

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 594 855**

51 Int. Cl.:

**A23L 33/125** (2006.01)  
**A23L 33/17** (2006.01)  
**A23L 33/19** (2006.01)  
**A23L 33/00** (2006.01)  
**A61K 31/702** (2006.01)  
**A61K 35/744** (2015.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.06.2013 PCT/NL2013/050419**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.12.2013 WO13187764**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.06.2013 E 13733083 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.07.2016 EP 2827724**

54 Título: **Fórmula infantil fermentada con oligosacáridos no digeribles**

30 Prioridad:  
**14.06.2012 WO PCT/NL2012/050418**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**23.12.2016**

73 Titular/es:  
**N.V. NUTRICIA (100.0%)  
Eerste Stationsstraat 186  
2712 HM Zoetermeer, NL**

72 Inventor/es:  
**LUDWIG, THOMAS;  
HUYBERS, SYLVIE;  
ABRAHAMSE, EVAN y  
BOURITIUS, HOUKJE**

74 Agente/Representante:  
**TOMAS GIL, Tesifonte Enrique**

ES 2 594 855 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

Fórmula infantil fermentada con oligosacáridos no digeribles

## 5 Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a fórmulas nutricionales para bebés y niños pequeños y en particular se dirige a la reducción de la actividad proteolítica en el tracto intestinal, mientras que se mantiene o incluso se mejora una digestión eficaz de la proteína.

10

## Antecedentes de la invención

[0002] La digestión de las proteínas dietéticas se consigue mediante la liberación de proteasas desde el estómago y el páncreas. La liberación de proteasas está normalmente estrechamente regulada, asegurando así que no se segreguen ni demasiado pocas ni demasiado muchas enzimas proteolíticas. Esto es importante ya que una liberación alta de proteasas y una alta actividad proteolítica tiene varias desventajas. Una liberación demasiado alta de proteasas dará como resultado pérdida de energía y una pérdida de aminoácidos esenciales debido al hecho de que las propias proteasas son altamente resistentes a la actividad proteolítica y entrarán en el colon en su mayoría inalteradas. Posteriormente, con la entrada de una cantidad aumentada de proteína (en forma de proteasas) en el colon, la microbiota intestinal fermentará las proteínas que dará como resultado un pH de forma desfavorable más alto, un cambio en la composición de la microbiota intestinal y formación de metabolitos tóxicos tales como fenol, indol y aminas. Este cambio en la fisiología colónica también puede llevar a un aumento en las infecciones intestinales. Finalmente, proteasas tales como la tripsina se conocen por disociar receptores activados de proteasa (PARs), tales como PAR-II, e interrumpir así la integridad de la barrera intestinal. Esto puede suponer una percepción de dolor abdominal aumentada. Enfermedades inflamatorias tales como IBS-D y UC se han relacionado con niveles elevados de actividad proteolítica en el lumen intestinal y posterior activación de PAR-II. Además, la actividad proteolítica fecal aumentada está relacionada con las erupciones de pañal. En general, una liberación demasiado alta de proteasas dará lugar a una disminución en la comodidad gastrointestinal, trastornos de digestivos funcionales, formación de gas gastrointestinal y/o hinchamiento.

30

[0003] Una secreción demasiado baja de actividad proteolítica, por otro lado, es desventajosa dado que en este caso las proteínas dietéticas no se digieren debidamente lo que lleva también a una pérdida de aminoácidos esenciales y de energía, y un aumento de la carga de proteína del colon.

[0004] Especialmente en bebés y en niños pequeños, una regulación estricta de la digestión de proteínas y la liberación de actividad proteolítica es de máxima importancia. En primer lugar, para bebés y niños pequeños, una pérdida limitada de proteína es esencial para el buen crecimiento y desarrollo. La pérdida de aminoácidos esenciales y de energía afecta al crecimiento y al desarrollo. En segundo lugar, la función de barrera intestinal en bebés y niños pequeños sigue siendo inmadura y la microbiota intestinal está aún en desarrollo y por lo tanto es más susceptible a las desventajas mencionadas anteriormente. La percepción de dolor, por ejemplo, debido a cólicos o calambres es frecuentemente un importante motivo de preocupación y causa muchas visitas al médico y de este modo reducción del riesgo de percepción de dolor, por ejemplo se desea la prevención y/o el tratamiento de los cólicos y/o calambres.

[0005] Formas conocidas para mejorar la digestión de proteínas, en particular en bebés, implican la predigestión parcial de las proteínas dietéticas mediante las proteasas. Además, Alm, 1982, J Dairy Sci 65:509-514 divulga que un pH bajo de los productos lácteos, especialmente como resultado de la fermentación, tiene una influencia positiva en la digestibilidad *in vitro* de las proteínas. Se considera que en muchos trastornos digestivos, la secreción de ácido clorhídrico se deteriora y por lo tanto se sugiere la conveniencia de tales productos lácteos de pH bajo para bebés, niños y adultos. Vass *et al*, 1984, Acta Medica Hungarica, 41, 15-161 revelan que las leches fermentadas tienen el índice de utilización de proteína más alto, definido como aumento en la masa corporal en g por toma de proteína en g, en el destete ratas, y esto se atribuye a una mejor digestibilidad de las proteínas.

[0006] Gallia Lactofidus® es una fórmula infantil acidificada, que resulta de la fermentación mediante dos cepas específicas de bacterias de ácido láctico. Se divulga que esta fórmula facilita la digestibilidad de las proteínas y mejora el tránsito intestinal.

[0007] La WO 2009/151330 divulga una fórmula infantil fermentada con oligosacáridos no digeribles para su uso en la mejora de la colonización intestinal en bebés nacidos por cesárea.

60

[0008] La US 2011/097437 divulga composiciones nutricionales que comprenden oligosacáridos no digeribles y un sustrato proteico fermentado con *Bifidobacterium breve* y *Streptococcus thermophilus* para su uso en la reducción de la translocación bacteriana y la mejora de la función de barrera intestinal.

[0009] La US 2010/278781 divulga una proteína que comprende una composición, fermentada por *Bifidobacterium breve* y que comprende oligosacáridos no digeribles con diferentes beneficios para la salud.

65

Resumen de la invención

[0010] Los inventores han descubierto que, utilizando lechones como modelo animal, tras el consumo de una fórmula fermentada la cantidad de enzimas proteolíticas endógenas detectada en el íleon terminal se vio significativamente reducida en comparación con la cantidad detectada tras el consumo de una fórmula estándar no fermentada. Sorprendentemente, la cantidad de enzimas proteolíticas endógenas se vio también significativamente reducida en comparación con la cantidad detectada tras el consumo de una fórmula con proteínas extensivamente hidrolizada (es decir predigeridas).

[0011] Además y de forma imprevista también, la digestibilidad de proteínas aparente y real fue la máxima en los lechones que consumieron la fórmula fermentada también, aunque su ingesta de proteína diaria fue más alta. Esto es indicativo de un esfuerzo digestivo disminuido. El esfuerzo digestivo se define como la cantidad de actividad de proteasa segregada por gramo de proteína ingerida. La eficiencia digestiva se define como el valor recíproco del esfuerzo digestivo. Esto significa que a alta eficiencia digestiva (se necesita poca proteasa para asimilar la proteína ingerida) el esfuerzo digestivo es bajo.

[0012] Los inventores también descubrieron que la actividad proteolítica en las muestras fecales de bebés humanos exclusivamente amamantados fue inferior a la de los bebés alimentados con una fórmula estándar. Cuando la fórmula administrada a los bebés humanos comprendía oligosacáridos no digeribles la actividad proteolítica en las muestras fecales fue inferior con valores similares a los observados para los bebés humanos amamantados.

[0013] Así, tras alimentar una proteína que comprende la fórmula fermentada, la liberación de proteasa endógena, el esfuerzo digestivo, la pérdida de proteína endógena en el intestino delgado y la carga de proteína que entra en el colon se ven ventajosamente reducidos. La presencia adicional de oligosacáridos no digeribles reduce la actividad proteolítica de la microbiota en el colon. Por lo tanto, una fórmula para bebé o niño que sea fermentada y que comprenda oligosacáridos no digeribles tendrá un efecto más mejorado en la reducción de la fermentación de la proteína y la actividad proteolítica en el colon. Además, una fórmula para bebé o niño que sea fermentada y que comprenda oligosacáridos no digeribles tendrá un efecto beneficioso con respecto a la reducción de la actividad proteolítica a lo largo del tracto intestinal entero, es decir tanto el delgado como el grueso. Por lo tanto, una fórmula fermentada que comprenda oligosacáridos no digeribles se usa ventajosamente como nutrición para bebés o niños pequeños para su uso en la mejorar de la eficiencia de la digestión de proteínas.

[0014] El hallazgo de que la eficiencia de la digestión de proteínas se aumenta, y la pérdida de la proteína endógena se disminuye también permite ventajosamente la formulación de una fórmula infantil [o de niño] con concentraciones de proteína inferiores que la usada hasta el momento.

Descripción detallada de la invención

[0015] La presente invención se refiere a un método no terapéutico, para aumentar la eficiencia de la digestión de proteínas, en un sujeto humano con una edad de 0 a 36 meses, el método comprende la administración de una composición nutricional que comprende:

- proteína en una cantidad de 5 a 20 % en peso basado en el peso en seco de la composición nutricional, y en una cantidad de 1,6 a 4,0 g por 100 kcal,
- oligosacáridos no digeribles en una cantidad de 0,5 a 20 % en peso basado en el peso en seco de la composición nutricional,
- al menos 10 % en peso basado en el peso en seco de la composición nutricional de una proteína que comprende la composición fermentada por bacterias de ácido láctico, y
- 0,10 a 1,5 % en peso de la suma de lactato y ácido láctico basado en el peso en seco de la composición nutricional y donde la suma de ácido L-láctico y L-lactato es más del 50 % en peso basado en la suma del ácido láctico total y lactato, al sujeto humano con una edad de 0 a 36 meses.

[0016] El aumento de la eficiencia de la digestión de proteínas se compara con el efecto de una composición nutricional que no comprende una composición que comprende proteína fermentada por bacterias de ácido láctico y oligosacáridos no digeribles.

[0017] La invención también concierne una composición nutricional que comprende proteína, lípidos, carbohidratos digeribles y oligosacáridos no digeribles, donde la proteína está presente en una cantidad de 5 a 20 % en peso basado en el peso en seco de la composición nutricional y en una cantidad de 1,6 a 2,0 g por 100 kcal, donde los lípidos están presentes en una cantidad de 3 a 7 g por 100 kcal, donde los carbohidratos digeribles están presentes en una cantidad de 5 a 20 g por 100 kcal, donde los oligosacáridos no digeribles están presentes en una cantidad de 0,5 a 20 % en peso basado en el peso en seco de la composición nutricional, además caracterizada en que la composición nutricional comprende al menos 10 % en peso basado en el peso en seco de la composición nutricional de una proteína que comprende la composición fermentada por bacterias de ácido láctico, y caracterizada por el hecho de que la composición nutricional comprende de 0,10 a 1,5 % en peso de la suma de lactato y ácido láctico

basado en el peso en seco de la composición nutricional y donde la suma de ácido L-láctico y L-lactato es más del 50 % en peso basado en la suma de ácido láctico y lactato total.

5 [0018] La invención también se refiere a una composición nutricional según la presente invención para su uso en la provisión de nutrición a un sujeto humano con una edad de 0 a 36 meses.

10 [0019] Preferiblemente según la presente invención la composición nutricional tiene una viscosidad cuando se administra parecida a la de la leche humana. Así, en una forma de realización según la presente invención, la composición nutricional no comprende un espesante, preferiblemente no comprende un espesante seleccionado del grupo que consiste en goma garrofín, tara chicle, goma tragacanto, goma guar y goma de alholva, preferiblemente no comprende ninguno de goma garrofín, goma tara, goma tragacanto, goma guar o goma alholva.

15 [0020] En aras de la claridad, cabe destacar que la "composición nutricional" mencionada anteriormente se refiere a la composición nutricional final que ha de ser ingerida o administrada y la "composición que comprende proteína fermentada por bacteria de ácido láctico" está comprendida en la composición nutricional. La composición nutricional se puede denominar también "composición nutricional final" o "composición nutricional total". La "composición que comprende proteína fermentada por la bacteria del ácido láctico" también se puede denominar "composición fermentada que comprende proteína" o "ingrediente fermentado". También, además por motivos de claridad, cabe destacar que la parte de "proteína" de la "composición que comprende proteína fermentada por la bacteria del ácido láctico" está comprendida en el "5 a 20% en peso de la proteína" de la composición nutricional.

20 [0021] El término "composición nutricional" usado en toda esta descripción, es decir, la composición nutricional final que se debe ingerir o administrar, también se refiere a la "composición nutricional para un sujeto humano con una edad comprendida entre 0 y 36 meses" especificada anteriormente. Un sujeto humano con una edad de 0 a 36 meses incluye bebés y niños pequeños y entonces también puede denominarse un bebé o un niño. Además cabe señalar que en cualquier parte de la redacción de la presente descripción en la que se use "la presente composición nutricional" o "composición nutricional según la (presente) invención", también se refiere a los métodos y usos según la presente invención.

30 Ingrediente fermentado

[0022] La fermentación es el proceso de derivar energía a partir de la oxidación de carbohidratos, como la lactosa presente en la leche, utilizando un aceptor de electrones endógeno, que es normalmente un mineral orgánico. Esto contrasta con la respiración celular, donde los electrones se donan a un aceptor de electrones exógeno, tal como oxígeno, a través de una cadena de transporte de electrones.

40 [0023] En la presente invención, la fermentación de un producto derivado de la leche por bacterias productoras de ácido láctico tiene el significado común de la conversión de carbohidratos presentes en el producto derivado de la leche en ácidos orgánicos. Estos ácidos orgánicos formados pueden comprender, además de ácido láctico, también otros ácidos orgánicos tales como acetato. El carbohidrato que es fermentado es preferiblemente lactosa.

45 [0024] Las bacterias de ácido láctico también se denominan bacterias productoras de ácido láctico e incluyen bacterias del género *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus* y *Bifidobacterium*.

50 [0025] La presente composición nutricional comprende una proteína que comprende composición fermentada por bacterias de ácido láctico. La presente composición nutricional preferiblemente comprende una proteína derivada de la leche fermentada que comprende composición. Esta proteína derivada de la leche fermentada que comprende composición se obtiene por incubación de una combinación de leche, por ejemplo, leche desnatada, o un producto derivado de la leche, por ejemplo, suero de leche, con al menos una cepa de bacteria de ácido láctico, tal como lactococci, lactobacilli, streptococci y bifidobacteria, preferiblemente la proteína derivada de la leche fermentada que comprende composición se obtiene por incubación con al menos una cepa seleccionada de *lactococci*, *lactobacilli* y *streptococci*, preferiblemente con al menos una cepa seleccionada de *streptococci*. Preferiblemente, bacterias de ácido láctico que realizan fermentación homoláctica se usan para la fermentación, ya que en este caso dos ácidos lácticos se producen por unidad de azúcar y no se forma ningún gas. Las bacterias de ácido láctico homolácticas incluyen *Streptococcus thermophilus*, las especies de *Lactococcus*, preferiblemente *Lactococcus lactis* y lactobacilos del grupo I, tales como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus* y *Lactobacillus salivarius* y opcionalmente lactobacilos heterofermentadores que producen dos ácidos lácticos a partir de azúcares de hexosa, y que incluyen *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus Sakei*. Así, en una forma de realización, preferiblemente la proteína derivada de la leche fermentada que comprende composición se obtiene por incubación de una combinación de leche, por ejemplo leche desnatada, o un producto derivado de la leche, por ejemplo suero de leche, con al menos una cepa seleccionada de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus Sakei*, preferiblemente la proteína derivada de la leche fermentada que comprende composición se obtiene por incubación con *Streptococcus thermophilus*. Preferiblemente, la combinación se incuba durante 10 minutos a aproximadamente

6 horas. La temperatura durante la incubación es preferiblemente entre 20 y 50 °C. En una forma de realización, tras la incubación, la composición incubada se somete preferiblemente a un tratamiento térmico. Por este tratamiento térmico, preferiblemente al menos 90 % de los microorganismos vivos son inactivados, más preferiblemente al menos 95 %. Preferiblemente la composición nutricional fermentada comprende menos de  $1 \cdot 10^5$  unidades formadoras de colonias (ufc) bacterias de ácido láctico vivas /g peso en seco. El tratamiento térmico se realiza preferiblemente a una temperatura entre 80 y 180 °C. La inactivación de la bacteria de ácido láctico ventajosamente produce menos postacidificación y un producto más seguro. Esto es especialmente ventajoso cuando la composición nutricional debe ser administrada a bebés o niños pequeños. Procedimientos para preparar ingredientes fermentados adecuados para los fines de la presente invención son conocidos de por sí. La EP 778885, que se incorpora aquí por referencia, divulga en particular en el ejemplo 7 un proceso adecuado para la preparación de una composición fermentada. La FR 2723960, que se incorpora aquí por referencia, divulga en particular en el ejemplo 6 un proceso adecuado para la preparación de una composición fermentada.

[0026] Brevemente, un producto derivado de la leche, preferiblemente pasteurizado, que contiene lactosa y opcionalmente otros macronutrientes tales como grasas, grasas preferiblemente vegetales, caseína, proteína de suero de la leche, vitaminas y/o minerales etc. es concentrada, por ejemplo entre 15 a 50% de sustancia seca y luego inoculada con *S. thermophilus*, por ejemplo con 5% de un cultivo que contiene  $10^6$  a  $10^{10}$  bacterias por ml. Preferiblemente este producto derivado de la leche comprende péptidos de proteína de la leche. La temperatura y duración de la fermentación son como se ha mencionado anteriormente. Adecuadamente, después de la fermentación, la proteína fermentada que comprende la composición se puede pasteurizar o esterilizar y por ejemplo secar por atomización o liofilizar para proporcionar una forma adecuada para ser formulada en el producto final.

[0027] Las cepas bacterianas de *S. thermophilus* que se usan preferiblemente para preparar la composición que comprende la proteína fermentada para fines de la presente invención que comprende la composición se pueden pasteurizar o esterilizar y por ejemplo secar por atomización o liofilizar para proporcionar una forma adecuada para ser formulada en el producto final.

[0028] Las cepas bacterianas de *S. thermophilus* que son preferiblemente usadas para preparar la composición que comprende la proteína fermentada para fines de la presente invención desarrollan actividad de beta-galactosidasa en el curso de fermentación del sustrato. Preferiblemente, la actividad de beta-galactosidasa se desarrolla en paralelo con acidez. La selección de una cepa adecuada de *S. thermophilus* se describe en el ejemplo 2 de la EP 778885 y en el ejemplo 1 de la FR 2723960. Se prefiere que en la composición nutricional según la invención y en su uso haya al menos parte de la actividad de beta-galactosidasa que se ha desarrollado mientras la fermentación se ha retenido. referiblemente, al menos parte de la actividad de la beta-galactosidasa que es retenida es actividad de lactasa. Tras la digestión en el sujeto humano, la actividad de lactasa en la composición nutricional tiene un efecto beneficioso en la mejora de la salud del tracto intestinal. Preferiblemente, según la presente invención, por gramo de peso en seco la composición nutricional comprende 0,3 - 4 U de actividad de beta-galactosidasa, preferiblemente la composición nutricional comprende 0,3 - 4 U por gramo de peso en seco de actividad de lactasa. En otra forma de realización preferida según la presente invención, la composición nutricional comprende  $10^2$ - $10^5$  ufc de bacterias vivas de *S. thermophilus* por gramo de peso en seco de la composición nutricional, preferiblemente la composición nutricional comprende  $10^2$ - $10^4$  bacterias vivas de *S. thermophilus* por gramo de peso en seco de la composición nutricional.

[0029] Cepas preferidas de *S. thermophilus* para preparar la composición fermentada que comprende proteína, preferiblemente composición que comprende proteína derivada de la leche fermentada para fines de la presente invención han sido depositadas por la Compagnie Gervais Danone en la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM) dirigida por el Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, París, Francia el 23 de agosto de 1995 bajo el número de registro I-1620 y el 25 de agosto de 1994 bajo el número de registro I-1470.

[0030] Preferiblemente, en la preparación de la composición fermentada que comprende proteína adicionalmente otras cepas de bacterias de ácido láctico están presentes o, bien simultáneamente o consecutivamente, la composición es adicionalmente fermentada por otras cepas de bacterias de ácido láctico. Otras cepas de bacterias de ácido láctico son preferiblemente seleccionadas del grupo que consiste en *Lactobacillus* y *Bifidobacteria*, más preferiblemente *Bifidobacterium breve*, de la forma más preferible la cepa de *Bifidobacterium breve* depositada por la Compagnie Gervais Danone en la CNCM bajo el número 1-2219 el 31 de mayo de 1999. En una forma de realización, la composición que comprende proteína fermentada por bacterias de ácido láctico, incluía *Streptococcus thermophilus* y / o *Bifidobacterium breve*.

[0031] En una forma de realización, la composición que comprende proteína fermentada por bacterias de ácido láctico, es fermentada por *Streptococcus thermophilus* y/o *Bifidobacterium breve*.

[0032] En una forma de realización, la composición nutricional comprende composición que comprende proteína fermentada por bacterias de ácido láctico donde las bacterias de ácido láctico son inactivadas después de la fermentación.

[0033] Preferiblemente la presente composición fermentada que comprende proteína no es fermentada *Lactobacillus bulgaricus*. Productos fermentados por *L. bulgaricus* son considerados no adecuados para bebés, ya que en los niños pequeños la deshidrogenasa específica que convierte D-lactato en piruvato es mucho menos activa que la deshidrogenasa que convierte L-lactato.

5 [0034] La composición fermentada que comprende proteína comprende proteína. La proteína es preferiblemente seleccionada del grupo que consiste en proteínas animales no humanas, preferiblemente proteínas de la leche. La composición fermentada que comprende proteína contiene preferiblemente caseína, y/o proteína de suero de la leche, más preferiblemente proteínas de suero de leche bovina y/o caseína bovina. La composición fermentada que  
10 comprende proteína preferiblemente comprende caseína y proteínas de suero de leche en una proporción en peso caseína:proteína de suero de 10:90 a 90:10, más preferiblemente de 20:80 a 80:20, aún más preferiblemente de 35:65 a 55:45.

15 [0035] La composición fermentada que comprende proteína comprende proteína preferiblemente proporcionando de 1,25 a 4 g por 100 kcal de la composición fermentada que comprende proteína, preferiblemente proporcionando de 1,5 a 3 g, aún más preferible de 1,7 a 2,5 g por 100 kcal. Cuando está en forma líquida, la composición fermentada que comprende proteína preferiblemente comprende de 0,5 a 6,0 g, más preferiblemente de 1,0 a 3,0 g, aún más preferiblemente de 1,0 a 1,5 g de proteína por 100 ml, de la forma más preferible de 1,0 a 1,3 g de proteína por 100 ml.

20 Basado en peso en seco la presente composición fermentada que comprende proteína preferiblemente comprende de 5 a 20 % en peso de proteína, preferiblemente al menos 8 % en peso, más preferiblemente de 8 a 14 % en peso de proteína, aún más preferiblemente de 8 a 9,5 % en peso basado en el peso en seco de la composición fermentada que comprende proteína. Proteína y carbohidratos se considera que tienen una densidad calórica de 4 kcal/g, grasa de 9 kcal/g y oligosacáridos no digeribles 2 kcal/g.

25 [0036] La presente composición nutricional preferiblemente comprende de 10 a 100 % en peso de la composición que comprende proteína fermentada por bacterias de ácido láctico, preferiblemente una composición derivada de la leche fermentada que comprende proteína, basado en peso en seco de la composición nutricional total. En una forma de realización, la presente composición nutricional contiene preferiblemente de 15 a 70 % en peso, preferiblemente de 15 a 50 % en peso, basado en el peso en seco de la composición nutricional final de la composición que comprende proteína fermentada por bacterias de ácido láctico. Concentraciones más altas de composición fermentada que comprende proteína ventajosamente mejora la eficiencia de digestión de la proteína.

35 [0037] El pH de la presente composición nutricional está preferiblemente entre 5,0 y 7,5, más preferiblemente entre 5,0 y 7,0, aún más preferiblemente entre 5,0 y 6,0, de la forma más preferible entre 5,5 y 6,0. Preferiblemente la presente composición nutricional es un líquido con un pH de 5,5 a 6,0. La presente composición nutricional comprende ácido láctico y/o lactato. Ácido láctico y/o lactato se forma tras la fermentación por bacterias de ácido láctico. Preferiblemente la presente composición nutricional comprende entre 0,1 y 1,5 % en peso de ácido láctico y/o lactato, más preferiblemente entre 0,2 y 1,0 % en peso, basado en el peso en seco de la composición nutricional.  
40 Cuanto más lactato esté presente más comprenderá la composición nutricional de la composición fermentada que comprende proteína. Preferiblemente al menos 50 % en peso, aún más preferiblemente al menos 90 % en peso, de la suma de ácido láctico y lactato está en forma de L-isómero. Así, en una forma de realización la suma de ácido L-láctico y L-lactato es más de 50 % en peso, más preferiblemente más de 90 % en peso, basado en la suma de ácido láctico y lactato total. L-lactato y ácido L-láctico es lo mismo que L-(+)-lactato y ácido L-(+) láctico.

45 [0038] En una forma de realización, la composición nutricional para bebés o niños pequeños comprende de 0,10 a 1,5 % en peso de la suma de lactato y ácido láctico basado en el peso en seco de la composición nutricional y donde la suma de ácido L-láctico y L-lactato es más del 50 % en peso basado en la suma de ácido láctico y lactato total.

50 Componente de proteína

[0039] La presente composición nutricional comprende un componente de proteína. La proteína usada en la composición nutricional es preferiblemente seleccionada del grupo que consiste en proteínas de animal no humano, preferiblemente proteínas de leche, proteínas vegetales, tal como preferiblemente proteína de soja y/o proteína de arroz, y sus mezclas derivadas. La presente composición nutricional contiene preferiblemente caseína, y/o proteína de suero de la leche, más preferiblemente proteínas de suero de leche bovina y/o caseína bovina. Así en una forma de realización, el componente de proteína comprende proteína seleccionada del grupo que consiste en proteína de suero de leche y caseína, preferiblemente proteína de suero de leche y caseína, preferiblemente la proteína de suero de leche y/o la caseína son de leche de vaca. Preferiblemente la proteína comprende menos del 5 % en peso basado en la proteína total de aminoácidos libres, dipéptidos, tripéptidos o proteína hidrolizada. La presente composición nutricional preferiblemente comprende caseína y proteínas de suero de leche en una proporción en peso caseína:proteína de suero de 10:90 a 90:10, más preferiblemente de 20:80 a 80:20, aún más preferiblemente de 35:65 a 55:45.

65 [0040] El % en peso basado en peso en seco de proteína de la presente composición nutricional se calcula según el método Kjeldahl midiendo el nitrógeno total y utilizando un factor de conversión de 6,38 en el caso de la caseína, o

un factor de conversión de 6,25 para otras proteínas diferentes de la caseína. El término "proteína" o "componente de proteína" como se usa en la presente invención se refiere a la suma de las proteínas, péptidos y aminoácidos libres.

5 [0041] En el presente método no terapéutico, la composición nutricional comprende proteína que proporciona de 1,6 a 4,0 g de proteína por 100 kcal de la composición nutricional, preferiblemente que proporciona de 1,6 a 3,5 g, aún más preferiblemente de 1,75 a 2,5 g por 100 kcal de la composición nutricional. En una forma de realización, la presente composición nutricional comprende proteína que proporciona de 1,6 a 2,1 g de proteína por 100 kcal de la composición nutricional, preferiblemente que proporciona de 1,6 a 2,0 g, más preferiblemente 1,75 a 2,1 g, aún más  
10 que proporciona de 1,75 a 2,0 g por 100 kcal de la composición nutricional. En una forma de realización, la composición nutricional para bebés o niños pequeños según la invención comprende proteína preferiblemente en una cantidad inferior a 2,0 g por 100 kcal, preferiblemente proporcionando de 1,6 a 1,9 g, aún más preferiblemente de 1,75 a 1,85 g por 100 kcal de la composición nutricional. Un contenido de proteína demasiado bajo basado en las calorías totales supondrá un crecimiento y un desarrollo menos adecuado en bebés y niños pequeños. Cuando está  
15 en forma líquida, por ejemplo como un líquido listo para tomar, la composición nutricional preferiblemente comprende de 0,5 a 6,0 g, más preferiblemente de 1,0 a 3,0 g, aún más preferiblemente de 1,0 a 1,5 g de proteína por 100 ml, de la forma más preferible de 1,0 a 1,3 g de proteína por 100 ml. Basada en peso en seco, la presente composición nutricional comprende de 5 a 20 % en peso de proteína, preferiblemente al menos 8 % en peso basado en peso en seco de proteína de la composición nutricional total, más preferiblemente de 8 a 14 % en peso, aún más  
20 preferiblemente de 8 a 9,5 % en peso basado en peso en seco de la proteína de la composición nutricional total.

[0042] Dado que el uso de la presente composición nutricional produce una eficiencia de digestión de proteína aumentada y un esfuerzo digestivo de la proteína reducido, la cantidad de proteína basada en las calorías totales, basada en 100 ml o basada en peso en seco de la composición ventajosamente puede ser inferior a la de fórmulas  
25 infantiles estándar. Actualmente, la concentración de proteína en fórmulas infantiles es superior a la de la leche humana, para asegurar una ingesta adecuada de aminoácidos esenciales. Una concentración de proteína aumentada sin embargo, tiene desventajas tal y como se menciona en la sección "aplicación", impone una carga más pesada en los riñones de los bebés y también está correlacionada con la obesidad y otros efectos adversos en la salud más adelante en la vida. El término "proteína" o "componente de proteína" como se usa en la presente  
30 invención se refiere a la suma de las proteínas, péptidos y aminoácidos libres.

#### Oligosacáridos no digeribles

[0043] La presente composición nutricional comprende oligosacáridos no digeribles. Se descubrió que los oligosacáridos no digeribles reducen la actividad proteolítica en el colon. Ventajosamente y además se prefieren, los oligosacáridos no digeribles son hidrosolubles (según el método en descrito en L. Prosky *et al*, J. Assoc. Anal. Chem 71: 1017-1023, 1988) y son preferiblemente oligosacáridos con un grado de polimerización (DP) de 2 a 200. El DP medio de los oligosacáridos no digeribles está preferiblemente por debajo de 200, más preferiblemente por debajo de 100, aún más preferiblemente por debajo de 60, de la forma más preferible por debajo de 40. Los oligosacáridos  
35 no digeribles no se digieren en el intestino por la acción de enzimas digestivas presentes en el tracto digestivo superior humano (intestino delgado y estómago). Los oligosacáridos no digeribles son fermentados por la microbiota intestinal humana. Por ejemplo, glucosa, fructosa, galactosa, sacarosa, lactosa, maltosa y maltodextrinas son consideradas digeribles. Las materias primas de oligosacáridos pueden comprender monosacáridos tales como glucosa, fructosa, fucosa, galactosa, ramnosa, xilosa, ácido glucurónico, GalNac etc., pero estos no son parte de los  
40 oligosacáridos como en la presente invención.

[0044] Los oligosacáridos no digeribles incluidos en las composiciones nutricionales y métodos según la presente invención preferiblemente incluyen una mezcla de oligosacáridos no digeribles. Mezclas de oligosacáridos no digeribles fueron descubiertas para además reducir la actividad proteolítica en el colon.  
50

[0045] Los oligosacáridos no digeribles son preferiblemente seleccionados del grupo que consiste en fructooligosacáridos, tales como inulina, dextrinas no digeribles, galacto-oligosacáridos, tales como transgalacto-oligosacáridos, xilo-oligosacáridos, arabino-oligosacáridos, arabinogalacto-oligosacáridos, gluco-oligosacáridos, gentio-oligosacáridos, glucomano-oligosacáridos, galctomano-oligosacáridos, manano-oligosacáridos, isomalto-oligosacáridos, nigero-oligosacáridos, glucomano-oligosacáridos, quito-oligosacáridos, oligosacáridos de soja, oligosacáridos de ácido urónico, sialiloligosacáridos, tales como 3-sialilactosa (3-SL), 6-SL, lactosialiliterasacárido (LST) a,b,c, disialilactoNtetraosa (DSLNT), sialil-lactoNhexaosa (S-LNH), DS-LNH, y fuco-oligosacáridos, tales como oligosacáridos de fucoidano (no)sulfatados, 2'-fucosilactosa (2'-FL), 3-FL, difucosilactosa, lacto-N-fucopenatosa, (LNFP) I, II, III, V, Lacto-N-neofucopenaosa (LNnFP), Lacto-N-difucosil-hexaosa (LNDH), y sus mezclas derivadas, aún más preferiblemente seleccionados del grupo que consiste en fructo-oligosacárido, tal como inulina, galacto-oligosacárido, tal como transgalacto-oligosacárido, oligosacárido de ácido urónico y fuco-oligosacárido y sus mezclas derivadas, aún más preferiblemente transgalacto-oligosacárido, inulina y/o oligosacáridos de ácido urónico, de la forma más preferible transgalacto-oligosacáridos. En una forma de realización de la composición o métodos según la presente invención, los oligosacáridos no digeribles son seleccionados del grupo que consiste en transgalacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos de ácido galacturónico y mezclas de los mismos.  
65

- 5 [0046] Los oligosacáridos no digeribles son preferiblemente seleccionados del grupo que consiste en  $\alpha$ -galacto-oligosacárido,  $\beta$ -galacto-oligosacárido, y galactano. Según una forma de realización más preferida, oligosacáridos no digeribles son  $\beta$ -galacto-oligosacárido. Preferiblemente, los oligosacáridos no digeribles comprenden galacto-oligosacáridos con  $\beta(1,4)$ ,  $\beta(1,3)$  y/o  $\beta(1,6)$  enlaces glicosídicos y una glucosa terminal. Transgalacto-oligosacárido está por ejemplo disponible bajo el nombre comercial Vivinal®GOS (Borculo Domo Ingredients, Zwolle, Países Bajos), Bi2muno (Clasado), Cup-oligo (Nissin Sugar) y Oligomate55 (Yakult).
- 10 [0047] Los oligosacáridos no digeribles preferiblemente comprenden fructo-oligosacáridos. Un fructo-oligosacárido puede en otro contexto tener nombres tales como fructopolisacáridos, oligofructosa, polifructosa, polifructano, inulina, levano y fructano y puede denominarse oligosacáridos que comprenden unidades de fructosa  $\beta$ -enlazadas, que están preferiblemente enlazados por  $\beta(2,1)$  y/o  $\beta(2,6)$  enlaces glicosídicos, y un preferible con un DP entre 2 y 200. Preferiblemente, el fructo-oligosacárido contiene una  $\beta(2,1)$  glucosa enlazada glicosídica terminal. Preferiblemente, el fructo-oligosacárido contiene al menos 7 unidades de fructosa  $\beta$ -enlazada. En otra forma de realización preferida se usa inulina. La inulina es un tipo de fructo-oligosacárido donde al menos 75% de los enlaces glicosídicos son  $\beta(2,1)$  enlaces. Típicamente, la inulina tiene una longitud de cadena media entre 8 y 60 unidades de monosacáridos. Un fructo-oligosacárido adecuado para su uso en las composiciones de la presente invención está comercialmente disponible bajo el nombre comercial Raftiline®HP (Orafti). Otras fuentes adecuadas son raftilosa (Orafti), fibulosa y fibulina (Cosucra) y Frutafit y frutalosa (Sensus).
- 15 [0048] Preferiblemente la mezcla de galactooligosacáridos y fructooligosacáridos está presente en una proporción en peso de 1/99 a 99/1, más preferiblemente de 1/19 a 19/1, aún más preferiblemente de 1 a 19/1. Esta proporción en peso es particularmente ventajosa cuando el oligosacárido no digerible A tiene un DP bajo y el oligosacárido no digerible B tiene un DP relativamente alto.
- 20 [0049] Preferiblemente la mezcla de fructooligosacáridos de cadena corta y fructooligosacáridos de cadena larga está presente en una proporción en peso de 1/99 a 99/1, más preferiblemente de 1/19 a 19/1, aún más preferiblemente de 1 a 19/1.
- 25 [0050] En una forma de realización más preferida, la presente composición nutricional comprende además oligosacáridos de ácido urónico. El término oligosacárido de ácido urónico, como se usa en la presente invención, se refiere a un oligosacárido donde al menos 50% en número de las unidades de monosacáridos presentes en el oligosacárido es uno seleccionado del grupo que consiste en ácido gulurónico, ácido manurónico, ácido galacturónico, ácido idurónico, ácido riburónico y ácido glucurónico. En una forma de realización preferida, el oligosacárido de ácido urónico comprende al menos 50 % en número de ácido galacturónico basado en unidades de ácido urónico totales en el oligosacárido de ácido urónico. Los oligosacáridos de ácido urónico usados en la invención se obtienen preferiblemente a partir de la degradación de pectina, pectato, alginato, condroitina, ácidos hialurónicos, heparina, heparano, carbohidratos bacterianos, y/o sialoglicanos, más preferiblemente de pectina y/o alginato, aún más preferiblemente de pectina, de la forma más preferible ácido poligalacturónico. Preferiblemente, la pectina degradada se prepara por hidrólisis y/o beta-eliminación de fruta y/o pectinas vegetales, más preferiblemente pectina de manzana, cítricos y/o remolacha azucarera, aún más preferiblemente pectina de manzana, cítricos y/o remolacha azucarera degradada por al menos una liasa. Preferiblemente, el oligosacárido no digerible es oligosacárido de ácido galacturónico.
- 30 [0051] En una forma de realización preferida, al menos una de las unidades de ácido urónico terminal del oligosacárido de ácido urónico tiene un enlace doble. El enlace doble protege eficazmente contra la fijación de bacterias patógenas a las células epiteliales intestinales. Esto es ventajoso para bebés y niños pequeños. Preferiblemente, una de las unidades de ácido urónico terminales comprende el enlace doble en C4-C5. El enlace doble en la unidad de ácido urónico terminal se puede obtener por ejemplo por hidrólisis enzimática de pectina con liasa. El oligosacárido de ácido urónico puede ser derivatizado. El oligosacárido de ácido urónico puede ser metoxilado y/o amidado.
- 35 [0052] Preferiblemente, la presente composición nutricional comprende los oligosacáridos no digeribles transgalacto-oligosacárido, fructo-oligosacárido y un producto de la degradación de pectina.
- 40 [0053] La proporción en peso transgalacto-oligosacárido fructo-oligosacárido producto de la degradación de pectina es preferiblemente (20 a 2): 1: (1 a 3), más preferiblemente (12 a 7): 1: (1 a 2).
- 45 [0054] Preferiblemente, la presente invención se refiere a una composición nutricional, donde el oligosacárido no digerible es seleccionado del grupo que consiste en fructo-oligosacárido, galacto-oligosacárido y oligosacárido de ácido urónico, donde el oligosacárido de ácido urónico es preferiblemente oligosacárido de ácido galacturónico.
- 50 [0055] Se prefiere una mezcla de transgalacto-oligosacárido con un DP medio por debajo de 10, preferiblemente por debajo de 6 y un fructo-oligosacárido con un DP medio por debajo de 10, preferiblemente por debajo de 6. Se prefiere mejor una mezcla de fructo-oligosacárido con un DP medio por debajo de 10, preferiblemente por debajo de 6 y un fructo-oligosacárido con un DP medio por encima de 7, preferiblemente por encima de 11, aún más
- 55
- 60
- 65

preferiblemente por encima de 20. Tal mezcla reduce sinérgicamente la fermentación de proteína colónica y la actividad proteolítica.

5 [0056] Se prefiere mejor una mezcla de transgalacto-oligosacárido con un DP medio por debajo de 10, preferiblemente por debajo de 6 y un fructo-oligosacárido con un DP medio por encima de 7, preferiblemente por encima de 11, aún más preferiblemente por encima de 20. Tal mezcla reduce sinérgicamente la fermentación de proteína colónica y la actividad proteolítica.

10 [0057] La presente composición nutricional preferiblemente comprende de 0,5 a 20 % en peso de oligosacárido no digerible total, más preferiblemente de 1 a 10 % en peso, aún más preferiblemente de 2 a 10 % en peso, de la forma más preferible de 2,0 a 7,5 % en peso, basado en el peso en seco de la presente composición. Basado en 100 ml la presente composición enteral preferiblemente comprende de 0,1 a 2,5 % en peso de oligosacárido no digerible total, más preferiblemente de 0,2 a 1,5 % en peso, aún más preferiblemente de 0,4 a 1,5 % en peso, basado en 100 ml de la presente composición.

15 Composición nutricional

20 [0058] La presente composición nutricional es preferiblemente especialmente adecuada para proporcionar los requisitos nutricionales diarios completos a un sujeto humano con una edad inferior a los 36 meses, más preferiblemente un bebé humano. La presente composición nutricional no es un yogur, ya que el yogur contiene por convenio *L. bulgaricus* (Norma del Codex para leches fermentadas Codex Stan 243-2003).

25 [0059] La presente composición nutricional comprende un componente de carbohidratos digerible. Los componentes de carbohidratos digeribles preferidos son lactosa, glucosa, sacarosa, fructosa, galactosa, maltosa, almidón y maltodextrina. La lactosa es el carbohidrato digerible principal presente en la leche humana. La presente composición nutricional preferiblemente comprende lactosa. Como la presente composición nutricional comprende una composición que comprende proteína fermentada por bacterias de ácido láctico, la cantidad de lactosa se reduce en comparación con su fuente debido a la fermentación por la cual la lactosa se convierte en lactato y/o ácido láctico. Por lo tanto, en la preparación de la presente composición nutricional se añade preferiblemente lactosa. Preferiblemente la presente composición nutricional no comprende altas cantidades de carbohidratos que no sean lactosa. En comparación con los carbohidratos digeribles tales como maltodextrina, sacarosa, glucosa, maltosa y otros carbohidratos digeribles con un índice glucémico alto, la lactosa tiene un índice glucémico inferior y es por lo tanto preferida. La presente composición nutricional preferiblemente comprende carbohidrato digerible, donde al menos 35 % en peso, más preferiblemente al menos 50 % en peso, más preferiblemente al menos 60 % en peso, más preferiblemente al menos 75 % en peso, aún más preferiblemente al menos 90 % en peso, de la forma más preferible al menos 95 % en peso del carbohidrato digerible es lactosa. Basado en el peso en seco, la presente composición nutricional preferiblemente comprende al menos 25 % en peso de lactosa, preferiblemente al menos 40 % en peso, más preferiblemente al menos 50 % en peso de lactosa. Ventajosamente, la presente composición nutricional es relativamente baja en proteína y relativamente alta en lactosa. Así, en una forma de realización, preferiblemente la presente composición nutricional comprende

45 [0060] de 1,6 a 2,0 g de proteína por 100 kcal de la composición nutricional y el componente de carbohidrato digerible comprende al menos 60 % en peso de lactosa basado en el carbohidrato digerible total, más preferiblemente al menos 75 % en peso, aún más preferiblemente al menos 90 % en peso de lactosa basado en el carbohidrato digerible total.

50 [0061] Cuando está en forma líquida, por ejemplo como un líquido listo para tomar, la composición nutricional preferiblemente comprende de 3,0 a 30 g de carbohidratos digeribles por 100 ml, más preferiblemente de 6,0 a 20, aún más preferiblemente de 7,0 a 10,0 g por 100 ml. Basada en el peso en seco, la presente composición nutricional preferiblemente comprende de 20 a 80 % en peso, más preferiblemente de 40 a 65 % en peso de carbohidratos digeribles. Basada en las calorías totales, la composición nutricional comprende de 5 a 20 g de carbohidratos digeribles por 100 kcal, más preferiblemente de 8 a 15 g.

55 [0062] La presente composición nutricional comprende un componente lipídico. El componente lipídico de la presente composición nutricional proporciona de 3 a 7 g por 100 kcal de la composición nutricional, preferiblemente el componente lipídico proporciona de 4 a 6 g por 100 kcal. Cuando está en forma líquida, por ejemplo como un líquido listo para comer, la composición nutricional preferiblemente comprende de 2,1 a 6,5 g de lípidos por 100 ml, más preferiblemente de 3,0 a 4,0 g por 100 ml. Basada en el peso en seco, la presente composición nutricional preferiblemente comprende de 12,5 a 40 % en peso de lípidos, más preferiblemente de 19 a 30 % en peso.

60 [0063] Preferiblemente el componente lipídico comprende ácido alfa-linolénico (ALA) de ácidos grasos esenciales, ácido linoleico (LA) y/o ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA). Los LC-PUFA, LA y/o ALA se puede proporcionar como ácidos grasos libres, en forma de triglicéridos, en forma de diglicéridos, en forma de monoglicéridos, en forma de fosfolípidos, o como una mezcla de uno o más de los anteriores. Preferiblemente la presente composición nutricional contiene al menos una, preferiblemente al menos dos fuentes lipídicas seleccionadas del grupo que consiste en aceite de semilla de colza (tal como aceite de colza, aceite de semilla de

colza bajo en ácido erúxico y aceite de canola), aceite de girasol alto oleico, aceite de alazor alto oleico, aceite de oliva, aceites marinos, aceites microbianos, aceite de coco, aceite de nuez de palma y grasa láctea.

5 [0064] La presente composición nutricional no es leche humana. La presente composición nutricional comprende un  
 10 componente lipídico y un componente de proteína y un componente de carbohidrato digerible. La composición  
 15 nutricional según la invención o la composición nutricional usada según la invención preferiblemente comprende  
 otras fracciones, tales como vitaminas, minerales, oligoelementos y otros micronutrientes para convertirla en una  
 composición nutricional completa. Preferiblemente la composición nutricional es seleccionada del grupo que consiste  
 en una fórmula infantil, leche o fórmula para niños y leche de crecimiento, más preferiblemente forman el grupo que  
 consiste en una fórmula infantil. Una fórmula infantil se define como una fórmula para su uso en bebés y puede ser,  
 por ejemplo, una fórmula de iniciación, destinada a bebés de 0 a 4 a 6 meses de edad o una fórmula de  
 continuación, destinada a bebés de 4 a 6 meses hasta 12 meses de edad. Una leche o fórmula para niños o de  
 crecimiento se destina a niños de 12 a 36 meses de edad. En una forma de realización, la composición nutricional es  
 una fórmula infantil. Las fórmulas infantiles comprenden vitaminas, minerales, oligoelementos y otros micronutrientes  
 según las directivas internacionales.

20 [0065] Preferiblemente la presente composición nutricional comprende un componente lipídico que proporciona de 4  
 a 6 g por 100 kcal, un componente de proteína que proporciona de 1,6 a 1,9 g por 100 kcal, más preferiblemente de  
 1,75 a 1,85 g por 100 kcal y un componente de carbohidrato digerible proporciona de 8 a 15 g por 100 kcal de la  
 composición nutricional final. En una forma de realización, el componente lipídico proporciona de 3 a 7 g de lípidos  
 por 100 kcal, preferiblemente de 4 a 6 g por 100 kcal, el componente de proteína proporciona de 1,6 a 2,0 g por 100  
 kcal y el componente de carbohidrato digerible proporciona de 5 a 20 g por 100 kcal, preferiblemente de 8 a 15 g por  
 100 kcal de la composición nutricional final y donde preferiblemente el componente de carbohidrato digerible  
 comprende al menos 60 % en peso de lactosa basada en el carbohidrato digerible total, más preferiblemente al  
 25 menos 75 % en peso, aún más preferiblemente al menos 90 % en peso de lactosa basada en el carbohidrato  
 digerible total.

30 [0066] La cantidad de calorías totales se determina por la suma de las calorías derivadas de las proteína, lípidos,  
 carbohidratos digeribles y oligosacáridos no digeribles.

35 [0067] En una forma de realización la composición nutricional está en forma líquida. En otra forma de realización la  
 composición nutricional es un polvo adecuado para hacer una composición nutricional líquida después de  
 reconstituirla con una solución acuosa, preferiblemente con agua. Preferiblemente la fórmula de bebé o niño es un  
 polvo para ser reconstituido con agua. Preferiblemente la composición líquida tiene una viscosidad por debajo de  
 100 mPa.s, más preferiblemente por debajo de 60 mPa.s, más preferiblemente por debajo de 35 mPa.s, aún más  
 preferiblemente por debajo de 6 mPa.s según se mide en un viscosímetro Brookfield a 20°C a una velocidad de  
 cizalladura de 100 s<sup>-1</sup>. Una viscosidad baja es importante para fórmulas de bebé o de continuación, ya que imita la  
 viscosidad de la leche materna y pueden después ser administradas vía una tetina.

40 [0068] Para cumplir con los requisitos calóricos de un bebé o niño, la composición nutricional preferiblemente  
 comprende de 45 a 200 kcal/100 ml de líquido. Para bebés, la composición nutricional tiene más preferiblemente de  
 60 a 90 kcal/100 ml de líquido, aún más preferiblemente de 65 a 75 kcal/100 ml de líquido. Esta densidad calórica  
 asegura una proporción óptima entre agua y consumo de calorías. Para los niños pequeños, sujetos humanos con  
 una edad entre 12 y 36 meses, la composición nutricional más preferiblemente tiene una densidad calórica entre 45  
 45 y 65, aún más preferiblemente entre 50 y 60 kcal/100 ml. La osmolaridad de la presente composición está  
 preferiblemente entre 150 y 420 mOsmol/l, más preferiblemente de 260 a 320 mOsmol/l. La osmolaridad baja  
 pretende reducir adicionalmente el estrés gastrointestinal.

50 [0069] Cuando la composición nutricional es en forma líquida, el volumen preferido administrado a diario está en el  
 rango de aproximadamente 80 a 2500 ml, más preferiblemente de aproximadamente 200 a 1200 ml al día.  
 Preferiblemente, el número de ingestas al día es entre 1 y 10, preferiblemente entre 3 y 8. En una forma de  
 realización, la composición nutricional se administra a diario durante un periodo de al menos 2 días, preferiblemente  
 durante un periodo de al menos 4 semanas, preferiblemente durante un periodo de al menos 8 semanas, más  
 preferiblemente durante un periodo de al menos 12 semanas, en forma líquida donde el volumen total diario  
 55 administrado es entre 200 ml y 1200 ml y donde el número de ingestas al día es entre 1 y 10.

#### Aplicación

60 [0070] En el contexto de la presente invención, "prevención" de una enfermedad o cierto trastorno también se refiere  
 a la "reducción del riesgo" de una enfermedad o cierto trastorno y también se refiere al "tratamiento de una persona  
 que está en riesgo" de dicha enfermedad o dicho cierto trastorno.

65 [0071] Los inventores han descubierto que con el consumo de la composición nutricional de la presente invención, la  
 cantidad de enzimas proteolíticas endógenas que fue detectada en el ileon terminal fue significativamente reducida  
 en comparación con la cantidad detectada tras el consumo de una composición nutricional que no contiene un  
 ingrediente fermentado estándar. Además, aunque la ingesta de proteína diaria fue más alta, la digestibilidad de

proteína aparente y real fue la máxima en el grupo que consumió la composición nutricional de la presente invención.

5 [0072] Se descubrió que la composición nutricional de la presente invención reduce el esfuerzo digestivo. El esfuerzo digestivo se define como la cantidad de actividad de proteasa segregada por gramo de proteínas ingeridas.

10 [0073] Se descubrió que la composición nutricional de la presente invención mejora la eficiencia de digestión de la proteína. La eficiencia de digestión de la proteína se define como la cantidad de proteína ingerida por unidad arbitraria (AU) de actividad de proteasa. Se descubrió que la composición nutricional de la presente invención reduce la pérdida de proteína endógena, tal como la pérdida de proteasas formadas endógenamente. Este fue en particular el caso para tripsina y/o quimiotripsina y/o elastasa. La tripsina y la quimiotripsina son en un niño las proteasas digestivas más importantes, ya que la pepsina gástrica es menos activa debido a un pH más alto en el estómago. Además, se ha descubierto que las proteasas estimulan la pérdida endógena de otras proteínas, tales como mucinas.

15 [0074] Se descubrió que la composición nutricional de la presente invención reduce la carga de proteína que entra en el colon.

20 [0075] Por lo tanto, en la alimentación de la composición nutricional de la presente invención, la liberación de proteasa endógena, el esfuerzo digestivo, la pérdida de proteína endógena en el intestino delgado y la carga de proteína que entra en el colon es ventajosamente reducida al igual que la actividad proteolítica de la microbiota en el colon. La composición nutricional de la presente invención tendrá un efecto mejorado en la reducción de la fermentación de la proteína y la actividad proteolítica en el colon y tendrá un efecto beneficioso con relación a la reducción de la actividad proteolítica a lo largo del tracto intestinal entero, es decir tanto el intestino delgado como el grueso.

25 [0076] Por lo tanto, la composición nutricional de la presente invención se usa ventajosamente como nutrición para bebés o niños pequeños, para su uso en la mejora o el aumento de la eficiencia de la digestión de la proteína.

30 [0077] El hallazgo de que la eficiencia de la digestión de la proteína es aumentada, y la pérdida de proteína endógena es disminuida también ventajosamente permite la formulación de una fórmula para bebé o niño con concentraciones de proteína menores que la usada hasta el momento.

35 [0078] Los efectos descritos aquí se observan en comparación con la situación antes de la administración de la composición nutricional y/o la situación en comparación con la administración de una composición nutricional estándar que no comprende la composición fermentada que comprende proteína y oligosacáridos no digeribles. Se descubrió que estos efectos observados también se acercan a los efectos que ocurren en los bebés alimentados con leche humana en comparación con los bebés alimentados con fórmula infantil estándar, ya que se ha descubierto que la actividad proteolítica en muestras fecales de bebés humanos exclusivamente amamantados fue inferior a la de bebés alimentados con una fórmula estándar.

40 [0079] En particular, la cantidad reducida de proteína que entra en el colon dará lugar a una actividad más sacarolítica y menos proteolítica de la microbiota intestinal. La fermentación de azúcares en vez de aminoácidos dará lugar a un pH inferior del colon y/o a una formación reducida de metabolitos tóxicos tales como indoles, fenoles y aminas. Esto también dará lugar a más bifidobacterias y/o lactobacilos y/o bacterias menos patógenas en la microbiota intestinal. Las cantidades de bacterias se pueden expresar como ufc por g de heces y/o como un porcentaje basado en ufc de bacterias totales. Tal microbiota intestinal mejorada dará lugar a infecciones intestinales reducidas y/o reducción de la diarrea.

45 [0080] En particular, la cantidad reducida de proteasas, más específicamente las serina proteasas tales como la tripsina y la quimiotripsina, dará lugar a una escisión reducida de PAR-2 con efecto de una función de barrera intestinal aumentada. Una función de barrera aumentada dará lugar a translocación reducida de toxinas, alérgenos y patógenos y por lo tanto en un efecto ventajoso en la infección, diarrea y/o inflamación. También la reducción de la escisión de PAR-2 dará lugar a menor percepción de dolor abdominal. La actividad proteolítica fecal aumentada está en particular asociada a enfermedades inflamatorias intestinales (IBD) tales como la colitis ulcerosa y síndrome del

50 [0081] La actividad proteolítica fecal aumentada está asociada en particular a la incidencia de erupciones por el pañal.

55 [0082] Además, una síntesis inferior de proteasas, concomitante con aumento de la digestibilidad de proteína produce menos pérdida de energía y proteína, lo que mejora el crecimiento y el desarrollo.

60 [0083] La fermentación colónica de las proteínas dará lugar a cambios de calidad o cantidad de la formación de gas y por lo tanto a un hinchamiento abdominal aumentado y/o una distensión abdominal y/o flatulencia. Por lo tanto, la presente composición nutricional tendrá un efecto en la reducción del hinchamiento abdominal y/o la distensión

abdominal y de trastornos resultantes de los mismos. La activación de receptores activados de proteasa aumenta la percepción de dolor y tiene un efecto negativo en la función de barrera intestinal. Una actividad proteolítica menor puede así contribuir a la mejor prevención y/o tratamiento de los cólicos o calambres. Los calambres se pueden evaluar cuando un niño arquea la espalda, y los cólicos se pueden evaluar cuando hay excesivo tiempo de llanto.

5 [0084] Todos estos efectos observados y mencionados anteriormente son particularmente importantes en sujetos humanos jóvenes, ya que necesitan crecer y desarrollarse, tienen una barrera intestinal más inmadura y una microbiota intestinal menos desarrollada. En otras palabras, en sujetos humanos jóvenes, la mejora del esfuerzo digestivo de la proteína, la regulación de la liberación de proteína endógena, la restricción de la pérdida de proteína, 10 y la reducción de la carga de proteína en el colon es más importante. El desarrollo del tracto intestinal es un proceso complejo. Es factible que las fugas del tracto intestinal hagan que los bebés durante los primeros meses de vida sean más susceptibles a niveles elevados de actividad proteolítica, lo que puede desencadenar bajos niveles de inflamación y percepción de dolor aumentada. Este puede explicar los efectos beneficiosos de la presente composición nutricional que induce menos liberación de proteasa endógena. Por lo tanto, la composición nutricional se usa preferiblemente para alimentar a un bebé humano.

[0085] En una forma de realización, la invención se refiere a un método no terapéutico, para una eficiencia de digestión de la proteína en aumento, en un sujeto humano con una edad de 0 a 36 meses, el método comprende la administración de una composición nutricional según la invención al sujeto humano con una edad de 0 a 36 meses, 20 donde el aumento o reducción se compara con el efecto de una composición nutricional que no una composición que comprende proteína fermentada por bacterias de ácido láctico y oligosacáridos no digeribles. Preferiblemente para este método, la composición nutricional comprende lactosa.

[0086] En una forma de realización, la proteasa es una proteasa de serina y la actividad proteolítica es la actividad proteolítica de una proteasa de serina, más preferiblemente una proteasa de serina seleccionada del grupo que consiste en tripsina, quimiotripsina y elastasa.

[0087] La presente composición nutricional se usa para proporcionar nutrición a un sujeto humano con una edad de 0 a 36 meses. En una forma de realización, la presente composición nutricional se usa para proporcionar nutrición a un bebé de 0 a 18 meses, aún más preferiblemente a un bebé con una edad de 12 meses de edad o menos. En una 30 forma de realización, la presente composición nutricional se usa para proporcionar nutrición a un niño de 18 a 36 meses, de la forma más preferible a un niño con una edad de 18 a 30, o 24 meses. Las presente composiciones nutricionales se administra preferiblemente por vía enteral, más preferiblemente por vía oral.

[0088] En este documento y en sus reivindicaciones, el verbo "comprender" y sus conjugaciones se usan en su sentido no limitativo para referirse a que los elementos que lo siguen están incluidos, pero los elementos que no se mencionan específicamente no están excluidos. Además, la referencia a un elemento mediante el artículo indefinido "uno" o "una" no excluye la posibilidad de que más de uno del elemento esté presente, a menos que el contexto requiera claramente que hay uno y solo uno de los elementos. El artículo indefinido "un" o "una" normalmente se refiere a "al menos uno". Wt significa peso.

## Ejemplos

### Ejemplo 1:

45 [0089] Un estudio doble ciego controlado con placebo, aleatorio, prospectivo con diseño de grupo paralelo fue realizado en bebés sanos nacidos de término hasta la edad infantil de un año. Los grupos de prueba fueron:

50 Grupo 1: bebés en lactancia completa durante al menos 4 meses (N=43).  
 Grupo 2: bebés en alimentación con fórmula completa después de 2 meses a más tardar, recibiendo una fórmula a base de leche de la vaca no hidrolizada estándar (N=41).  
 Grupo 3: bebés en alimentación con fórmula completa después de 2 meses a más tardar, recibiendo una fórmula a base de leche de la vaca no hidrolizada estándar con una mezcla de carbohidratos no digeribles (0,8 g/100 ml) de oligosacáridos neutrales y ácidos en una proporción en peso de 85:15. Como oligosacáridos neutros, se usaron transgalactooligosacáridos de (fuente VivinalGOS), y oligosacáridos de cadena larga (fuente raffiniiln HP) en una proporción en peso 9:1. Como oligosacáridos ácidos, se usaron oligosacáridos de ácido urónico derivados de la degradación de pectina. (N=36).

[0090] Muestras de deposición fueron recogidas en la semana 16 después del nacimiento y almacenadas a -20°C hasta posterior análisis. La actividad proteolítica fecal en el sobrenadante fecal fue medida con el equipo de ensayo basado en la fluorescencia de la proteasa EnzCheck (E6638, Invitrogen, Carlsbad, Ca, EE.UU.) para la detección de metalo-, serina y sulfhidrilo proteasas. Las muestras fecales fueron diluidas 10x en 1x PBS, homogeneizadas durante 5 min y centrifugada a 13.000 r.p.m. durante 3 minutos para eliminar las partículas grandes. 100 µl (100x diluido) de sobrenadante se añadió a 100 µl de caseína BODIPY activa (10 µg caseína BODIPY). El aumento en la fluorescencia fue medido a 25 °C durante un periodo de 10 minutos. Pancreatina porcina (Sigma, P1750) se usó para preparar una curva de calibración. Para determinar el origen de la actividad de proteasa, el inhibidor de

proteasa de serina específico AEBSF (Sigma, A8456) fue añadido en cada análisis con una concentración final de 5mM. La proteína total en los sobrenadantes fecales fue determinada utilizando el método BCA (Pierce). La actividad proteolítica fecal fue expresada como unidades arbitrarias (AU) basada en la actividad de la pancreatina en USP (unidad estándar para actividad según la Farmacopea de Estados Unidos) por miligramo de contenido de proteína fecal. Las estadísticas se realizaron con la prueba Mann-Whitney U.

[0091] Resultados:

Los resultados se muestran en la tabla 1. La actividad proteolítica fecal del grupo en la fórmula infantil estándar fue significativamente más alta en comparación con el grupo amamantado y el grupo con la fórmula infantil estándar que contenía la mezcla de oligosacáridos. La actividad proteolítica fecal fue similar entre los grupos que tomaron leche materna y fórmula infantil estándar que contenía la mezcla de oligosacáridos no digeribles.

Tabla 1: actividad proteolítica media (AU/mg proteína) en los excrementos de bebés alimentados con pecho (grupo 1), una fórmula infantil de control (grupo 2) o una fórmula con carbohidratos no digeribles (grupo 3)

Dieta	Actividad proteolítica (SE)	P valor* vs grupo 1	P valor* vs grupo 2
Grupo 1	313 (21)		0,032
Grupo 2	406 (33)	0,032	
Grupo 3	309 (26)	0,488	0,020

\*: Prueba U de Mann-Whitney

[0092] La actividad proteolítica se derivó principalmente de serina proteasas (es decir, enzimas pancreáticas o producida por la microbiota colónica), dado que el inhibidor de serina proteasa específico AEBSF bloqueó la actividad proteolítica con más del 70%.

[0093] Estos experimentos son indicativos para la reducción de la actividad proteolítica colónica y fermentación de proteína reducida en presencia de oligosacáridos no digeribles.

## Ejemplo 2: Experimentos en lechones con fórmula infantil fermentada

[0094] Para investigar *in vivo* la digestión de la proteína, los cerdos son la primera elección dado que su fisiología digestiva es muy parecida a la humana (Miller *et al.* 1987, Annu Rev Nutr, 7:361-82) y generan digestibilidades comparables de nitrógeno ileal real y aminoácidos (AA) (Deglaire *et al.* 2009, Br J Nutr, 102(12):1752-9, Rowan *et al.* 1994, Br J Nutr, 71(1):29-42). Además, un estudio de Moughan *et al.* ha demostrado que los lechones de 3 semanas de edad se pueden usar como modelo para bebés de 6 meses de edad (Moughan *et al.* 1991, J Nutr, 121(10):1570-4). Por lo tanto, la digestibilidad de AA de una fórmula infantil fermentada y estándar (IF) fue evaluada en un modelo de lechón. Una fórmula hidrolizada (Nutrilon Pepti) fue usada para corregir pérdidas de AA endógenos según el método de alimentación con péptidos (Rutherford *et al.* 1998, J Dairy Sci, 81(4):909-17).

[0095] Seis lechones de la misma edad y peso machos (peso medio 4,9 kg) fueron agrupados desde las 2 semanas de edad. A las tres semanas de edad, recibieron una cánula T en la parte distal del íleon terminal después de haber ayunado durante toda la noche y fueron alojados individualmente después. Desde el día 31 en adelante los cerdos recibieron las siguientes dietas:

Dieta 1: Lactofidus-1, una fórmula de leche infantil disponible comercialmente comercializada bajo la marca Galia, que comprende 100 % de una composición derivada de la leche fermentada. Lactofidus se produce por la fermentación con *S. thermophilus* y comprende *B. breve*. Un tratamiento térmico se emplea para inactivar las bacterias de ácido láctico. Contiene 1,1 % en peso de ácido láctico + lactato basado en el peso en seco, que es al menos 95% de ácido L-láctico/lactato. Comprende 12,2 g de proteína por 100 g de peso en seco del cual 60 % en peso de caseína y 40 % en peso de proteína de suero de leche. El pH es 5,6.

Dieta 2: Nutrilon-2, una fórmula de continuación no fermentada estándar comercializada bajo la marca Nutricia, que comprenden proteína no hidrolizada, 9,3 g por 100 g de peso en seco del cual 50 % en peso de proteína de suero de leche no hidrolizada y 50 % en peso de caseína. El pH es 6,8.

Dieta 3: Pepti-2, una IMF comercializada bajo la marca de Nutricia que comprende 11,2 g de proteína por 100 g de peso en seco en forma de 100 % en peso de proteína de suero de leche extensivamente hidrolizada. El pH es 6,4.

[0096] La IMF fermentada, estándar y en polvo hidrolizada fue diluida en el agua desmineralizada (37°C) hasta un contenido de sustancia en seco final de 21,0%, 22,05% y 21,45%, respectivamente (el contenido de proteína siendo 2,46, 2,05 y 2,55 g/100ml). Óxido de cromo se añadió al polvo de la IMF como marcador indigerible. Hasta día 31, los lechones recibieron una mezcla de 1:1:1 p/p/p mezcla de las dietas 1, 2 y 3.

[0097] A partir del día 31 hasta el día 36, los lechones recibieron bien la dieta 1, 2 o 3 en un diseño de cuadrado latino según el esquema de alimentación de la tabla 1. Los cerdos fueron alimentados a las 7:00 h, 9:30 h, 14:00 h y 16:00 h. La digesta ileal se recogió los días 32, 34 y 36 de 8.00 h hasta 17.00 h, vía la cánula T en bolsas pequeñas que fueron almacenadas en hielo inmediatamente cuando estuvieron llenas. Todas las muestras de digesta fueron pesadas, el pH medido y almacenadas a -20°C hasta posterior tratamiento. Para mediciones de actividad enzimática una submuestra (2 ml) fue centrifugada (13,000 g durante 10 minutos a 4°C) y los sobrenadantes fueron divididos en partes alícuotas almacenadas a -80°C.

Tabla 2: Esquema de alimentación

Lechón	Día 31-32	Día 33-34	Día 35-36
1	1	2	3
2	1	3	2
3	2	1	3
4	2	3	1
5	3	1	2
6	3	2	1

[0098] Sustancia seca (DM) (gravimetría a 80°C), óxido de cromo (Cr) (espectrometría de masas de plasma inductivamente acoplado), proteína cruda (CP) (método de Kjeldahl, N x 6,25) y composición de aminoácidos (AA) (HPLC después 6M HCL hidrólisis) fueron analizados en muestras de digesta liofilizada y polvos de dieta.

[0099] La actividad proteolítica total en la digesta ileal fue determinada utilizando el equipo de ensayo basado en fluorescencia de proteasa EnzCheck (E6638, Invitrogen, Carlsbad, Ca, EE.UU.) para la detección de metalo-, serina y sulfhidrilo proteasas. Las digestas fueron diluidas 750x con 10 mM Tris-HCl, pH 7,8 y 100 µl de muestras fueron adicionadas a 100 µl caseína BODIPY activa (10 µg caseína BODIPY). El aumento en la fluorescencia fue medido a 25 °C durante un periodo de 10 minutos. La pancreatina porcina (Sigma, P1750) fue usada para preparar una curva de calibración. Para determinar el origen de la actividad de proteasa, el inhibidor de serina proteasa específico AEBSF (Sigma, A8456) fue añadido en cada análisis con una concentración final de 5 mM. La actividad se expresa como unidad arbitraria (AU) (basada en la actividad de pancreatina en USP).

[0100] La actividad de tripsina fue medida usando N<sub>α</sub>-Benzoil-L-Argina etil éster (BAEE, Sigma B4500) como sustrato y la medición del cambio de absorbancia a 25 °C 253 nm (según las instrucciones del fabricante). Tripsina bovina (Sigma, T9201) fue usada para preparar una curva de calibración. La actividad se expresa como unidad arbitraria (AU) (basada en actividad de tripsina en U).

[0101] Quimiotripsina fue medida usando N<sub>α</sub>-Benzoil-L-Tirosina etil éster (BTEE, Sigma B6125) como sustrato y la medición del cambio de absorbancia a 25°C a 256 nm. Quimiotripsina bovina (Sigma, C3142) fue usada para preparar una curva de calibración. Actividad se expresa como unidad arbitraria (AU) (basada en actividad de quimiotripsina en U).

[0102] La actividad de elastasa fue medida usando SucAla3-PNA (S4760 Sigma) como sustrato y elastasa porcina (E7885, Sigma) fue usada para preparar una curva de calibración. La actividad se expresa como unidad arbitraria (AU) (basada en actividad de elastasa en U).

[0103] Ecuaciones usadas para calcular la digestibilidad de AA (las unidades están en µg/g DMI):

$$\text{Flujo de AA ileales} = \text{AA ileales} \times \frac{\text{dieta Cr}}{\text{digesta Cr}}$$

$$\text{Flujo de AA endógenos} = \text{AA ileales (PM>10kD)} \times \frac{\text{dieta Cr}}{\text{digesta Cr}}$$

$$\text{Digestibilidad de AA ileales aparentes (\%)} = \frac{\text{ingesta AA} - \text{flujo de AA ileales}}{\text{ingesta de AA}} \times 100\%$$

$$\text{Digestibilidad de AA ileales reales (\%)} = \frac{\text{ingesta AA} - (\text{flujo AA ileales} - \text{flujo AA endógenos})}{\text{ingesta AA}} \times 100\%$$

[0104] Los resultados fueron analizados utilizando análisis univariante de varianza (procedimiento GLM). Las diferencias entre las dietas fueron consideradas significativas con  $p < 0,05$  según el test LSD.

5 [0105] Los resultados de la tabla 3 muestran que el pH de la digesta ileal fue el mismo. También la osmolaridad fue la misma. La cantidad de ingesta de proteína cruda fue máxima en la fórmula hidrolizada y en la fórmula fermentada. De manera interesante, la cantidad de proteína total en la digesta ileal y la cantidad relativa de proteína basada en la  
 10 toma de proteína fue significativamente inferior en los lechones que consumieron fórmula fermentada que en los otros dos grupos. Este flujo de proteína al colon es por lo tanto menor en lechones que consumieron la fórmula fermentada. La digestibilidad de la proteína cruda ileal aparente y real fue más alta en los lechones que consumieron la fórmula fermentada que en el grupo que consumió la fórmula estándar. La digestibilidad del aminoácido ileal aparente y real fue más alta en los lechones que consumieron la fórmula fermentada que en el grupo que consumió la fórmula estándar. Lo mismo es aplicable para la mayoría de los aminoácidos individuales. La digestibilidad de glicina real difiere más notablemente. Esto es indicativo de una reducción en la secreción de la proteína endógena.  
 15 El flujo de aminoácidos endógenos fue principalmente rico en ácido glutámico, treonina, ácido aspártico, prolina y serina.

Tabla 3. Ingesta de dieta, características de digesta ileal y digestibilidad de AA ileal

	Nutrilon	Lactofidus	Pepti	SE agrupado
Ingesta DM (g/día)	403 <sup>a</sup>	388 <sup>b</sup>	391 <sup>b</sup>	3,641
Intesta CP (g/día)	37,4 <sup>a</sup>	45,4 <sup>b</sup>	46,4 <sup>c</sup>	0,317
Total ingesta AA (g/día)	39,1 <sup>a</sup>	47,7 <sup>b</sup>	50,2 <sup>c</sup>	0,347
Osmolaridad digesta ileal (mOsm/kg)	305	305	309	3,3
pH digesta ileal	7,91	7,95	7,90	0,06
CP en digesta ileal (g/g CPI)	0,16 <sup>a</sup>	0,08 <sup>b</sup>	0,16 <sup>a</sup>	0,01
CP en digesta ileal total (g/día)	5,96 <sup>a</sup>	3,64 <sup>b</sup>	7,27 <sup>c</sup>	0,279
Digestibilidad de proteína cruda ileal aparente (%)	84,2 <sup>a</sup>	92,0 <sup>b</sup>	x	0,81
Digestibilidad de AA ileal aparente (%)	89,1 <sup>a</sup>	94,4 <sup>b</sup>	x	0,53
Alanina	85,0 <sup>a</sup>	91,1 <sup>b</sup>	x	0,81
Arginina	85,8 <sup>a</sup>	93,1 <sup>b</sup>	x	0,68
Ácido aspártico	88,6 <sup>a</sup>	93,8 <sup>b</sup>	x	0,51
Cistina	85,1	89,5	x	1,06
Ácido glutámico	93,1 <sup>a</sup>	96,3 <sup>b</sup>	x	0,29
Glicina	48,5	78,5 <sup>b</sup>	x	4,81
Histidina	88,9 <sup>a</sup>	94,5 <sup>b</sup>	x	0,51
Iso-leucina	91,9 <sup>a</sup>	95,8 <sup>b</sup>	x	0,34
Leucina	93,4 <sup>a</sup>	96,5 <sup>b</sup>	x	0,29
Lisina	91,1 <sup>a</sup>	96,1 <sup>b</sup>	x	0,31
Metionina	93,9 <sup>a</sup>	97,2 <sup>b</sup>	x	0,36
Fenilalanina	88,8 <sup>a</sup>	94,6 <sup>b</sup>	x	0,40
Prolina	90,1 <sup>a</sup>	95,4 <sup>b</sup>	x	0,59
Serina	84,6 <sup>a</sup>	92,2 <sup>b</sup>	x	0,63
Treonina	79,0 <sup>a</sup>	88,1 <sup>b</sup>	x	1,05
Tirosina	90,7 <sup>a</sup>	94,7 <sup>b</sup>	x	0,37
Valina	90,6 <sup>a</sup>	95,2 <sup>b</sup>	x	0,54

ES 2 594 855 T3

	Nutrilon	Lactofidus	Pepti	SE agrupado
Digestibilidad de proteína cruda ileal real (%)	94,2 <sup>a</sup>	99,9 <sup>b</sup>	x	0,89
Digestibilidad de AA ileal real (%)	97,1 <sup>a</sup>	100,8 <sup>b</sup>	x	0,61
Alanina	96,7 <sup>a</sup>	101,2 <sup>b</sup>	x	0,87
Arginina	94,4 <sup>a</sup>	99,4 <sup>b</sup>	x	0,82
Ácido aspártico	97,3 <sup>a</sup>	101,3 <sup>b</sup>	x	0,58
Cistina	97,0 <sup>a</sup>	102,2 <sup>b</sup>	x	1,01
Ácido glutámico	98,6 <sup>a</sup>	100,6 <sup>b</sup>	x	0,34
Glicina	72,4 <sup>a</sup>	97,4 <sup>b</sup>	x	4,74
Histidina	96,4 <sup>a</sup>	100,3 <sup>b</sup>	x	0,63
Iso-leucina	99,1 <sup>a</sup>	101,7 <sup>b</sup>	x	0,42
Leucina	98,5 <sup>a</sup>	100,7 <sup>b</sup>	x	0,35
Lisina	96,6 <sup>a</sup>	100,6 <sup>b</sup>	x	0,37
Metionina	98,8 <sup>a</sup>	100,9 <sup>b</sup>	x	0,42
Fenilalanina	96,3 <sup>a</sup>	100,1 <sup>b</sup>	x	0,53
Prolina	97,4 <sup>a</sup>	100,8 <sup>b</sup>	x	0,66
Serina	96,6 <sup>a</sup>	101,3 <sup>b</sup>	x	0,73
Treonina	96,5 <sup>a</sup>	102,7 <sup>b</sup>	x	1,12
Tirosina	97,8	100,0	x	0,53
Valina	98,5 <sup>a</sup>	101,3 <sup>b</sup>	x	0,43
x = no determinado. (a-c) valores con letras diferentes dentro de la misma fila son diferentes (p<0,05)				

Tabla 4. Actividades enzimáticas proteolíticas ileales

	Nutrilon	Lactofidus	Pepti	SE agrupado
Actividad proteolítica total				
AU x 10 <sup>3</sup> /8h	1599 <sup>a</sup>	477 <sup>b</sup>	759 <sup>b</sup>	140
AU x 10 <sup>3</sup> /g CPI	41,4 <sup>a</sup>	10,5 <sup>b</sup>	16,5 <sup>b</sup>	3,3
Actividad de tripsina				
AU x 10 <sup>3</sup> /8h	908 <sup>a</sup>	334 <sup>b</sup>	621 <sup>c</sup>	74
AU/g CPI	23,9 <sup>a</sup>	7,4 <sup>b</sup>	13,5 <sup>c</sup>	1,6
Actividad de ciotripsina				
AU/8h	665 <sup>a</sup>	294 <sup>b</sup>	486 <sup>ab</sup>	73
AU/g CPI	17,2 <sup>a</sup>	6,5 <sup>b</sup>	10,3 <sup>b</sup>	1,8
Actividad de Elastasa				
AU / 8h	191 <sup>a</sup>	69 <sup>b</sup>	123 <sup>c</sup>	13
AU / CPI	4,78 <sup>a</sup>	1,45 <sup>b</sup>	2,47 <sup>c</sup>	0,27

	Nutrilon	Lactofidus	Pepti	SE agrupado
NS_ no significativo, x = no determinado. (a-c) valores con letras diferentes dentro de la misma fila son diferentes (p<0,05).				

5 [0106] Los resultados de la tabla 4 muestran que la cantidad de actividad proteolítica segregada durante las 8 h de recolección es mínima en los lechones que consumieron Lactofidus, la fórmula infantil fermentada, cuando se compara con la fórmula estándar no fermentada o una IMF predigerida hidrolizada. Este es el caso para actividad proteolítica total al igual que para tripsina y quimiotripsina. Este es el caso para la actividad de elastasa. Este efecto se observa también cuando se basa en la cantidad de ingesta de proteína.

10 [0107] La actividad proteolítica se deriva principalmente de serina proteasas (es decir enzimas pancreáticas tales como la tripsina y quimiotripsina), ya que el inhibidor de serina proteasa específico AEBSF bloqueó la actividad proteolítica con más del 90%. Así, la cantidad de actividad proteolítica que entra en el colon es inferior con el consumo de una fórmula fermentada, lo que lo hace más similar a la situación en bebés amamantados (véase ejemplo 1). Sorprendentemente, la digestibilidad de la proteína aparente y real es la máxima cuando se consume la fórmula fermentada, aunque la cantidad mínima de proteasas es formada. Esto significa que la eficiencia digestiva (en [Proteína ingerida/actividad de proteasa de en AU) es más alta. Asimismo, la cantidad de actividad proteolítica por g de ingesta de proteína es inferior, lo que es indicativo de un esfuerzo digestivo disminuido.

**Ejemplo 3: fórmula infantil baja en proteína**

20 [0108] Una fórmula infantil en polvo, que después de la reconstitución con agua en un fórmula infantil líquida lista para tomar comprende por 100 ml:

25           aproximadamente 13,0 g de sustancia seca, 66 kcal  
               1,2 g de proteína (proteína de suero de leche bovino/caseína en una proporción en peso 1/1), 9,8 % en peso basado en el peso en seco, 1,8 g por 100 kcal.  
               7,3 g de carbohidrato digerible (7,3 g de azúcares de los cuales 7,1 g de lactosa) (11,4 g/100 kcal),  
               3,36 g de grasa (principalmente grasa vegetal). (50,9 g/100 kcal)  
               0,8 g de oligosacáridos no digeribles de scGOS (fuente Vivinal GOS) y IcFOS (fuente RaftilinHP) en una proporción en peso 9:1, de los cuales 0,6 g se clasifican como fibra dietética y 0,2 g son sacáridos indigeribles presentes en los scGOS, que se clasifican como carbohidratos.

30 [0109] De esta composición 30 % basado en peso en seco es derivado de lactofidus-1 como se describe en el ejemplo 2. La composición comprende aproximadamente 0,33 % en peso de ácido láctico + lactato basado en peso en seco, del cual al menos 95% es L-lactato/ácido láctico. La composición comprende además vitaminas, minerales, oligoelementos y otros micronutrientes según directivas internacionales para fórmula infantil.

35 [0110] El pH después de la reconstitución es 6,2.

**Ejemplo 4: fórmula infantil**

40 [0111] Una fórmula infantil en polvo, que después de la reconstitución con agua en una fórmula infantil líquida lista para tomar comprende por 100 ml:

45           aproximadamente 13,7 g de sustancia seca, 66 kcal  
               1,35 g de proteína (proteína de suero de leche bovina/caseína en una proporción en peso 1/1), 11 % en peso basado en peso en seco, 2,0 g / 100 kcal  
               8,2 g de carbohidrato digerible (del cual 5,6 g de lactosa y 2,1 g de maltodextrina)  
               3,0 g de grasa (principalmente grasa vegetal).  
               0,8 g de oligosacáridos no digeribles de scGOS (fuente Vivinal GOS) y IcFOS (fuente RaftilinHP) en una proporción en peso 9:1.

50 [0112] De esta composición 50 % basado en peso en seco es derivado de lactofidus-1 como se describe en el ejemplo 2. La composición comprende aproximadamente 0,55 % en peso de ácido láctico + lactato basado en peso en seco, del cual al menos 95% es L-ácido láctico/lactato. La composición comprende además vitaminas, minerales, oligoelementos y otros micronutrientes según la directiva internacional 2006/141/EC para fórmulas infantiles.

55 [0113] La fórmula infantil se destina a mejorar la salud del tracto intestinal y/o a aumentar la función de barrera intestinal y/o a prevenir y/o tratar el estreñimiento, el dolor abdominal, la incomodidad abdominal, los cólicos, los calambres, el hinchamiento abdominal, el síndrome de intestino irritable con distensión abdominal, la colitis ulcerosa, el síndrome de intestino irritable diarroegénico o inflamación intestinal, y/o a prevenir y/o tratar las erupciones de pañal.

60

**Ejemplo 5: fórmula para niños pequeños,**

[0114] Un líquido listo para beber dirigido a niños de 12 a 36 meses de edad, que comprende por 100 ml:

- 5           aproximadamente 56 kcal  
          1,5 g de proteína (proteína de suero de leche bovina/caseína en una proporción en peso 1/1), 2,7 g/100 kcal  
          6,6 g de carbohidrato digerible (del cual aproximadamente 95 % en peso de lactosa)  
          1,94 g de grasa (principalmente grasa vegetal).  
10          1,2 g de oligosacáridos no digeribles de scGOS (fuente Vivinal GOS) y IcFOS (fuente RaftilinHP) en una  
          proporción en peso 9:1.

[0115] De esta composición, 15% basado en peso en seco está derivado de lactofidus-1 como se describe en el ejemplo 2. La composición comprende aproximadamente 0,17 % en peso ácido láctico + lactato basado en peso en seco, del cual al menos 95% es L-ácido láctico/lactato. La composición comprende además vitaminas, minerales, oligoelementos y otros micronutrientes como se conocen en la técnica.

[0116] El pH de esta composición es 6,6

20

## REIVINDICACIONES

1. Método no terapéutico para aumentar la eficiencia de la digestión de las proteínas en un sujeto humano con una edad de 0 a 36 meses, el método comprende la administración de una composición nutricional que comprende:
- proteína en una cantidad de 5 a 20 % en peso basado en el peso en seco de la composición nutricional, y en una cantidad de 1,6 a 4,0 g por 100 kcal,
  - oligosacáridos no digeribles en una cantidad de 0,5 a 20 % en peso basado en el peso en seco de la composición nutricional,
  - al menos 10 % en peso basado en el peso en seco de la composición nutricional de una composición que comprende proteína fermentada por bacterias de ácido láctico, y
  - 0,10 a 1,5 % en peso de la suma de lactato y ácido láctico con respecto al peso en seco de la composición nutricional y donde la suma de ácido L-láctico y L-lactato es más del 50 % en peso basado en la suma de ácido láctico y lactato total,
- al sujeto humano con una edad de 0 a 36 meses, donde el aumento se compara con el efecto de una composición nutricional que no comprende una composición que comprende proteína fermentada por bacterias de ácido láctico y oligosacáridos no digeribles.
2. Método según la reivindicación 1, donde la composición que comprende proteína fermentada por bacterias de ácido láctico es fermentada por una o más seleccionadas de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus Sakei*.
3. Método según la reivindicación 1 o 2, donde la composición que comprende proteína fermentada por bacterias de ácido láctico es fermentada por *Streptococcus thermophilus*.
4. Método según la reivindicación 1, donde la proteína está presente en una cantidad de 1,6 a 2,1 g de proteína por 100 kcal de composición nutricional.
5. Método según la reivindicación 1, donde la proteína está presente en una cantidad inferior a 2,0 g por 100 kcal.
6. Composición nutricional que comprende proteína, lípidos, carbohidratos digeribles y oligosacáridos no digeribles, donde la proteína está presente en una cantidad de 5 a 20 % en peso basado en el peso en seco de la composición nutricional, y en una cantidad de 1,6 a 2,0 g por 100 kcal, donde los lípidos están presentes en una cantidad de 3 a 7 g por 100 kcal, donde los carbohidratos digeribles están presentes en una cantidad de 5 a 20 g por 100 kcal, donde los oligosacáridos no digeribles están presentes en una cantidad de 0,5 a 20 % en peso basado en el peso en seco de la composición nutricional, **caracterizada por el hecho de que** además dicha composición nutricional comprende al menos 10 % en peso basado en el peso en seco de la composición nutricional de una composición que comprende proteína fermentada por bacterias de ácido láctico, y **caracterizada por el hecho de que** la composición nutricional comprende de 0,10 a 1,5 % en peso de la suma de lactato y ácido láctico basado en el peso en seco de la composición nutricional y donde la suma de ácido L-láctico y L-lactato es más del 50 % en peso basado en la suma de ácido láctico y lactato total.
7. Método según la reivindicación 1 o composición nutricional según la reivindicación 6, donde la composición nutricional es un líquido con un pH de 5,5 a 7,0.
8. Método según la reivindicación 1 o composición nutricional según la reivindicación 6 o 7, donde la composición nutricional comprende carbohidratos digeribles y donde al menos 75 % en peso de los carbohidratos digeribles es lactosa.
9. Método según la reivindicación 1 o composición nutricional según cualquiera de las reivindicaciones 6-8, donde los oligosacáridos no digeribles son al menos uno, más preferiblemente al menos dos, seleccionados del grupo que consiste en galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos, oligosacáridos de ácido urónico, gluco-oligosacáridos, xilo-oligosacáridos, manano-oligosacáridos, arabino-oligosacáridos, glucomano-oligosacáridos, galactomano-oligosacáridos, oligosacáridos de soja, isomalto-oligosacáridos, dextrina no digerible, arabinogalacto-oligosacáridos, gentio-oligosacáridos, nigero-oligosacáridos, glucomano-oligosacáridos, quito-oligosacáridos, sialil-oligosacáridos y fuco-oligosacáridos.
10. Método según la reivindicación 1 o composición nutricional según cualquiera de las reivindicaciones 6-9, donde los oligosacáridos no digeribles son seleccionados del grupo que consiste en transgalacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos de ácido galacturónico y mezclas de los mismos.
11. Método según la reivindicación 1 o composición nutricional según cualquiera de las reivindicaciones 6-10, donde la composición nutricional comprende  $10^2$ - $10^5$  ufc de *Streptococcus thermophilus* vivo por gramo de peso en seco de la composición nutricional.

12. Composición nutricional según cualquiera de las reivindicaciones 6-11, para su uso en la alimentación de un bebé.

5