% en peso de cadenas de acilo graso poliinsaturado basadas en las cadenas de acilo graso totales; y  
(v) al menos 60 mg de sacáridos no digeribles con un grado de polimerización de 2 a 200 por 100 ml seleccionados del grupo consistente en fructo-oligosacáridos, galactooligosacáridos, galactanos y fructopolisacáridos.
2. Composición según la reivindicación 1, que contiene galactooligosacáridos.
- 15 3. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que consta al menos de 1 g de lactosa por 100 ml de composición líquida.
4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende al menos 1 g de grasa por 100 ml de composición líquida.
- 20 5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que consta de 4 a 20% en. de proteína, de 30 a 50 % en. de grasa, y de 25 a 75 % en. de carbohidratos.
- 25 6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que consta de al menos dos sacáridos no digeribles diferentes A y B, donde
- a. El sacárido no digerible A tiene un grado de polimerización de 2 a 200;  
b. El sacárido no digerible B tiene un grado de polimerización de 2 a 200; y donde
- 30 i) el porcentaje de al menos un tipo de monosacárido en el sacárido A es al menos 40 % mol mayor que el porcentaje del mismo tipo de monosacárido en el sacárido B;  
ii) el porcentaje de al menos un tipo de enlace glucosídico del sacárido A basado en los enlaces glucosídicos totales del sacárido A es al menos 40% mayor que el porcentaje del mismo tipo de enlace glucosídico en el sacárido B; y/o  
35 iii) el grado de polimerización del sacárido A es al menos 5 unidades monosacáridas inferior al grado de polimerización del sacárido B.
7. Composición según la reivindicación 6 donde el sacárido no digerible A es  $\beta$ -galactooligosacárido y el sacárido B es un sacárido no digerible seleccionado del grupo consistente en fructopolisacáridos y fructooligosacáridos.
- 40 8. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, constando además de ácido eicosapentanoico, ácido araquidónico y/o ácido docosahexaenoico.
9. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, la cual presenta una forma de composición en polvo empaquetada donde dicho paquete dispone de instrucciones para mezclar el polvo con una cantidad adecuada de líquido.
- 45 10. Uso de una composición según las reivindicaciones anteriores para la producción de una composición nutricional para su uso como método de abastecimiento nutricional para un bebé, constando dicho método de la administración de la composición por vía oral al bebé.
- 50 11. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 8 para la producción de una composición nutricional para su uso en un método para la prevención y/o tratamiento en humanos de alergias, hipersensibilidades alimentarias, dermatitis atópica, asma, eczema, infecciones gastrointestinales, diarrea, inflamación intestinal, calambres intestinales, cólicos, estreñimiento, translocación bacteriana, bacteriemia y/o sepsis, constando dicho método de la administración de la composición nutricional al sujeto humano.
- 55 12. Uso según la reivindicación 11 donde el sujeto humano es un bebé.