

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 607 230**

51 Int. Cl.:

A23L 7/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.11.2009 PCT/SE2009/051355**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.06.2011 WO11065880**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.11.2009 E 09851735 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.10.2016 EP 2506860**

54 Título: **Composición de fibra dietética que contiene beta-glucano**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.03.2017

73 Titular/es:
**SWEDISH OAT FIBER AB (100.0%)
Bua Hamm 6
430 22 Väröbacka, SE**

72 Inventor/es:
DUSS, RUEDI

74 Agente/Representante:
VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 607 230 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición de fibra dietética que contiene beta-glucano

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a una composición de fibra dietética como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10. La presente invención también se refiere a un producto alimentario y/o un suplemento nutricional que contiene dicha composición de fibra dietética, uso de dicha composición de fibra dietética para la preparación de un producto alimentario y/o suplemento nutricional para tratamiento y/o profilaxis de hipercolesterolemia y regulación de la respuesta glucémica y control del apetito en un mamífero, y un medicamento que contiene dicha composición de fibra dietética para tratamiento y/o profilaxis de hipercolesterolemia y regulación de la respuesta glucémica y control del apetito en un mamífero.

15 **Antecedentes**

Las fibras solubles, tales como (1→3)(1→4)-β-glucano son un grupo de polisacáridos encontrados en las paredes celulares de *Graminae*, incluyendo las paredes celulares del endospermo de avena, cebada, centeno y trigo. Son polímeros lineales compuestos principalmente por unidades de celotriosilo y celotetraosilo unidas en β-(1→3) (> 90 %). El β-glucano también se produce en la pared celular de la levadura de panadero, ciertos tipos de hongos y muchos tipos de hongos y bacterias.

Los β-glucanos basados en cereal se presentan con mayor abundancia en avena y cebada y en un grado mucho menor en centeno y trigo, y se enriquecen en el grueso de fracciones de molienda de partículas conocidas como salvado. Los β-glucanos de avena, cebada y centeno son muy similares.

Los β-glucanos que se producen en levaduras, hongos y bacterias son estructuralmente diferentes de los que se encuentran en granos tales como avena y cebada, y, al igual que la celulosa, que también es un β-glucano, no son fácilmente solubles en agua y carecen de valor funcional en su estado natural.

Por el contrario, el β-glucano de cereal, se extrae fácilmente y es soluble en agua y se clasifica como una fibra dietética soluble. Al igual que todas las fibras dietéticas, cuando se ingiere, el β-glucano soluble no es hidrolizado por los sistemas digestivos del tracto gastrointestinal superior humano, sino que absorbe agua ya sea para dispersarse en el lumen digestivo, o para formar un residuo de la pared celular gelatinoso, hinchado, pero de nuevo, al igual que todas las fibras dietéticas, el β-glucano es fermentado y usado por bacterias en el intestino grueso o tracto GI inferior.

Numerosos estudios han mostrado que las fibras solubles de β-glucano pueden desempeñar un papel importante en la reducción del riesgo de enfermedad cardiovascular mediante el control de 2 factores de riesgo: la reducción del colesterol en suero tanto total como de lipoproteína de baja densidad (LDL) y la obesidad a través del efecto de saciedad. Además, los β-glucanos regulan de forma beneficiosa la respuesta glucémica y tienen un efecto prebiótico que puede reducir el riesgo de enfermedades intestinales. Además, los β-glucanos tienen actividad potenciadora del sistema inmunológico.

Después de la evaluación de los estudios clínicos sobre el efecto de los productos de avena en el colesterol en suero, la USAFDA y otros organismos reguladores tales como AFSSA (Francia) permitieron una alegación de salud, afirmando que los productos de avena pueden reducir el riesgo de enfermedad cardíaca, requiriendo una dosis diaria de 3 g de β-glucano de avena. Sin embargo, no todos los estudios han demostrado un efecto de reducción del colesterol con productos de avena. Probablemente hay una serie de razones para esto, pero una mala comprensión de las cantidades y la bioactividad de los principios activos es sin duda una de ellos.

Sin embargo, nunca se ha demostrado la relación entre viscosidad, PM y solubilidad del β-glucano, y la reducción del colesterol, respuesta glucémica y efecto regulador del apetito.

Wood (Trends in Food Science and Technology, 2002, vol. 13, n.º 6, páginas 313-320) es un artículo de revisión relacionado con los beneficios fisiológicos de la ingestión de β-glucano de cereal.

El documento US 2006/228461 desvela un proceso para preparar un producto de cereal con un aumento de la cantidad de β-glucano.

60 **Sumario de la invención**

La presente invención se refiere a una composición de fibra dietética que comprende al menos un componente de grano de cereal que contiene β-glucano, caracterizada por que el β-glucano se selecciona para que tenga un peso molecular máximo en el intervalo de 500 kDa a 3000 kDa, una solubilidad a 37 °C de al menos un 50 % de β-glucano extraído con respecto al contenido total de β-glucano en un extracto de la composición de fibra, y con una viscosidad

- del extracto a 37 °C de al menos 500 mPa·s medido a 30 s⁻¹; siendo el extracto preparado por mezcla de una muestra de 5 g de la composición de fibra en un matraz Erlenmeyer con 75 ml de tampón de fosfato sódico 20 mM, pH 6,9, que contiene NaCl 10 mM; agitación de la mezcla lentamente durante 15 min a 37 °C; adición de 250 µl de solución de α-amilasa salivar humana (5 mg/ml en CaCl₂ 3,6 mM); agitación de la mezcla durante un periodo adicional de 15 min; ajuste del pH a 2,0 con HCl 6 M y 1 M; adición de 625 µl de solución de pepsina porcina (0,5 mg/ml en NaCl al 0,9 %); incubación de la mezcla durante 30 min a 37 °C; ajuste del pH a 6,9 con NaOH 3 M; adición de 1,25 ml de solución de pancreatina (0,5 mg/ml en tampón de fosfato sódico 20 mM que contiene NaCl 10 mM); continuación de la incubación durante 90 min; y centrifugación de una alícuota durante 10 min a 7.000 x g.
- 10 La importancia del uso de β-glucanos dentro de un intervalo de PM relativamente elevado y que tienen una solubilidad relativamente elevada no se ha reconocido previamente. No se puede suponer directamente que todos los β-glucanos que tengan el mismo PM también podrían tener la misma solubilidad. Existen β-glucanos de PM elevado con baja solubilidad y otros con una solubilidad más elevada. La solubilidad y el PM dependen del tipo de producto alimentario en el que está presente el β-glucano, y de los métodos de producción usados cuando se preparan β-glucanos que contienen productos y composiciones alimentarios. Por consiguiente, la presente invención reside en la selección de esos β-glucanos en particular que tienen una combinación de PM y solubilidad máximos que producirán una viscosidad suficientemente elevada para proporcionar un efecto beneficioso en un contenido de β-glucano comparativamente bajo en la composición de fibra.
- 15
- 20 En particular, la invención se refiere a un cereal de avena extruido que contiene 3 g de β-glucano de avena de alto peso molecular o 4 g de β-glucano de avena de peso molecular medio, o 3 g de β-glucano de avena de peso molecular medio, o 4 g de β-glucano de avena de bajo peso molecular que reduce el colesterol LDL en suero y regula la respuesta glucémica en comparación con un cereal de salvado de trigo de control. Las cantidades de β-glucano se refieren a la cantidad en una porción recomendada del cereal de avena. El efecto de regulación de reducción del colesterol LDL y de la respuesta glucémica del β-glucano está directamente relacionado con su capacidad para aumentar la viscosidad de los contenidos intestinales, que a su vez, está relacionado con el peso molecular (PM), concentración y viscosidad del β-glucano solubilizado en el intestino delgado.
- 25
- 30 La invención también se refiere a un cereal de avena extruido que contiene 2,2 g de β-glucano de avena de alto peso molecular o 3,8 g de β-glucano de avena de peso molecular medio, o 5,5 g de β-glucano de avena de bajo peso molecular, que aumenta los niveles que PYY en plasma en comparación con un cereal de salvado de trigo de control por ración recomendada del cereal de avena.
- 35 La solubilidad "C" del β-glucano se mide como se desvela en el presente documento y en el presente documento se define como la cantidad de β-glucano en un extracto de un producto alimentario o composición que contiene β-glucano y se expresa como el porcentaje del contenido total de β-glucano en el producto o composición alimentarios que se encuentra en el extracto. La solubilidad variará entre diferentes productos alimentarios como se observa en la Tabla 1. La solubilidad del β-glucano depende del peso molecular del β-glucano y también depende en gran medida del tratamiento d del componente de grano del cereal en la composición de producto alimentario. Por consiguiente, la despolimerización y manipulación del β-glucano durante la fabricación de pan, la presencia de otros ingredientes, métodos de procesamiento y condiciones de almacenamiento pueden influir en la solubilidad y en consecuencia en la viscosidad y en la actividad fisiológica resultante. En la composición dietética de acuerdo con la presente invención, el β-glucano se selecciona para que tenga una solubilidad de al menos un 50 %, preferentemente al menos un 75 %, medida con el método *in vitro* que se describe a continuación.
- 40
- 45 La composición de fibra dietética de acuerdo con la presente invención puede tener un contenido de proteína de aproximadamente un 2-20 % en peso, un contenido de grasa de aproximadamente un 3 % en peso y un contenido de fibra de aproximadamente un 10-50 % en peso.
- 50 La composición de fibra dietética de acuerdo con la presente invención puede tener un contenido de β-glucano inferior a un 50 % en peso, preferentemente inferior a un 40 % en peso, más preferentemente inferior a un 30 % en peso.
- 55 Para el fin de la presente invención, la solubilidad, C, se ha definido como se establece en el presente documento y es el porcentaje de β-glucano en una composición/producto alimentarios que se disuelve en un extracto de la composición/producto alimentarios.
- 60 Sin embargo, en la técnica se pueden encontrar otras definiciones de solubilidad a la cantidad de β-glucano disponible, tales como g de β-glucano/g de alimento, g de β-glucano ración, g de β-glucano soluble/ración, g de β-glucano/ml de extracto *in vitro*.

Tabla 1. Propiedades de productos que contienen β -glucano

Muestra	PM (kDa)	Contenido de β -glucano (% de peso fresco)	Contenido de Humedad (%)	Solubilidad (%) ¹	Solubilidad (%) ²	Contenido de β -glucano (% en p/v) ¹	Viscosidad a 50 s ⁻¹ (mPa·s) ¹
Salvado de avena	2000	22	5,0	76	53	0,46	413,8
OatWell®							
Pan Pro-FIT®, fresco	360	2,2		72	48	0,47	61,5
Pan Pro-FIT®, congelado 1 día	360	2,2	43,3	63	44	0,42	51
Pan Pro-FIT®, congelado 2 semanas	360	2,2	43,3	61	46	0,39	45,8
OatWell® pan 1	400	2,0	45,0	58	35	0,43	35,1
OatWell® pan 2	1000	2,2	47,2	60	54	0,45	93
OatWell® pan 3	1500	2,2	36,0	60	44	0,48	157
OatWell® pan 4	900	3,9	5	40	40	0,28	176
OatWell® pan 5	600	2,2	43	41	35	0,59	89
OatWell® pan 6	450	1,9	6,3	54	63	0,51	92
OatWell® pan 7	800	2,1	29	52	35	0,53	113
OatWell® pan 8	700	2,1	31,6	56	47	0,48	73
OatWell® pan 9	700	2,1	27,1	36	26	0,43	101,4
OatWell® pan 10	500	2,1	46,6	46	20	0,39	63
OatWell® galleta 0	126	2,1	4,1	56	60	0,26	143
OatWell® copos de cereal 0	100	3,3	4,5	59	73	0,46	150
OatWell® barras de cereal 0	110	6,4	11	38	39	0,92	1122
OatWell® patata frita 0	180	11,2	6,3	56	65	0,66	96

¹ Extractos en agua caliente (100 °C)

² Extractos a temperatura fisiológica (37 °C)

5 La composición de fibra dietética de acuerdo con la presente invención debería tener preferentemente un contenido de β -glucano de al menos un 1 % en peso. En los ejemplos que se muestran a continuación, el contenido de β -glucano estaba en el intervalo de un 3-15 % en peso. Por supuesto, es posible usar un contenido de β -glucano más elevado e incluso tan elevado como un 100 % de la composición o producto alimentario de fibra.

10 La fuente de β -glucano de la composición de fibra dietética de acuerdo con la presente invención se selecciona entre avena, cebada, centeno o trigo.

15 La composición de fibra dietética, como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, se puede incorporar en productos alimentarios y bebidas. Los productos alimentarios y bebidas pueden incluir, pero no se limitan a, bebidas, pan y productos horneados, cereal, aperitivos extruidos, sustitutos de carne, barras, pasta, aderezos para ensalada, sopa, tortillas, y yogur.

Las bebidas a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, jugo y bebidas de jugos de frutas, verduras y mezclas; bebidas lácteas, incluyendo leches fluidas, leches cultivadas, leches fermentadas y bebidas de yogur; bebidas de sustitución de comidas, tales como bebidas dietéticas y de control de peso; mezclas de bebidas en polvo; bebidas lácteas, que incluyen, pero no se limitan a, batidos, batidos de frutas, y mezclas de jugo/productos lácteos;

leches en polvo de productos lácteos y no lácteos; bebidas basadas en soja y basadas en arroz; bebidas energéticas y deportivas; bebidas con alto contenido de proteína; bebidas carbonatadas; bebidas en gel; agua y pulpas; bebidas basadas en té y bebidas basadas en café.

- 5 Las barras a modo de ejemplo incluyen barras de sustitución de comida, barras energéticas, barras de contenido elevado de proteína, barras de muesli y barras de cereal con o sin relleno.

Las aplicaciones de panadería potenciales incluyen panes, rollos, bollos, pan de maíz, panes rápidos, rosquillas, magdalenas, bagels, panes planos, tortitas, gofres, galletas, pasteles, bollería, croissants, bizcochos, panecillos, 10 galletas saladas, pretzels, nachos, tortillas para tacos, pasta, tapas de masa, bordes de pizza y mezclas de panadería.

La composición de fibra dietética también se puede incorporar en suplementos nutricionales, es decir, preparaciones destinadas a proporcionar nutrientes que faltan o que no se consumen en una cantidad suficiente en la dieta de una 15 persona. Los suplementos nutricionales pueden incluir, pero no se limitan a, vitaminas, minerales, fibra, ácidos grasos o aminoácidos formulados en píldoras, cápsulas, comprimidos, en polvo o en forma líquida.

El producto alimentario y los suplementos nutricionales que contienen la composición de fibra dietética como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 se puede usar para tratamiento y/o profilaxis de 20 hipercolesterolemia, regulación de la respuesta glucémica y control del apetito en un mamífero, en particular en un ser humano.

La composición de fibra dietética como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 también se puede usar para el enriquecimiento con fibra de productos alimentarios y suplementos nutricionales. 25

La composición de fibra dietética como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 también se puede incorporar en un medicamento para tratamiento y/o profilaxis de hipercolesterolemia, regulación de la respuesta glucémica y control del apetito en un mamífero, en particular en un ser humano.

30 Los polímeros se pueden concebir como segmentados y en forma de gusano en solución. Los segmentos se orientan de forma aleatoria en el espacio y fluctúan rápidamente pero no pueden ocupar el mismo espacio. Se puede considerar que cada molécula ocupa una esfera de volumen sumando las fluctuaciones a lo largo del tiempo. El término bobina aleatoria se usa para describir el comportamiento y en la mayoría de las circunstancias las moléculas de beta glucano de cereal se comportan como bobinas aleatorias. La superposición y "enmarañamiento" de estas 35 bobinas, por encima de una concentración mínima, u ocupación de volumen del polímero en el disolvente, es lo que limita el flujo de líquido, y conduce a una viscosidad notablemente mayor que la del disolvente. Con el tiempo, los β -glucanos de bajo peso molecular forman zonas de unión entre sí y ya no se orientan de forma aleatoria en solución, sino que se organizan para formar una estructura de gel, o fibras insolubles y partículas. A diferencia de un fluido viscoso, un gel no fluye, pero tiende a mantener su "propia forma" o la forma del recipiente que lo contiene.

40 Por lo tanto, un gel no es lo mismo que una solución viscosa, pero el término polisacárido gelificante viscoso se aplica con frecuencia al β -glucano y otras "fibras solubles" en la bibliografía de nutrición.

45 Los factores que influyen en la viscosidad de las soluciones de β -glucano de cereal son su peso molecular (PM) y su concentración; en productos alimentarios acabados, estos factores se pueden modificar por despolimerización y reducción de la solubilidad del β -glucano. También se ha mostrado que los métodos normales de procesamiento de alimentos pueden influir en el PM y la solubilidad del β -glucano en los productos alimentarios, lo que, a su vez, puede influir en su capacidad para reducir el colesterol en suero. La harina de trigo usada en la panificación contiene 50 enzimas β -glucanasas que, en algunos casos, son extremadamente resistentes al calor, lo que conduce a la despolimerización del β -glucano de la avena y a la reducción de su peso molecular. La despolimerización influida por la β -glucanasa del β -glucano en el salvado de avena incorporado en magdalenas al principio aumenta, a continuación disminuye. La solubilidad del β -glucano está influenciada en gran medida por los métodos de secado, y se puede disminuir con ciclos de congelación y descongelación.

55 La bioactividad o biodisponibilidad de un componente alimentario se puede ver influida por la estructura y composición del propio componente, las propiedades fisicoquímicas del alimento en el que se añade el componente alimentario, los cambios que se pueden producir en el estado sin procesar del ingrediente, el método culinario o de elaboración y la naturaleza y duración de cualquier periodo de almacenamiento. Por supuesto, la bioactividad de un alimento o de un componente alimentario también se puede ver influenciada por la naturaleza de la dieta en su 60 conjunto y el medio luminal intestinal, lo que podría influir en la estabilidad del componente activo y la eficacia con la que el componente puede tener efectos fisiológicamente relevantes.

Durante la producción de alimentos, y especialmente en el horneado, algunas condiciones de procesamiento y/o manipulación pueden conducir a una descomposición parcial de las moléculas de β -glucano desde 65 aproximadamente un peso molecular (PM) de 2 millones de Dalton (Da) hasta intervalos de aproximadamente 100 000 a 500 000 Da. Esto se debe casi exclusivamente a la presencia de β -glucanasas, la mayoría de las cuales

actúan por hidrólisis de enlaces β -(1,4). Estas enzimas están presentes en otros ingredientes de hornear, por ejemplo harina de trigo. La mezcla y el tiempo de fermentación influyen en la velocidad y el grado de rotura. Incluso si se sabe por experiencia que el β -glucano de alto peso molecular y la viscosidad elevada son necesarios para los efectos beneficiosos que se han descrito anteriormente, todavía no está claro dónde está situado el límite del PM. En algún momento se hace necesario tener cantidades muy elevadas para alcanzar la concentración crítica o de superposición y en ocasiones la molécula ya no se comporta como polímero de bobina aleatoria.

En la mayoría de los estudios clínicos de productos de avena y fibra soluble en general, se ha reconocido la posible influencia de la viscosidad pero muy pocas mediciones. No hay datos clínicos sobre las relaciones de viscosidad con los niveles de lípidos en la sangre.

Numerosos estudios identifican los beneficios potenciales del control de peso de las dietas con alto contenido de fibra. La evidencia epidemiológica relaciona la ingesta de fibra inversamente a los niveles de población de sobrepeso y obesidad, la delgadez en los individuos con mayor consumo de fibra y las personas obesas con menor consumo de fibra. Los estudios potenciales también muestran que el consumo de granos enteros está inversamente relacionado con el aumento de peso con el tiempo. Los estudios dietéticos normalmente identifican los beneficios asociados con la fibra y/o granos enteros y postulan mecanismos relacionados con ingesta, digestión y hormonas asociadas con sensaciones de saciedad. La identificación del mecanismo por el que la ingesta de fibra actúa intensamente, puede ayudar a establecer posiciones teóricas para emprender ensayos de intervención de reducción de peso a más largo plazo.

Las fibras solubles, tales como β -glucano, influyen en el apetito por propiedades químicas y físicas (en particular su acción de formación de volumen) y aumentan la viscosidad en el tracto gastrointestinal. El β -glucano, mejora el control de glucosa e insulina, sin embargo, una mayor respuesta insulinémica puede aumentar las sensaciones de plenitud cuando los sujetos reciben una cantidad determinada de carbohidrato. Cualquier reducción del apetito o ingesta después de la ingestión de β -glucano, debe ocurrir a pesar de una disminución de la respuesta a la insulina.

Se produce una disminución del bolo alimenticio con las enzimas digestivas que interrumpen la formación de micelas y el contacto con la pared gastrointestinal. Los nutrientes llegan más lejos en el intestino, inhibiendo la hormona del apetito gástrica, grelina, y estimulando la hormona de la saciedad duodenal, colecistoquinina (CCK), junto con el péptido 1 de tipo glucagón y el péptido Y-Y₃₋₃₆ (PYY₃₋₃₆), todos los cuales disminuyen el apetito.

El péptido Y-Y (PYY) pertenece a la familia polipeptídica pancreática, que incluye polipéptido pancreático y neuropéptido Y (NPY). El péptido Y-Y (PYY) es secretado principalmente por las células endocrinas en el intestino delgado distal y el colon. La dipeptidil peptidasa-IV hidroliza PYY y convierte el precursor PYY₁₋₃₆ en PYY₃₋₃₆. El péptido Y-Y₃₋₃₆ actúa en las células NPY a través del receptor Y2 de NPY en la parte medial del núcleo hipotalámico arqueado del cerebro. En los seres humanos, las infusiones de PYY₃₋₃₆ comparables a las que se obtuvieron después de una comida dan como resultado una disminución de la ingesta de energía en comidas posteriores en comparación con un grupo de control.

Los individuos obesos tienden a tener PYY₃₋₃₆ endógeno más bajo. La corrección de esta anomalía o sus efectos a través de medios farmacológicos se convirtió en una búsqueda legítima para los investigadores de la obesidad.

Unos pocos estudios han realizado mediciones de las hormonas del apetito en relación con el consumo de β -glucano. Sin embargo, parece que la fibra prolonga el aumento de la colecistoquinina (CCK) después de una comida, lo que debería dar lugar a una saciedad prolongada. Otras hormonas, tales como grelina, estimulan la ingesta de alimentos. Se produce un aumento de grelina antes de la comida, que a continuación disminuye al dejar de ayunar. Un alimento que pudiera limitar el aumento de la grelina, ya sea de forma absoluta o a través de un retraso del aumento, podría ser de interés para los investigadores del apetito y la obesidad.

Se reconoce que la variabilidad en el procesamiento de la avena, concentrados de fibra de avena y productos que suministran la dosis de β -glucano altera los parámetros fundamentales, especialmente la solubilidad y la viscosidad que contribuyen a la funcionalidad del β -glucano. Se cree que estos parámetros tienen un papel fundamental para invocar los mecanismos de saciedad. El presente estudio de efectos de saciedad del β -glucano ha medido concentración, solubilidad, viscosidad y peso molecular, para asegurar la integridad de los productos de β -glucano usados.

Breve descripción de las figuras

- 60 La Figura 1 muestra el procedimiento para extracción en agua caliente de las muestras que contienen β -glucano.
- La Figura 2 muestra el procedimiento para digestión *in vitro* de las muestras que contienen β -glucano.
- 65 La Figura 3 muestra un diagrama de la viscosidad de extractos *in vitro* de diferentes composiciones que contienen β -glucano.

- La Figura 4 muestra un diagrama de la distribución de peso molecular del β -glucano en extractos *in vitro* de diferentes composiciones. Para referencia: 1.000.000 = 13,54 min, 100.000 = 15,44 min, 10.000 = 17,34 min y 1.000 = 19,24 min
- 5 La Figura 5 muestra la relación entre $\log(P_m \times C)$ y $\log(\text{viscosidad})$, en la que la viscosidad es la viscosidad aparente del extracto *in vitro* medida en $\text{mPa}\cdot\text{s}$ a 30 s^{-1} , P_m es el peso molecular máximo del β -glucano del extracto y C es la concentración del β -glucano en el extracto. Una regresión se ajusta a la región de semidilución del gráfico.
- 10 La Figura 6 muestra la diferencia en los niveles de colesterol en las personas de ensayo c después de 4 semanas de consumo de composiciones que contienen β -glucano, en comparación con un grupo de control.
- 15 La Figura 7 muestra cambios no ajustados a partir del valor inicial en el colesterol total y LDL para los tratamientos de Control (\bullet) y 3H (\circ). Los valores son la media \pm ETM para $n = 87$ sujetos en el Control y $n = 86$ en 3H.
- 20 La Figura 8 muestra correlaciones entre $\log(\text{PM} \times C)$ y LDL en suero, $\log(\text{viscosidad})$ y LDL en suero y $\log(\text{PM} \times C)$ y $\log(\text{viscosidad})$. Los valores de p para las correlaciones con LDL son a partir del análisis de covarianza, el valor de p para $\log(\text{PM} \times C)$ y $\log(\text{viscosidad})$ es el de las $n = 5$ observaciones.
- 25 La Figura 9 muestra cromatogramas de exclusión por tamaño del PM del β -glucano en los extractos *in vitro*. Los picos representan la distribución del β -glucano, PM en, desde la parte superior a la inferior, salvado de avena OatWell™ (ingrediente sin procesar), LBG, MBG y HBGO. (Las alturas de los picos se ajustaron para permitir una comparación mejor y no reflejan la concentración en el extracto original).
- 30 La Figura 10 muestra las respuestas del péptido Y-Y corregidas para el valor inicial. Análisis de varianza de medidas repetidas 0-120 minutos, $P = 0,435$; 120-240 minutos, $P = 0,035$ (ensayo de t de Student, control con respecto a HBG a los 240 minutos, $P = 0,006$).
- 35 La Figura 11 muestra el AUC neta del péptido Y-Y para cada comida de ensayo. $R^2 = 0,994$ para la dosis con respecto al AUC neta de PYY ($P = 0,003$).

Descripción detallada

Hipercolesterolemia y respuesta glucémica

- 40 Para determinar los efectos de la of the composición de fibra dietética de acuerdo con la presente invención en los niveles de colesterol y la respuesta glucémica, se realizó un estudio clínico. Un objetivo del estudio era determinar el efecto a corto plazo (4 semanas) del consumo de un cereal de avena extruido que contiene 3 g de β -glucano de avena de alto peso molecular, o 4 g de β -glucano de avena de peso molecular medio, o 3 g de β -glucano de avena de peso molecular medio, o 4 g de β -glucano de avena de bajo peso molecular o diariamente en comparación con un cereal de salvado de trigo de control en el colesterol LDL en sujetos sanos con colesterol LDL moderadamente elevado.

- 50 Otro objetivo del estudio era determinar si existe una correlación significativa entre el colesterol LDL en sujetos sanos con colesterol LDL moderadamente elevado y $\log(C \times PM)$, en el que C es la cantidad de β -glucano soluble en la comida y PM es el peso molecular del β -glucano en la comida. Además, otro objetivo del estudio era determinar la relación de los parámetros mencionados anteriormente con $\log(C \times PM)$.

Extracción de β -glucano

- 55 Un resumen esquemático del procedimiento de extracción y la digestión *in vitro* se presenta en las Figs. 1 y 2.

La extracción del β -glucano que era soluble a $37\text{ }^\circ\text{C}$ con cambios de pH y enzimas digestivas hace posible caracterizar la porción de los β -glucanos que se podría solubilizar en el intestino superior mientras que los ácidos biliares se excretan y muchos nutrientes se absorben.

60 Extracción en agua caliente

- 65 Las muestras se molieron en un molino de muestra Cyclone (Udy Corp., Fort Collins, CO) para pasar un tamiz de 1 mm. Antes de las extracciones, se mezclaron aprox. 5 g de harina con 100 ml de etanol acuoso (70 %) y se agitó a refluo durante 2 h a $85\text{ }^\circ\text{C}$ para inactivar las β -glucanasas. El sobrenadante se retiró después de centrifugación ($8.000 \times g$, 15 min), y el residuo se lavó con 20 ml de etanol acuoso (95 %) y se sé con una placa caliente. La etapa

de secado se completó en un horno de vacío a 80 °C durante 3 horas.

Digestión in vitro

- 5 Una muestra de 4 g de cereal de avena se mezcló con 25 ml de agua hirviendo y se cocinó durante 2 min. Se permitió que las muestras se enfriaran durante 10 min antes de su digestión.

Una muestra (\approx 5 g) se mezcló en un matraz Erlenmeyer con 75 ml de tampón de fosfato sódico 20 mM (SPB, pH 6,9) que contiene NaCl 10 mM, se agitó lentamente durante 15 min a 37 °C, y se añadieron 250 μ l de solución de α -amilasa salivar (5 mg/ml en CaCl₂ 3,6 mM; A-1031, Sigma, St. Louis, MO). La mezcla se agitó durante un periodo adicional de 15 min, pH se ajustó a 2,0 con HCl 6 M y 1 M, se añadieron 625 μ l de solución de pepsina porcina (0,5 mg/ml en NaCl al 0,9 %, P7012, Sigma), y la mezcla se incubó durante 30 min a 37 °C. Después de neutralización (pH 6,9) con NaOH 3 M, se añadieron 1,25 ml de solución de pancreatina (0,5 mg/ml en SPB 20 mM que contiene NaCl 10 mM, P-7545, Sigma) y la incubación continuó durante 90 min. Una alícuota se centrifugó (7.000 x g, 10 min). El contenido y el peso molecular máximo del β -glucano en el extracto se determinó mediante análisis de inyección de flujo (FIA) y cromatografía por exclusión de tamaño de alto rendimiento (HPSEC) como se describe a continuación.

Análisis fisicoquímico de β -glucano

20 Solubilidad

El β -glucano solubilizado en el sobrenadante a partir de la extracción con digestión *in vitro* como se ilustra en la Fig. 2 se midió mediante análisis de inyección de flujo (FIA) como se describe en Jørgensen *et al.*, Carlsberg Res. Comm., 1988. La solubilidad del β -glucano se calculó como porcentaje del β -glucano extraído con respecto al contenido total de β -glucano en el material de muestra. El contenido de β -glucano se midió con el método de McCleary/Megazyme (AACC32-23).

30 *Peso molecular (PM)*

Como se usa en el presente documento, peso molecular (PM) se refiere al peso molecular máximo (P_m). El peso molecular máximo (P_m) del β -glucano se determinó usando cromatografía de exclusión por tamaño de alto rendimiento (HPSEC) con adición de calcofluor postcolumna (Wood *et al.*, Cereal Chem., 1991) usando dos columnas (300 X 7,5 mm) en series de Shodex OHPak KB806 M (J. M. Science Inc., Grand Island, NY) y Waters Ultrahidrogel (Waters, Milford, MA). Las columnas se mantuvieron a 40 °C y se eluyó con tampón Tris 0,1 M a 1 ml/min usando una bomba 10 ATVP de Shimadzu. Un automuestreador ISS 100 de PerkinElmer e inyector se usaron con un volumen de inyección de 100 μ l. Postcolumna, el eluyente se mezcló a 1:1 con 20 mg/l de calcofluor en tampón Tris 0,1 M (pH 8,0) usando una bomba del modelo 590 de Waters. La fluorescencia se midió usando un detector de fluorescencia RF-10AXL (excitación, 360 nm; emisión, 540 nm). Los patrones de PM de β -glucano que varían de 20 000 a 1 200 000 Da fueron proporcionados por Megazyme, Int (Bray Co., Wicklow, Irlanda) o producidos como se describe en Wang *et al.*, Food Hydrocoll., 2003. El PM de los patrones se determinó esencialmente como se describe en Wang *et al.*, Food Hydrocoll., 2003.

El proceso de digestión *in vitro* extrajo $38,7 \pm 1,5$ % del β -glucano del salvado de avena sin procesar, que era una cantidad inferior a la de todos los cereales extruidos. El aumento de la temperatura y SME aumentaban la solubilidad del β -glucano y la concentración en el extracto (Tabla 3). A pesar de este aumento de la concentración, la viscosidad de los extractos disminuyó debido a la disminución simultánea del peso molecular del β -glucano. Los extractos de cereal de salvado de avena mostraban un comportamiento de fluidificación por cizalla habitual en las soluciones de polímeros (Figura 3). Las soluciones de pesos moleculares más elevados presentaban viscosidad es más elevadas a tasas de cizallamiento bajas y grados de fluidificación por cizalla más elevados. El extracto del cereal de salvado de trigo presentaba una viscosidad muy baja y un comportamiento casi Newtoniano, lo que indica una solución diluida.

La distribución de pesos moleculares se muestra en la Figura 4. Con la excepción de 3H, que presentaba una cola en el extremo del peso molecular bajo, los picos eran casi simétricos. Una comparación de los pesos moleculares del β -glucano total y soluble muestra que los β -glucanos solubles son similares en su distribución a los β -glucanos totales excepto para el cereal de trigo. Por lo tanto, en estos cereales de avena y los β -glucanos de alto peso molecular ni los de bajo peso molecular se extraen preferentemente del cereal a 37 °C con los tratamientos de pH y enzimáticos. El β -glucano en cereal de trigo muestra una extracción preferente de los polímeros de bajo peso molecular usando el protocolo de extracción *in vitro*. Aunque el peso molecular máximo del β -glucano total era 422.000, la porción que se solubilizó tenía un peso molecular máximo de 36.000.

En soluciones diluidas, las moléculas no interactúan y la viscosidad aumenta de forma lineal, con el aumento de la concentración del polímero. Sin embargo, por encima de la concentración crítica, los polímeros se llegan a enredar y la viscosidad aumenta de forma exponencial con el aumento de la concentración. La Figura 5 muestra la relación entre viscosidad y $P_m \times c$ para las viscosidades del extracto. La viscosidad del extracto de cereal de trigo era

solamente ligeramente superior a la viscosidad del agua a 25 °C (1,0 mPa·s) y entra por debajo de la concentración de solapamiento crítica. Por lo tanto, el extracto de cereal de trigo entra en el régimen de viscosidad diluida.

Viscosidad

5 Las mediciones de la viscosidad de los extractos de fibra soluble acuosos se realizaron con Haake RheoStress 600 (Reómetro, ThermoHaake; sensores de cono y placa). El comportamiento de flujo de los extractos se estudió mediante medición de cizallamiento estacionario. La viscosidad aparente se midió en un intervalo de tasa de cizallamiento de 400-0,1 s⁻¹. Véase la Figura 3. Para análisis estadístico, las viscosidades medidas a la tasa de cizallamiento de 30 s⁻¹ se usaron principalmente para coherencia con las publicaciones anteriores.

15 La Figura 5 muestra la relación entre log(viscosidad) y log(P_m X C) en la que la viscosidad es la viscosidad aparente del extracto *in vitro* medida en mPa·s a 30 s⁻¹, P_m es el peso molecular máximo del β-glucano extraído y C es la concentración del β-glucano en el extracto. Una regresión se ajusta a la región de semidilución del gráfico. El gráfico de la Figura 5 muestra que la viscosidad se puede sustituir con P_m X C ya que existe una relación matemática entre viscosidad y log P_m X C. Básicamente, la Figura 5 muestra que el peso molecular y la concentración de un polímero son lo que determina la viscosidad de la solución de polímero (a una temperatura constante). Para concentraciones y/o pesos moleculares muy bajos, la concentración aumenta de forma lineal pero una vez que los polímeros se concentran lo suficiente como para solaparse, el aumento es exponencial.

20 Diseño y plan de estudio general

25 El estudio tiene un diseño paralelo, aleatorio, doble ciego. Los sujetos idóneos se asignan de forma aleatoria a uno de cinco tratamientos que consisten en un cereal de salvado de trigo de control o un cereal de avena extruidos que contienen diversas cantidades y que sus moleculares de β-glucano de avena. Una muestra de sangre en ayunas se obtiene en el día de la asignación de forma aleatoria, justo antes que comenzar a consumir los cereales del estudio, y a intervalos semanales durante 4 semanas. En el periodo inicial se recogen peso corporal, presión sanguínea, los registros de dieta e información sobre síntomas y a intervalos durante todo el estudio.

30 Sujetos

Criterios de idoneidad

- 35 - hombres y mujeres no embarazadas
- edad de 35 a 70 años en el momento de la firma del formulario de consentimiento
- índice de masa corporal (IMC) ≥ 18,5 kg/m² y ≥ 40,0 kg/m²
- peso estable durante los últimos 6 meses (dentro de 4 kg)
- sin intención de perder o ganar peso
- 40 - colesterol total en suero en ayunas ≥ 5,0 y ≤ 8,0 mmol/l Y colesterol LDL en suero en ayunas ≥ 3,0 and ≤ 5,0 mmol/l dentro de 8 semanas de la asignación de forma aleatoria
- triglicéridos en suero en ayunas < 4,0 mmol/l
- aspartato transaminasa en suero (AST) < 1:5 veces el ULN (límite superior del normal)
- urea o creatinina en suero < 1,8 veces el ULN
- 45 - no ha tomado ningún fármaco con receta, hierba medicinal u otra medicación para reducir los niveles de colesterol o triglicéridos en sangre dentro del 2 veces de la asignación de forma aleatoria
- ausencia de diabetes mellitus, definida como glucosa en plasma en ayunas < 7,0 mmol/l dentro de 8 semanas de asignación de forma aleatoria y no ha tomado insulina en los últimos 3 meses o ninguna medicación hipoglucémica o anti-hiperglucémica oral
- 50 - no está tomando, en el momento de la asignación de forma aleatoria, ningún medicamento conocido por afectar a los lípidos en sangre excepto por lo siguiente: dosis estables (durante los últimos 3 meses) de tiroxina, la píldora para el control de la natalidad, terapia de reemplazo hormonal y medicaciones para controlar la presión sanguínea
- ningún suceso quirúrgico o médico importante que requiera hospitalización dentro de 6 meses de la asignación de forma aleatoria
- 55 - ningún trastorno o medicación gastrointestinal que altere la digestión y la absorción de nutrientes -consumo de una dieta que contenga menos de < 15 % de energía que provenga de grasa saturada
- dispuesto y capaz de consumir 28 g de cereal al día
- no alérgico al trigo o la avena
- dispuesto y capaz de leer, entender y firmar el formulario de consentimiento en el idioma en el que está escrito.

60

Criterios de exclusión

- 65 - uso de cualquier estatina, fibrato, inhibidor de absorción del colesterol, secuestrante de ácidos biliares, o cualquier otro fármaco con receta o sin receta médica, hierba medicinal (por ejemplo, goma guar, psilio u otra preparación de fibra, Googoolipid, extracto de levadura roja, ajo, ginseng) u otra medicación que reduzca el colesterol en suero dentro de 2 meses de asignación de forma aleatoria

- consumo regular (definido como ≥ 5 veces a la semana) de cereales que contengan harina de avena, salvado de avena o psilio
- lípidos en suero, o cualquier otro valor bioquímico fuera de los límites estipulados anteriormente
- intención de perder o ganar peso
- 5 - historia de fluctuación del peso y/o ponerse a dieta con frecuencia (de acuerdo con la opinión del investigador)
- intención de alejarse del hogar durante más de 3 días consecutivos durante el período del estudio
- imposibilidad, debida a viaje intencionado u otra razón, de tomar panes crujientes del estudio durante más de un total de 3 días durante las primeras 3 semanas, o más de 1 día durante la 4 semana del periodo de estudio.

10 *Criterios de asignación de forma aleatoria*

Solamente los sujetos que satisfacen todos los criterios de inclusión/exclusión se asignan de forma aleatoria (visita 3). Para evitar confundir el estudio debido al aumento de ingesta de alimentos en las fiestas, ningún sujeto se asigna de forma aleatoria entre las fechas del 15 de noviembre y el 11 de enero inclusive.

15 *Método de Asignación del Sujeto y Procedimientos de Ocultación*

Cada centro cuenta con 99 números de ID (por ejemplo, centro 1, 101-199, centro 2, 201-299, etc.), con sujetos asignados a números de ID secuencialmente en el orden en el que se determina su idoneidad. Cada centro recluta ~51 sujetos. Para aumentar la probabilidad de que el colesterol LDL basal no difiera entre grupos de tratamiento, los sujetos se estratifican basándose en su concentración de colesterol LDL en la identificación sistemática en aquellos con $3,0 < \text{LDL} \leq 3,8$ mmol/l y aquellos con $3,8 < \text{LDL} < 5,0$. Los sujetos en cada centro, estratificados por LDL, se asignan de forma aleatoria a uno de los 6 tratamientos, en bloques de diferentes tamaños. Esto asegurará un equilibrio aproximado del número de sujetos asignados a cada tratamiento entre los centros, a la vez que se oculta el tratamiento al que, a su vez, se asigna cada sujeto. Se envían a los centros 70 sobres sellados marcados con el número de ID y que contienen el tratamiento asignado previamente y la dieta del perfil metabólico. Estos sobres son guardados por una persona no implicada en el estudio (por ejemplo, secretaria o enfermera) y se asignan a los sujetos en orden el día que asisten a la visita 3. La asignación de forma aleatoria y la creación de sobres sellados son realizados por el estadístico, que mantiene una lista maestra de números de ID y tratamientos.

30 *Producto del estudio*

Los sujetos idóneos se asignan de forma aleatoria para consumir uno de 5 cereales del estudio diariamente durante 4 semanas:

- 11 g de cereal de salvado de trigo de control (Cont) dos veces al día con las comidas principales
- 10 g de cereal de avena que contiene 3 g de β -glucano de PM elevado (3H) dos veces al día con las comidas principales
- 14 g de cereal de avena que contiene 4 g de β -glucano de PM medio (4M) dos veces al día con las comidas principales
- 40 - 11 g de cereal de avena que contiene 3 g de β -glucano de PM medio (3M) dos veces al día con las comidas principales
- 14 g de cereal de avena que contiene 4 g de β -glucano de PM bajo (4L) dos veces al día con las comidas principales

45 *Análisis del Producto*

Las muestras representativas de los alimentos de ensayo se analizaron en AAFC, Guelph. Un análisis aproximado se realizó en cada muestra (humedad, proteína, grasa, ceniza) con el carbohidrato disponible determinado mediante la medición de almidón y glucosa. El β -glucano total se midió y la distribución de peso molecular del β -glucano total se determinó como se ha descrito anteriormente. Una extracción *in vitro* se realizó a 37 °C. La viscosidad del extracto se midió y la concentración y el peso molecular del β -glucano en el extracto se determinó. La composición de los cereales se muestra la Tabla 2 y 3.

55 *Tabla 2. Composición de nutrientes de cereales de avena de control y extruidos*

Nombre	3H	4M	3M	4L	W
Humedad (%)	4,5	3,6	3,5	3,3	5,6
Proteína (Nx5,7) (%)	15,4	15,6	16,1	15,0	13,9
Grasa bruta (%)	3,4	3,8	3,5	3,5	5,6
Ceniza (%)	3,3	3,1	3,2	3,2	5,6
Almidón (%)	35,1	36,3	37,0	37,6	11,0

Nombre	3H	4M	3M	4L	W
Azúcares (%) ^a	7,07	7,17	6,05	5,60	15,01
Fibra dietética total (%)	27.8	27.7	28.5	28.3	38.3
β -glucano Total (%) ^b	14,95 (0,52)	14,20 (0,58)	14,22 (0,52)	14,08 (0,52)	2,21 (0,34)
Peso Molecular Máximo ^b	1.930.000 (279.000)	950.000 (17.000)	527.000 (29.000)	251.000 (5.000)	422.000 (21.000)

^a incluye glucosa, fructosa, sacarosa y maltosa

^b media de 4 valores \pm (desviación estándar)

Tabla 3: Características de β -glucano soluble en extracto *in vitro*. Media de 3 mediciones; desviación estándar entre paréntesis

	3H	4M	3M	4L	W
Viscosidad del extracto (mPa·s)	2900 (800)	1700 (160)	800 (96)	131 (12)	2.7 (3.2)
Concentración de β -glucano (mg/ml)	9,85 (1,05)	11,15 (0,92)	12,8 (0,82)	14,52 (1,51)	0,16 (0,08)
β -glucano Soluble (% del total)	66,78 (7,32)	80,24 (6,92)	92,22 (4,02)	101,68 (4,98)	8,65 (0,58)
Peso Molecular Máximo	2.213.000 (235.000)	847.000 (80.000)	528.000 (42.000)	211.000 (13.000)	36.000 (19.000)

5 Extracción a la temperatura de extracción fisiológica (37 °C)

Un método *in vitro* (modificado a partir de Beer *et al*, 1997), que simula la digestión fisiológica a 37 °C con enzimas digeribles (α -amilasa, pepsina y pancreatina) se usó para extraer el β -glucano de los materiales de muestra. Las muestras se pesaron en el tubo de centrifugadora de 250 ml. Se añadieron 100 ml de SPB y las suspensiones de la muestra se homogeneizaron por mezcla. Las suspensiones se incubaron 15 min a 37 °C en un baño de agua con agitación constante, y se añadieron 0,1 ml de solución de α -amilasa salivar (5 mg/ml en CaCl₂ 3,2 mM). A continuación, las suspensiones de muestras se incubaron durante 15 min a 37 °C en el baño de agua con agitación constante (90 rpm). A continuación, el pH de las soluciones de muestra se ajustó a pH 2,0 con HCl 4 M y se añadieron 0,15 ml de solución de pepsina (0,5 mg/ml en NaCl al 0,9 %), a partir de ese momento las muestras se incubaron 30 min a 37 °C en el baño de agua con agitación constante (130 rpm). Después de la incubación con el pH se ajustó a 6,9 con NaOH 2 M y se añadieron 0,3 ml de solución de pancreatina (0,5 mg/ml en el tampón de extracción). Las suspensiones se incubaron a 37 °C en el baño de agua con agitación constante (130 rpm) durante 90 min. El tiempo de extracción total fue de aproximadamente 2,5 h. Las suspensiones se centrifugaron a 10 000 rpm durante 10 min usando un rotor fijo GSA de Sorval. Las mediciones de la viscosidad de los extractos de fibra soluble acuosos se realizaron con Haake RheoStress 600 (Reómetro, ThermoHaake; sensores de cono y placa). El comportamiento del flujo de los extractos se estudió mediante la medición de cizallamiento estacionario. La solubilidad del β -glucano se calculó como porcentaje del β -glucano extraído, con respecto al β -glucano total en el material de muestra. El contenido de β -glucano se midió con el método de McCleary/Megazyme (AACC32-23).

25 Etiquetado y Almacenamiento del Producto

Los productos se envasan en cajas etiquetadas con el nombre del protocolo y el código de ID del producto. Cada caja contiene 14 raciones de cereal cada una empaquetada en una bolsa opaca etiquetada con el nombre del protocolo y el código de ID. El producto se debe almacenar a temperatura ambiente.

30 Distribución y Cumplimiento

El producto de estudio se distribuye a los sujetos en las Visitas 3, 4, 5 y 6. Cada caja contiene 14 bolsitas de cereal (suficiente para una semana). S a los sujetos se les pide que consuman dos bolsitas de cereal al día, una de las cuales se debería tomar con el ensayo. Cada semana se distribuye al menos una bolsa de cereales; de acuerdo con el criterio del centro, se puede proporcionar una caja adicional (por ejemplo, si sujeto planea perder o retrasar una visita, o como extra en el caso de una visita perdida o retrasada). A los sujetos se les pide que devuelvan el producto

no usado en la siguiente visita y el cumplimiento se evalúa restando la cantidad de vuelta de la cantidad distribuida.

Consejos Dietéticos/Cambios en el Peso Corporal

- 5 A los sujetos se les aconseja consumir una bolsita de cereal con el desayuno y una con una de las otras comidas principales durante el día. Por otro lado, los sujetos van a mantener sus dietas habituales con el objetivo de mantener su peso corporal. Si, durante el ensayo, un sujeto pierde más de 2,0 kg de peso corporal en comparación con su peso en la visita 3, se deberían tomar etapas para determinar la causa de la pérdida de peso y para aconsejar al sujeto de forma apropiada con el fin de evitar una pérdida de peso adicional o que vuelva a ganar el peso perdido. Si el sujeto gana más de 2 kg de peso corporal en comparación con su peso en la visita 3, se deberían tomar etapas para determinar la causa del aumento de peso y para aconsejar al sujeto de forma apropiada con el fin de evitar un aumento de peso adicional o pérdida del peso ganado.

15 Procedimientos

Visitas 1 y 2 - Identificación sistemática

Los sujetos potenciales proporcionan una muestra de sangre en ayunas en la Visita 1 para las siguientes variables a medir en el laboratorio del hospital local para determinar la idoneidad:

- glucosa
- urea, creatinina, aspartato transaminasa
- colesterol total y HDL, triglicéridos y LDL calculado.

- 25 Se mide altura, peso, circunferencia de la cintura y presión sanguínea, la historia médica se revisa, y se hace un registro del uso de fármacos, suplementos nutricionales y hierbas medicinales. Los sujetos reciben instrucciones sobre cómo mantener un registro de alimentos de 3 días. Los sujetos que son idóneos basándose en sus lípidos en sangre vuelven en 2-3 semanas para la Visita 2, momento en el que se miden el peso y la presión sanguínea y el registro de alimentos de 3 días se revisa para evaluar si 3 satisfacen el criterio de idoneidad para consumir una dieta saludable para el corazón. Los sujetos idóneos tienen programada la Visita 3.

Visita 3 - Asignación de forma aleatoria

- 35 Se obtiene una muestra de sangre en ayunas para la medición de glucosa, colesterol total y HDL y triglicéridos con colesterol LDL calculado, urea, creatinina, AST, proteína C reactiva y recogida de suero extra. A los sujetos se les realizará una medición de altura, peso, circunferencia de cintura y presión sanguínea y rellenarán el cuestionario de síntomas basales.

- 40 Los sujetos se asignan de forma aleatoria abriendo el siguiente sobre y pegando la etiqueta en la que está impresa la asignación de tratamiento en el CRF. Al sujeto se le proporciona un suministro de una semana del producto de estudio apropiado y se le dan instrucciones sobre cómo incorporar el producto en su dieta normal. A los sujetos se les pide que traigan el producto de estudio no usado con ellos en la próxima visita.

Visitas 4, 5 y 6 (semanas 1, 2 y 3)

- 45 Se obtiene una muestra de sangre en ayunas para la medición de glucosa, colesterol total y HDL y triglicéridos con colesterol LDL calculado, urea, creatinina, AST y proteína c reactiva, y recogida de suero extra. El peso y la presión arterial se miden. El número de raciones del producto de estudio consumidas se determina a partir de la cantidad distribuida en la visita anterior y la cantidad devuelta en la visita actual. El suministro de la próxima semana del producto de estudio se distribuye, a los sujetos se les pide que traigan el producto de estudio no usado con ellos a la próxima visita. En la visita 6 a los sujetos se les recuerda cómo rellenar un registro de comida de 3 días y se les proporcionan los formularios apropiados para registrar su ingesta de alimentos.

Visita 7 (semana 4)

- 55 Se obtiene una muestra de sangre en ayunas para medición de glucosa, colesterol total y HDL y triglicéridos con colesterol LDL calculado, urea, creatinina, AST y proteína c reactiva, y recogida de suero extra. El peso y la presión arterial se miden y se entrega un registro de dieta de 3 días y se revisa para completar lo. El cuestionario de síntomas se rellena. El número de raciones de producto de estudio consumido se determina a partir de la cantidad distribuida en la visita anterior y la cantidad devuelta en la visita actual.

Medicaciones Simultáneas

- 65 Las medicaciones simultáneas incluyen fármacos con receta y sin receta médica, suplementos nutricionales y hierbas medicinales y otros medicamentos. Los medicamentos simultáneos usados se registran en la medida inicial. A los sujetos se les pide que mantengan constante la dosificación de las medicaciones simultáneas a menos que se

requiera por razones médicas. Los cambios en las medicaciones simultáneas se registran en cada visita.

Recogida y procesamiento de sangre

5 El día antes de la recogida de muestras de sangre se pide a los sujetos que no realicen ninguna actividad física inusualmente vigorosa y que no consuman bebidas alcohólicas. En la noche anterior a cada muestra de sangre, se pide a los sujetos que consuman una comida normal de cena y que ayunen de 10-14 h antes de la muestra de sangre. Durante el periodo de ayuno solamente se permite el consumo de agua. A los sujetos que fuman se les pide que se abstengan de fumar en la mañana antes de la muestra de sangre.

10 Se mide glucosa en suero o en plasma, colesterol total y HDL y triglicéridos, urea, creatinina, AST y proteína c reactiva localmente en un laboratorio clínico certificado. Se siguen los procedimientos del laboratorio local para la recogida y procesamiento de las muestras de sangre. En las visitas 3 y 7, se recogen 10 ml de sangre extra en un tubo vacío, se deja que la sangre coagule durante 30 minutos, se centrifuga, el suero se retira y se separa en 3
15 alícuotas de ≥ 1 ml cada una, y se congelan a -20 °C. Las alícuotas se deberían colocar en lotes por separado y enviar en hielo seco a GI Labs, Toronto en lotes. Para reducir las posibilidades de perder todo el suero de un sujeto, las 3 alícuotas se deberían enviar en envíos separados.

20 En el formulario de informe de caso se deberían registrar los intervalos normales de glucosa, AST, urea y creatinina del laboratorio local.

Experiencias adversas

Sucesos Adversos

25 Los sucesos adversos se preguntan en cada visita y se registran en los formularios de informe de caso. Los sucesos adversos principales se definen como muerte, o sucesos agudos que requieren hospitalización o que provocan la prolongación de la estancia hospitalaria. Los principales sucesos adversos se deberían informar al comité de ética local dentro de las 24 h junto con una opinión sobre si el suceso estuvo relacionado o no con el tratamiento del estudio. No se espera que los tratamientos dietéticos, que consiste en alimentos normales, causen grandes sucesos
30 adversos.

Valores Laboratorio Anómalos

35 Los sujetos con valores de laboratorio para glucosa, urea, creatinina, AST, colesterol total o LDL o triglicéridos en la identificación sistemática que están fuera de los límites indicados en los criterios de inclusión/exclusión no son idóneos para el estudio y no se deberían ser asignados en forma aleatoria. Si estos valores se producen durante el estudio, su presencia se debe registrar como un suceso adverso (excepto que, durante el ensayo, el colesterol LDL
40 $< 3,0$ mmol/l y un colesterol total $< 5,0$ mmol/l no es un suceso adverso). Si los valores de glucosa, urea, creatinina, AST o triglicéridos después de la asignación de forma aleatoria están fuera de los límites indicados en los criterios de inclusión/exclusión, el ensayo se debería repetir tan pronto como fuera posible y, si se confirma, la participación del sujeto debería terminar debido a un suceso adverso y pedirá al sujeto que acuda a un médico para su evaluación y tratamiento. Los sujetos con aumentos persistentes del colesterol total o LDL pueden terminar el estudio, pero se les debería aconsejar que acudieran a un médico después de haber terminado el estudio para su evaluación y
45 tratamiento.

Tamaño y Potencia de la Muestra

50 Los cálculos de la variabilidad del colesterol LDL en suero usados en el análisis de potencia se basaron en las mediciones de LDL en las semanas 0 y 4 en 12 sujetos no diabéticos y 52 sujetos con diabetes tratados con dieta que cumplían los criterios de inclusión de lípidos para este estudio. La DT en la semana 0 fue de 0,50 y en la semana 4 fue de 0,64. La correlación entre los valores de la medida inicial y de la semana 4 fue de 0,66. Dado que hay 2 objetivos principales, el criterio de significancia se estableció en dos colas $< 0,025$ para cada objetivo. Para el
55 comparación de control con respecto a 3H, el tamaño del efecto esperado es una diferencia de un 8 %; hay una potencia de un 85 % para detectar una diferencia de un 8 % en el colesterol LDL en suero en la semana 4 entre los tratamientos de control y con 3 g a $p < 0,025$ con $n = 50$ sujetos en cada tratamiento. Para el análisis de correlación, la correlación esperada se determinó para valores para C X PM para los 5 tratamientos de 4000, 2000, 800, 200, 0 y valores para colesterol LDL en la semana 4 de 3,34, 3,40, 3,50, 3,60 y 3,65, respectivamente. La potencia para detectar que la correlación entre C X PM y colesterol LDL ($p < 0,025$) fue de un 96 % con $n = 50$ sujetos en los
60 tratamientos de control y 3H y $n = 40$ sujetos en los otros 3 tratamientos. Para permitir el abandono de un 15 %, 58 sujetos se asignan de forma aleatoria a cada uno de los tratamientos de control y 3H y 46 a los otros 3 tratamientos.

Resultados

65 Después de ajustar el LDL para la medida inicial y el estrato, se mostró que el colesterol LDL después de 4 semanas de tratamiento se veía influenciado de forma significativa por el tratamiento ($P = 0,0033$); también se mostró que no

se producía un efecto significativo de edad, sexo, IMC, circunferencia o centro de cintura y no había una interacción significativa entre LDL X tratamiento del valor inicial o estrato X tratamiento. Esto indica que la magnitud de cambio en el colesterol LDL, en mmol/l, no variaba de forma significativa por el LDL del valor inicial o por edad, sexo, IMC, circunferencia o centro de cintura. 3H reducía el LDL en 0,21 mmol/l (5,5 %; $P = 0,002$ ajustado con Bonferroni), 4M reducía el LDL en 0,25 mmol/l (6,5 %; $P = 0,007$) y 3M reducía el LDL en 0,18 mmol/l (4,7 %; $P = 0,012$); sin embargo, la reducción con 4L, 0,09 mmol/l (2,3 %) no era significativa ($P = 0,21$). En comparación con 4L, 4M reducía el LDL en 0,16 mmol/l (4,3 %, $P = 0,047$) (Tabla 4).

Tabla 4. Medias de mínimos cuadrados de los criterios de valoración después de tratamiento de 4 semanas

	3H (n = 86)	4M (n = 67)	3M (n = 64)	4L (n = 63)	W (n = 87)
Peso (kg) ^{1,2}	77,0 ± 0,1	77,2 ± 0,1	77,3 ± 0,1	77,1 ± 0,1	77,1 ± 0,1
LDL (mmol/l) ^{1,4}	3,63 ± 0,05 ^{bc}	3,59 ± 0,06 ^c	3,66 ± 0,06 ^{b c}	3,75 ± 0,06 ^{a b}	3,84 ± 0,05 ^a
Colesterol	5,73 ± 0,06 ^b	5,73 ± 0,07 ^{a b}	5,83 ± 0,07 ^{a b}	5,84 ± 0,07 ^{a b}	5,96 ± 0,06 ^a
TAG (mmol/l) ^{1,2}	1,29 (1,10, 1,38)	1,38 (1,28,1,50)	1,37 (1,26, 1,48)	1,27 (1,17, 1,38)	1,33 (1,24, 1,42)
HDL (mmol/l) ^{1,3}	1,39 (1,36, 1,42)	1,38 (1,34,1,42)	1,39 (1,35, 1,43)	1,43 (1,40, 1,47)	1,43 (1,40, 1,46)

Los valores son las medias de mínimos cuadrados ± SEM o (intervalos de confianza de un 95 % para valores transformados de forma log). LDL = colesterol de lipoproteína de baja densidad; TAG = triacilgliceroles; HDL = colesterol de lipoproteína de alta densidad; CRP = proteína c reactiva; AST = aspartato transaminasa; BP = presión sanguínea.

¹⁻⁶ Covariables incluidas en el modelo (correlacionadas con el valor de 4 semanas con $p < 0,1$):

¹ valor de la medida inicial;

² centro;

³IMC;

⁴ estrato;

⁵ circunferencia de la cintura;

⁶sexo.

^{abc} las medias con superíndices con letras diferentes se diferencian de forma significativa ($p < 0,05$, ajustado con Bonferroni)

Después de ajustar LDL y estrato de la medida inicial, se mostró que el log(PM X C) estaba relacionado de forma significativa con el colesterol LDL de la semana 4 ($P = 0,003$; Figura 5). De forma análoga, después de ajustar LDL y estrato de la medida inicial, el log(viscosidad) estaba relacionado de forma significativa con el colesterol LDL de la semana 4 ($P = 0,001$; Figura 5). Ni el sexo, centro ni IMC eran un factor de confusión significativo en cualquiera de los 2 modelos anteriores. A partir de los datos, no hay evidencias de que la relación entre LDL and log(PM X C) o la que existe entre LDL y log(viscosidad) se describa de forma significativamente mejor con una función no lineal. El log(PM X C) estaba relacionado de forma positiva con el log(viscosidad) de las soluciones de β -glucano obtenidas a partir de digestión *in vitro* de los 5 cereales de tratamiento (Figura 5).

Varias características del presente estudio pueden haber permitido el hallazgo de un efecto significativo del PM en el colesterol LDL. Se incluyeron varios niveles de PM X C de modo que el ensayo principal del efecto de PM X C en el colesterol LDL se basaba en análisis de regresión en lugar de una comparación de LDL entre tratamientos individuales. Sin embargo, dado que se inscribieron suficientes sujetos para asegurar una potencia adecuada para someter a ensayo las hipótesis, los inventores fueron capaces de detectar una diferencia significativa entre los efectos de 4M y 4L en LDL. El PM y C del β -glucano de avena en los productos alimentarios usados se evaluaron con cuidado antes y durante el estudio para asegurar que se obtuvieran los valores esperados y no cambiaban con el almacenamiento de los productos durante los 18 meses desde la producción hasta el final del ensayo. Además, se midió el PM y C los productos alimentarios después de digestión *in vitro* lo que puede reflejar más de cerca el efecto fisiológico del β -glucano dentro del intestino que la medición de PM en productos alimentarios o sus ingredientes, al igual que en estudios previos. Por último, el PM varió con respecto a un intervalo > 10 veces incluyendo valores mucho más elevados que los usados en los estudios previos.

El efecto reductor de LDL de 3H (0,070 mmol/l por gramo de β -glucano), 4M (0,063 mmol/l por gramo) y 3M (0,060 mmol/l por gramo) fue aproximadamente dos veces la media (0,032 mmol/l por gramo de fibra soluble), y mayor que el límite superior del intervalo de confianza de un 95 % (de 0,017 a 0,047 mmol/l por gramo). Sin embargo, el efecto de 4L, 0,023 mmol/l por gramo, no era significativo. Por lo tanto, los resultados de los inventores sugieren que el β -glucano de avena es eficaz para disminuir LDL si su PM es de al menos 530 000 g/mol, y es ineficaz a un PM de 210 000 g/mol. La biodisponibilidad (solubilidad) del β -glucano dentro del intestino es también un determinante principal de la viscosidad y es necesario tenerlo en cuenta, pero debido a que el intervalo de β -glucano biodisponible en los cereales de avena usados, 2-4 g, era mucho menor que el intervalo en PM, y dado que las diferencias en C no eran independientes de las diferencias en PM, no fue posible determinar los efectos independientes de PM y C.

Se considera que el consumo de 3 g de β -glucano de avena (OBG) al día es suficiente para reducir el colesterol LDL en suero (LDL). No todos los estudios lo demuestran, posiblemente debido a que la bioactividad del β -glucano se reduce en algunos productos alimentarios por baja solubilidad o bajo peso molecular (PM). Se sometió a ensayo si el consumo diario de 3 g de OBG (OatWell®) reducía el LDL y si el efecto de disminución de LDL dependía del log(PM X C), en el que C = dosis X solubilidad. Después de 4 semanas con 3H, el LDL era menor que en el control de 0,21 mmol/l (intervalo de confianza de un; 0,11, 0,30, P = 0,0023). El análisis de covarianza mostraba que el log (PM X C) era un determinante significativo de LDL en la semana 4 (P = 0.003). Se concluye que el consumo de 1,5 g de OBG de PM elevado dos veces al día reduce el de LDL en 0,2 mmol/l, pero la eficacia se reduce con OBG de PM y/o C menores. Por lo tanto, las propiedades fisicoquímicas del β -glucano influyen en el efecto de reducción de la LDL de la avena.

Control del apetito

Sujetos

Se buscaron sujetos con sobrepeso con edades entre 19-45 años (intervalo de índice de masa corporal de 25-36 kg/m²) con publicidad pagada. Se excluyeron los fumadores y los sujetos con alergias alimenticias conocidas. Las mujeres se examinaron dentro de la fase folicular de su ciclo menstrual. Se registraron altura, peso, circunferencia de cintura y porcentaje de grasa corporal (Modelo N.º UM-019 de la Escala de Tamta). Se recogió historia de la dieta y registros de alimentos pesados de tres días para diseñar comidas familiares dentro de las preferencias de gusto del sujeto. Se recogieron recordatorios dietéticos de veinticuatro horas para el día antes de cada visita de estudio. A los sujetos se les pidió que estuvieran en ayunas durante un mínimo de 10 horas antes de la presentación para las citas del estudio. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación Humana de la Universidad de Wollongong con el número de solicitud HE06/123.

Alimentos de ensayo

Los sujetos consumieron cinco comidas de desayuno diferentes (Tabla 5) en cinco ocasiones después de una noche en ayunas con un mínimo de tres días entre visitas. Las comidas consistían en un tazón de cereales servido con 200 ml de leche con contenido reducido de grasa y un vaso de agua. Los cereales del ensayo fueron un cereal de control basado en maíz, tres cereales con diferentes niveles de β -glucano (bajo - LBG, de gama media - MBG y elevado - HBGO) procedentes de OatWell™ (CreaNutrition, Suiza) un salvado de avena con contenido de glucano elevado, y un cereal con un concentrado de β -glucano de avena (52,02 % de β -glucano) producido mediante un proceso de extracción etanólica (HBGX). HBGO y HBGX se diseñaron para tener contenidos similares de β -glucano. Los cereales de ensayo extruidos se formularon a partir de harina de avena, harina de maíz, azúcar, maltodextrina, bicarbonato sódico, sal, agua y el ingrediente β -glucano. Se usó una extrusora de doble tornillo APV56 MPF50 (Baker Perkins Inc, MI). Para completar el desayuno de ensayo, el carbohidrato y la proteína disponibles se combinaron disolviendo el polímero de glucosa (Poly-Joule®, Nutricia Australasia) y la proteína en polvo (Beneprotein®, Novartis, Estados Unidos) en la leche.

Tabla 5. Composición y análisis de nutrientes de las comidas de ensayo

	Control	LBG	MBG	HBGO
Composición de la comida				
cereal (g)	39	45	45	45
polímero de carbohidrato (g)	-	-	4	8
proteína en polvo (g)	3	2	1	-
leche grasa al 2 % (ml)	200	200	200	200
Perfil de nutrientes				
proteína total (g)	13,3	13,4	13,4	13,5
grasa total (g)	3,2	3,6	3,8	4
carbohidrato disponible (g)	43,6	43,2	42,9	42,6
fibra total (g)	1,2	3,7	6,7	9,7
β -glucano (g/ración)	-	2,16	3,82	5,45

	Control	LBG	MBG	HGBO
energía (kJ)	1080	1098	1106	1115

El β -glucano total se extrajo y se midió como se ha descrito anteriormente. La viscosidad del extracto así como la concentración y el PM del β -glucano se determinaron como se ha descrito anteriormente. Para el ingrediente HBGX, el contenido de β -glucano era demasiado elevado como para permitir la hidratación de 5 g en 100 ml de tampón, de modo que se usó una muestra de 2 g. La humedad se determinó secando una muestra pesada en un horno de vacío a 80 °C durante 5 h inhibiendo la pérdida de peso.

Marcadores y Medidas de Apetito

A la llegada al laboratorio clínico, los sujetos tenían una cánula insertada en el antebrazo y se recogieron muestras de sangre iniciales en ayunas. A continuación, el sujeto comió una de las cinco comidas de desayuno de ensayo en un periodo de diez minutos. Quince minutos después de completar esta comida, se tomaron muestras adicionales. A continuación se recogieron muestras de sangre a los 30, 60, 120, 180 y 240 minutos después de la comida. Los análisis de glucosa (método de glucosa hexoquinasa, Roche Diagnostics, Australia) e insulina (método de electroquimioluminiscencia, Roche Diagnostics, Australia) se realizaron en un laboratorio de patología acreditado. La recogida, preparación y análisis de grelina y CCK se realizaron de acuerdo con los protocolos convencionales para los respectivos ensayos. El análisis de grelina usó el ensayo de inmunoabsorción enzimática Linco Research™ (EZGAC-86K) para la medición de la grelina activa modificada con octanoilo. El radioinmunoensayo de Phoenix Peptides™ (RK-069-04) para octapéptido de colecistoquinina (CCK 26-33) se usó en péptidos extraídos.

Las muestras de sangre se recogieron en un tubo de S-Monovette que contenía EDTA potásico (para conseguir una concentración de 1/2 a 2 mg de EDTA/ml de sangre después de la recogida) y aprotinina equivalente a 0,6 unidades de inhibidor de tripsina por mililitro de sangre (Aprotinin Solution, NZ, Fabricado por Serologicals, procedente de Chemicon Australia: actividad de 5-10 unidades de inhibidor de tripsina por mililitro). Las muestras se centrifugaron a continuación a 4 °C durante 15 minutos a 1500 X g. El plasma se recogió y se almacenó a -80 °C para su uso posterior. Las muestras del desayuno de control y de 3 dosis diferentes de cereales de salvado de avena enriquecidos con β -glucano se sometieron a ensayo para el PYY total. El péptido Y-Y en estas muestras se sometió a ensayo utilizando un kit de ensayo de inmunoabsorción enzimática (EZHPYYT66K-Millipore Human PYY [Total]) de acuerdo con los protocolos convencionales del fabricante (Millipore, St. Charles, MO).

En cada uno de los momentos descritos para la recogida de sangre, los sujetos completaron una escala analógica visual (VAS) de cuatro preguntas relacionada con el apetito adaptada de Flint. El estudio actual usó las preguntas - ¿Cuánta hambre tiene?, ¿Cuánta satisfacción siente?, ¿Cuánta plenitud siente?, ¿Cuánto más cree que podría comer?. Los sujetos registraron sus sensaciones en formularios individuales y los resultados a lo largo de cada línea se midieron en milímetros en una escala de 100 mm.

A los participantes también se les pidió que completarán el "Cuestionario de Alimentación de Tres Factores" para determinar cualquier presencia de alimentación restrictiva en los comportamientos normales de alimentación. Cuatro horas después de terminar el desayuno, se sirvió un almuerzo tipo bufé, que consistía en sándwiches (cortados en piezas de bocado pequeño), frutas secas, nueces, yogur y zumo (haciendo aproximadamente un total de 7500 kJ - 50 % de carbohidrato, 20 % de proteína y 30 % de grasa). Los alimentos se pesaron o se midieron antes de la comida y al terminar.

Análisis Estadístico

Los estudios previos identificaron que de para detectar diferencias bioquímicas, con tan solo siete sujetos de cada sexo puede ser suficiente, mientras que 18 sujetos deberían identificar los cambios estadísticamente significativos usando un diseño pareado y un estudio de potencia de 0,8 si las calificaciones de VAS varían en al menos 5 mm. El uso de un diseño de medidas repetidas reduciría esto a tan solo 8 sujetos. Basándose en estos estudios se estableció un objetivo de 15-18 sujetos para el reclutamiento. Los resultados para el análisis de sangre, los valores de VAS y la ingesta dietética de segunda comida se introdujeron en SPSS para Windows, Versión 15.0 y área bajo la curva trapezoidal (AUC) en la que los valores se corrigieron para la medida inicial pero también se restaron las áreas por debajo de la medida inicial (AUC neta como lo describe Wolever). Los datos se analizaron para los sexos individuales y combinados ya que los estudios anteriores han identificado algunas diferencias entre sexos. Los resultados de diferencias en el AUC en glucosa, insulina, CCK, grelina y VAS entre los desayunos se identificaron usando medidas repetidas de análisis de varianza (RMANOVA) con ajustes de Bonferroni *post hoc*. Para los valores de ingesta de comida, se realizó RMANOVA de kilojulios consumidos. El ensayo de t de Student se usó para hacer comparaciones entre las comidas de ensayo. El análisis de regresión analizó las relaciones entre datos de dosis, bioquímicos, subjetivos y de ingesta de alimentos y recordatorios dietéticos de 24 horas. Los resultados bioquímicos corregidos para los valores de medida inicial y máximos eran datos de VAS revisados a partir de preguntas individuales así como la suma de cuatro preguntas (convertidas de una medida de plenitud a hambre cuando fuera necesario) se analizaron usando RMANOVA de AUC.

Resultados

Sujetos

5 Se hizo la identificación sistemática de un total de 41 sujetos, con 17 reclutados y 3 retirados debido a limitaciones de tiempo. Siete hombres y siete mujeres tenían una edad entre 29-45 años (media de 38,7 años) con un IMC promedio de 29,6 kg/m² (25,2-36,6 kg/m²). La circunferencia media de la cintura era de 76,0 cm ± 11,2 con una grasa corporal de 34,7 ± 6,0 %. La glucosa en ayunas media fue de 4,2 ± 0,9 mmol/l con una insulina en ayunas de 9,5 ± 5,4 mU/l (0,4-24,4 mU/l). Dos individuos presentaban una insulina en ayunas elevada e hiperinsulinemia general. Se revisaron los datos relacionados con el metabolismo de la glucosa incluyendo y excluyendo a estos sujetos. Los resultados del "Cuestionario de Alimentación de Tres Factores" indicaban la ausencia de comedores moderados entre los sujetos del estudio.

Análisis de alimento de ensayo

15 Los resultados para los análisis de alimentos de ensayo para contenido total de β -glucano, solubilidad, viscosidad y PM se detallan en la Tabla 6. Se produjo una ligera disminución en el PM máximo con un aumento de la concentración de β -glucano. La cromatografía de exclusión por tamaño muestra el desplazamiento en la distribución de PM a medida que aumentaba la concentración de β -glucano (Figura 6). A medida que la dosis aumentaba, el pico se hacía más estrecho, dando como resultado un desplazamiento gradual del pico. Sin embargo, el PM del β -glucano todavía se podría considerar lo suficientemente elevado como para asegurar la funcionalidad (> 1.000.000 g/mol). Para calcular el efecto del β -glucano en la viscosidad luminal, se usó un protocolo de digestión *in vitro*. El cereal se trató de forma secuencial con amilasa (pH 6,9), pepsina (a pH 2) y pancreatina (pH 6,9) a 37 °C. En el cereal de HBGX, la solubilidad del β -glucano era mucho mayor que en el ingrediente (un 72 % con respecto a un 39 %) y comparable con la solubilidad del β -glucano en todos los cereales elaborados con OatWell™ (68-78 %). Tal como se esperaba, la concentración del β -glucano soluble se correlacionaba ($R^2 = 0,95$) con la viscosidad del extracto. La concentración influía fuertemente en la viscosidad, duplicando la concentración y aumentando 15 veces la viscosidad.

30 Tabla 6. Características fisicoquímicas del β -glucano en comidas de ensayo

	β -glucano Total (%) dwb)	β -glucano Soluble (%) dwb)	Viscosidad (mP·as)	PM (g/mol)	β -glucano Total/ración (g)
LBG	5,04	3,42	5,8	1 681 000	2,16
MBG	8,92	6,96	32	1 378 000	3,82
HBG	12,62	8,89	76,6	1 213 000	5,45

Mediciones de valores iniciales

35 Los recordatorios dietéticos para las veinticuatro horas antes de cada visita hacían un promedio de 9428 kJ (3623-16845 kJ). La ingesta media femenina fue de 7428 kJ y para los hombres de 11426 kJ. Como se esperaba, el análisis de regresión indicaba una cierta contribución de la ingesta total de energía consumida en las 24 horas anteriores a la predicción de la ingesta total de la hora del almuerzo ($R^2 = 0,132$, $P = 0,002$). No se identificó ninguna relación entre los recordatorios de 24 horas y las mediciones de la medida inicial de las preguntas individuales de VAS o las preguntas combinadas, niveles de insulina en ayunas, glucosa o grelina. Se identificó una relación ($P = 0,018$) entre los datos de ingesta energética de 24 horas y CCK en ayunas, pero esta predicción era extremadamente débil ($R^2 = 0,08$).

45 Los resultados solo de 13 de 14 sujetos se incluyeron en este análisis debido a que algunos valores obtenidos para un sujeto eran entre 10 y 50 veces mayores que los de otros sujetos. Los datos para este sujeto se excluyeron del análisis general basándose en su implausibilidad. No se identificaron diferencias significativas entre los sexos para ningún análisis de datos.

50 La revisión de los valores de PYY sin procesar corregidos para la medida inicial indicaba una tendencia hacia la significancia ($P = 0,131$), en los que un aumento de la dosis de del β -glucano daba como resultado una mayor liberación de PYY (Fig. 7). Los ajustes de Bonferroni *post hoc* mostraban que la mayoría de esta tendencia estaba causada por diferencias por diferencias entre la dosis de control y la dosis más elevada del β -glucano ($P = 0,072$). Los resultados del de AUC neta (área bajo la curva) mostraban una tendencia general similar ($P = 0,102$), mientras que los cálculos *post hoc* mostraban una diferencia significativa entre la dosis de control y la de HBG ($P = 0,039$; Fig. 8). El análisis de regresión mostraba una correlación significativa ($P = 0,003$) entre PYY en plasma y contenido total de β -glucano ($R^2 = 0,994$).

55

Los cálculos de RMANOVA de la diferencia en los valores de PYY en el momento inmediatamente antes de la comida del almuerzo (4 horas) mostraban una respuesta a la dosis significativa ($P = 0,023$), con una identificación *post hoc* de una diferencia significativa entre los ensayos de comidas de control y HBG ($P = 0,036$). Los ensayos de t de Student entre el control y cada dosis en este momento muestran una tendencia hacia una diferencia entre el control y la dosis media de β -glucano ($P = 0,074$) y una diferencia estadísticamente significativa entre la dosis de control y de HBG ($P = 0,006$). Si los datos se analizan durante las primeras 2 horas, aunque la dosis de HBG provoca el mayor cambio de pico en PYY (31 pg/ml a los 30 minutos), no se muestran diferencias significativas entre los resultados ($P = 0,435$). Sin embargo, si se revisan los resultados del segundo periodo de 2 horas (de 2 a 4 horas después de la comida), se observa una diferencia significativa para el análisis de ($P = 0,035$).

Saciedad Subjetiva

Las respuestas a las preguntas de VAS individuales (Tabla 7) para variar las dosis de OatWell™ mostraba una variación significativa para la Pregunta 3 (¿Cómo se siente?) ($p = 0,017$, RMANOVA para AUC).

Otras preguntas se acercaron a un nivel de significancia de 0,05 ($P = 0,071$, $P = 0,101$, $P = 0,099$ para las Preguntas 1, 2 y 4 respectivamente). Las comparaciones en parejas usando los ajustes de Bonferroni indicaban diferencias principalmente entre las dosis de control y todas las dosis de fibra. La comparación entre las respuestas de HBGO y HBGX mostraba algunas variaciones. La pregunta 3 mostraba una diferencia ($P = 0,013$), en la que parecía que el producto HBGO hacia los participantes se sintieran más saciados. Los datos para las otras preguntas presentaban una tendencia similar de aumento de la saciedad con HBGO, pero no se observaron resultados significativos (Pregunta 1, $P = 0,263$; Pregunta 2, $P = 0,101$; Pregunta 4, $P = 0,794$).

Cuando las respuestas a las preguntas se analizaron como una sola respuesta (una medida de hambre con las Preguntas 2 y 3 con respuestas invertidas), se observaba un efecto general usando RMANOVA ($P = 0,039$). Las comparaciones en parejas no mostraban diferencias entre las dosis de fibra (LBG, MBG y HBGO), pero el efecto general se debía a diferencias entre las dosis de control y las otras dosis de fibra. No se observó efecto de género. El RMANOVA de las dos dosis de HBG mostraba menos hambre/mayor plenitud con el producto OatWell™, pero éste solamente tendía hacia la significancia ($P = 0,085$). Los análisis de t de Student de la comida de control en comparación con otras dosis mostraban diferencias entre las dosis de control y todas las dosis de OatWell™ ($P = 0,013$, $0,026$, $0,015$, $0,086$ para LBG, MBG, HBGO y HBGX respectivamente).

Tabla 7: Puntuación Visual de Escalas Analógicas para área bajo la curva durante 4 horas, AUC (media \pm desviación estándar)

	Control	LBG ⁱ	MBG ⁱ	HBGO ¹	HBGX ⁱ
Q1-¿cuánta hambre tiene?	13600 \pm 3900	11100 \pm 4500	11420 \pm 4080	10660 \pm 5180	11700 \pm 3840
Q2-¿cuánta satisfacción	9350 \pm 4630	11400 \pm 5060	10750 \pm 4400	11530 \pm 6080	10440 \pm 5110
Q3-¿cuánta plenitud siente? ⁱⁱ	8600 \pm 4690	11470 \pm 5310	10480 \pm 4750	11460 \pm 6540	9630 \pm 5320
Q4-¿cuánto más podría comer?	15000 \pm 4100	13230 \pm 4730	12840 \pm 4440	13350 \pm 5090	13530 \pm 4560
Combinado (Q2 y Q3 invertidos)"	58640 \pm 16580	49510 \pm 19150	51030 \pm 16480	49020 \pm 22310	53170 \pm 17920

¹LBG dosis baja de β -glucano, MBG = dosis media de β -glucano, HBGO = dosis elevada de β -glucano (todas contienen OatWell), HBGX = dosis elevada de β -glucano que contiene β -glucano extraído.

ⁱⁱRMANOVA $P < 0,05$

El estudio actual combina varias medidas para el apetito y la saciedad dentro de un solo diseño experimental. El análisis de contenido de los productos organolépticamente aceptables encontró que el β -glucano era estable a los procesos de extrusión y mantenía características para efectos metabólicos atribuibles. PM permaneció alto, con buena solubilidad en agua a la temperatura corporal, asegurando máxima viscosidad dentro del medio acuoso intestinal. La variabilidad en la acción reductora del colesterol del β -glucano se ha atribuido a bajo peso molecular o viscosidad después de ciertas formas de procesamiento.

La disminución del PM observada con el aumento de β -glucano es la forma más probable secundaria al calor generado durante la extrusión. Cuanto más viscosos sean los ingredientes sin procesar (concentraciones más elevadas de β -glucano) más lento será el caudal a través de la extrusora y mayor será la probabilidad de degradación por calor durante el procesamiento. Sin embargo, si estos resultados se comparan con otros usando diversas técnicas de procesamiento de extrusión todavía se compara de forma favorable. A medida que aumentaba la proporción de β -glucano en el cereal, también aumentaba la solubilidad del β -glucano, probablemente como resultado de un aumento de presión en la extrusora. Por lo tanto, el aumento de la solubilidad, más de la concebida para la disminución del peso molecular y la viscosidad total en el extracto *in vitro* aumentaba realmente a medida

que aumentaba la dosis de β -glucano. Siempre será crítico medir parámetros tales como PM, viscosidad y solubilidad en un nuevo producto pero podría parecer que la extrusión es un procesamiento corriente abajo aceptable para los productos de β -glucano.

5 La investigación previa usando VAS sugiere que no hay necesidad de estandarizar las comidas antes de los ensayos de comida. Esto se confirmó en el presente documento, en el que no se encontraron correlaciones entre los datos de recuerdo de 24 horas antes del ensayo y las puntuaciones de VAS en ayunas, grelina o CCK. Esto no significa que las medidas en ayunas de estas puntuaciones u hormonas no están relacionadas con comportamientos dietéticos a largo plazo, en particular ya que estos comportamientos repercuten en el control del peso.

10 Se ha demostrado que una gama de fibras solubles, incluyendo β -glucano, mejora las respuestas glucémicas, encontrando que cada gramo de β -glucano disminuye el índice glucémico en cuatro unidades. Sin embargo, el vehículo alimentario, puede ser importante. Los estudios han encontrado que las dosis elevadas de β -glucano (> 5 g) en pasta y pan de centeno no mejoraban las respuestas glucémicas. Se ha demostrado que la despolimerización del β -glucano aumenta durante el procesamiento de pasta y pan. Sin embargo, el β -glucano de cebada, sirvió como un cereal caliente, que produjo una disminución significativa de glucosa solamente con 2 g de β -glucano en mujeres. Todas las comidas de ensayo en el presente documento produjeron respuestas de glucosa directas cuando se comparan con un estudio similar. Se esperaba que los 43 g de carbohidrato disponibles en el presente documento produjeran un mayor aumento de la glucosa en glucosa en sangre desde la medida inicial, en particular en la muestra de estudio de sobrepeso/obesidad. La respuesta pequeña para el control fue inesperada, pero el bajo contenido de energía global de las comidas de ensayo pudo haber dificultado la diferenciación entre comidas. También se reconoce que la toma de muestras de venas de glucosa en sangre da como resultado respuestas más atenuadas en comparación con las muestras de capilares.

25 Independientemente de la respuesta de glucosa, la observación de la disminución de la liberación de insulina era un resultado positivo, posiblemente a través de la tasa de retraso en la administración de glucosa o de forma específica a través de acciones de CCK. El papel de la hiperinsulinemia en el desarrollo de obesidad o incluso de hiperinsulinemia como consecuencia de la obesidad puede ser multifactorial. Se ha demostrado que el aumento de insulina responde con productos lácteos (incluidos en el presente documento con el cereal de los inventores), sin embargo, las dosis crecientes de β -glucano aún producen disminución de las respuestas de insulina. Los resultados de los inventores indicaron una respuesta a la dosis de β -glucano con una dosis superior a 3 g, lo que demuestra una disminución coherente en la secreción de insulina. Las diferencias en los resultados de insulina para los sujetos con hiperinsulinemia indican que los estudios futuros deberían examinar las respuestas de glucosa, insulina y apetito en sujetos con y sin resistencia a la insulina. Dada la tendencia de las respuestas de insulina durante cuatro horas, es probable que un mayor número de sujetos también pudiera haber mostrado una diferencia significativa durante el periodo de tiempo más largo.

40 Una disminución de la grelina está asociada con la ingesta de alimentos, pero en el presente documento el β -glucano no suprime la secreción de grelina de una manera sensible a la dosis. El pan de fibra de avena no mostró ninguna disminución en la grelina en comparación con los controles. Podría parecer que la fibra soluble usada en este estudio no altera la secreción de grelina en los niveles proporcionados.

45 La relación de dosis-respuesta entre β -glucano y CCK en el estudio de los inventores demuestra un posible mecanismo de saciedad asociado con aumento de la ingesta de fibra. Dado que los resultados del ensayo t para hombres casi significativos, y el RMANOVA total para los sexos combinados muestra un aumento de CCK con la fibra cercano a la significancia ($P = 0,110$) es probable que un mayor número de sujetos podría haber permitido aclarar el nivel preciso de β -glucano necesario para mostrar diferencias de CCK en los hombres, y un grupo sujeto de los sexos combinados.

50 En general, las puntuaciones de VAS para evaluar el hambre/apetito indican que incluso dosis relativamente bajas de β -glucano (> 2 g) darán una sensación de disminución del hambre. Son de interés las diferencias marginales identificadas entre las comidas de OatWell™ y las de HBG de β -glucano extraído. Aunque las medidas bioquímicas y subjetivas miden cosas diferentes, la mayoría de los resultados del presente documento soportan un aumento más elevado del β -glucano que mejora todos los marcadores y medidas de saciedad, y en el presente documento solamente son incoherentes los resultados de VAS para la fibra de HBGX.

60 La amplia variedad de factores que afectan a la ingesta de comida puede limitar la capacidad de pequeños estudios para identificar diferencias en la ingesta dietética relacionada con un único nutriente. El estudio de los inventores manipuló la composición nutritiva de las comidas para centrarse en el efecto de la fibra y en particular del β -glucano de avena como variable en el control del apetito, pero las grandes desviaciones estándar (hasta un 29 % en los hombres) pueden tener resultados diluidos. Basándose en las diferencias en la ingesta energética en este estudio, podría ser necesario un tamaño de muestra de 37 para que este resultado alcance una significación estadística en un diseño pareado (un 80 % de potencia, alfa 0,05). Aunque en general el RMANOVA de los resultados no era significativo, el análisis del ensayo t *post hoc* indicaba diferencias con las comidas de HBGX ($p < 0,05$) y quizás las de HBGO ($p < 0,1$). El hecho de que la ingesta de las mujeres produjera respuestas planas demuestra que podría ser necesario un gran número de mujeres para demostrar diferencias y que otros factores pueden atenuar la ingesta.

En particular, en el presente documento se puede demostrar la creencia social generalizada de que es más probable que las mujeres muestren moderación en una situación de buffet (independientemente del apetito).

5 La diferencia de kilojulios entre las dosis de control y de HBG puede no mostrar significancia estadística, pero la diferencia absoluta de más de 400 kJ en una sola comida es de significancia clínica si estos resultados se pudieran repetir en un estudio más potente. Los estudios futuros deberían registrar la ingesta durante todo el día. Si no produce una ingesta compensatoria más tarde en el día, la diferencia podría equivaler a una pérdida de peso de 100 g cada semana si se mantiene diariamente.

10 En general, el uso de β -glucano en alimentos con un mercado objetivo de individuos que desean mantener o perder peso a través de control del apetito está justificado. Los supresores del apetito tales como CCK se liberan como respuesta al β -glucano a una dosis mínima de aproximadamente 3,8 g. Las valoraciones subjetivas del hambre mejoran con una dosis mínima de 2,2 g de β -glucano. Las respuestas de insulina relevantes para el desarrollo de diabetes de tipo 2 disminuyen de forma significativa a una dosis de al menos 3,8 g de β -glucano. Aunque pueden existir pequeñas diferencias en la eficacia clínica del β -glucano, ya sea cuando se extrae o a partir del salvado de avena como en OatWell™, ambos muestran resultados favorables. Sin embargo, la variación en los resultados entre los alimentos sometidos a ensayo en el presente documento y en otros estudios, necesita ensayos individuales de todos los productos de β -glucano.

20 Este estudio encontró que los niveles totales de PYY en plasma aumentan de forma lineal, con un aumento de la concentración de β -glucano (hasta 5,45 g de β -glucano) en las primeras 4 horas después de una comida. La fuerte correlación entre la respuesta PYY y la concentración del β -glucano en el ensayo de comida indica que se ve fuertemente influida por la cantidad de fibra soluble o al menos por la concentración del salvado de avena sometido a ensayo. El análisis *post hoc* indicaba una diferencia entre la dosis de control y de HBG del β -glucano; esto es coherente con la bibliografía, que discute un nivel mínimo de entre 4 y 6 g como necesario para los efectos gastrointestinales del β -glucano.

30 El examen de los datos en diferentes momentos muestra una diferencia significativa en la secreción de PYY en los periodos de tiempo más largos (2 a 4 horas). En particular, el punto de datos único a las 4 horas muestra el nivel de PYY más elevado para la dosis de HBG. Esto es coherente con la secreción de PYY en el intestino distal y el colon y enfatiza los efectos más duraderos de las hormonas anorexigénicas tales como PYY. Los estudios en periodos de tiempo más cortos pueden ser adecuados para la medición de las ventajas glucémicas e insulinémicas de la ingestión de β -glucano; sin embargo, pueden ser necesarios periodos de tiempo más largos para mostrar el efecto de saciedad total de las fibras altamente viscosas tales como β -glucano.

35 El periodo de tiempo para los aumentos de PYY también explica cómo los estudios de β -glucano de baja viscosidad con respecto al de alta viscosidad pueden mostrar menores respuestas hormonales de 2 a 3 horas, cuando el tránsito más rápido de la fibra de baja viscosidad causa mayores niveles de hormonas, tales como PYY, q para su liberación inicialmente. Sin embargo, si los resultados se revisan durante todo el día, se muestra un menor consumo de kilojulios con la ingestión de fibra de alta viscosidad. Esto también es coherente con las tendencias que se muestran en el trabajo original de los inventores para la ingesta dietética, en el que la mayor viscosidad observada con las concentraciones de β -glucano más elevadas dio la menor ingesta de energía de la segunda comida. Es probable que los nutrientes no digeridos en el intestino grueso (causado por fibras solubles, que crean un bolo viscoso) den como resultado una saciedad de larga duración a través de la acción de hormonas tales como PYY. No necesariamente muestran mayor saciedad inicialmente; por lo tanto, los estudios futuros deberían incluir la ingesta diaria medida durante todo un día. Además, el hecho de que la secreción de insulina disminuye por la ingestión de β -glucano durante 2 horas puede dar como resultado una disminución transitoria de la saciedad superada por el aumento durante periodos de tiempo más largos. Esto significa que los beneficios del β -glucano son amplios, cuando las respuestas de la hormona de saciedad compensan los mecanismos glucémicos de control con respecto a la ingesta.

50 La principal limitación de este estudio es la potencia. Las grandes desviaciones estándar en las respuestas indican que la variación interindividuos es grande y se requieren mayores números para identificar resultados estadísticamente significativos en todos los niveles del análisis. Todos los estudios de ensayo de comida están limitados por la creación de un entorno artificial que solo se puede comparar con la población libre. Sin embargo, el diseño de mediciones repetidas de este estudio se refiere a comparaciones entre dosis y al conocimiento de las propiedades físicas del β -glucano que proporciona datos útiles para identificar mecanismos de saciedad.

60 Se concluye que la dosis óptima de β -glucano que influye en la saciedad y otros marcadores de regulación del apetito debería estar entre 4 y 6 g. Los efectos sobre las hormonas relacionadas con la saciedad parecen estar mediados tanto a través de la viscosidad como de la concentración.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de fibra dietética que comprende al menos un componente de grano de cereal que contiene β -glucano, **caracterizada por que** el β -glucano se selecciona para que tenga un peso molecular máximo en el intervalo de 500 kDa a 3000 kDa, una solubilidad a 37 °C de al menos un 50 % de β -glucano extraído con respecto al contenido total de β -glucano en un extracto de la composición de fibra, y con una viscosidad del extracto a 37 °C de al menos 500 mPa·s medido a 30 s⁻¹; preparándose el extracto por mezcla de una muestra de 5 g de la composición de fibra en un matraz Erlenmeyer con 75 ml de tampón de fosfato sódico 20 mM, pH 6,9, que contiene NaCl 10 mM; agitación de la mezcla lentamente durante 15 min a 37 °C; adición de 250 μ l de solución de α -amilasa salivar humana (5 mg/ml en CaCl₂ 3,6 mM); agitación de la mezcla durante un periodo adicional de 15 min; ajuste del pH a 2,0 con HCl 6 M y 1 M; adición de 625 μ l de solución de pepsina porcina (0,5 mg/ml en NaCl al 0,9 %); incubación de la mezcla durante 30 min a 37 °C; ajuste del pH a 6,9 con NaOH 3 M; adición de 1,25 ml de solución de pancreatina (0,5 mg/ml en tampón de fosfato sódico 20 mM que contiene NaCl 10 mM); continuación de la incubación durante 90 min; y centrifugación de una alícuota durante 10 min a 7.000 x g.
2. Una composición de fibra dietética de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada por que** el β -glucano se selecciona para que tenga un peso molecular en el intervalo de 500 kDa a 2000 kDa.
3. Una composición de fibra dietética de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizada por que** el β -glucano se selecciona para que tenga una solubilidad de al menos un 75 % de β -glucano extraído con respecto al contenido total de β -glucano en la composición de fibra.
4. Una composición de fibra dietética de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, **caracterizada por que** dicha composición tiene un contenido de proteína de aproximadamente un 2-20 % en peso.
5. Una composición de fibra dietética de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** dicha composición tiene un contenido de β -glucano inferior a un 50 % en peso, preferentemente inferior a un 40 % en peso, más preferentemente inferior a un 30 % en peso.
6. Una composición de fibra dietética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** dicha composición tiene un contenido de β -glucano de al menos un 1 % en peso.
7. Una composición de fibra dietética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** dicha composición tiene un contenido de β -glucano en el intervalo de un 3-15 % en peso.
8. Una composición de fibra dietética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** dicha composición tiene un contenido de grasa de aproximadamente un 3 % en peso.
9. Una composición de fibra dietética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** dicha composición tiene un contenido de fibra de aproximadamente un 10-50 % en peso.
10. Una composición de fibra dietética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** la fuente de β -glucano se selecciona entre avena, cebada, centeno o trigo.
11. Producto alimentario que contiene la composición de fibra dietética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10.
12. Producto alimentario de acuerdo con la reivindicación 11, **caracterizado por que** el producto alimentario se elige entre bebidas, productos de panadería, cereal, aperitivos y barritas extruidos.
13. Suplemento nutricional que contiene la composición de fibra dietética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10.
14. Uso de una composición de fibra dietética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 para la preparación de productos alimentarios para tratamiento y/o profilaxis de hipercolesterolemia, regulación de la respuesta glucémica y control del apetito en un mamífero.
15. Uso de la composición de fibra dietética de acuerdo con la reivindicación 14, en la que el mamífero es un ser humano.
16. Uso de la composición de fibra dietética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 para la preparación de un suplemento nutricional para tratamiento y/o profilaxis de hipercolesterolemia, regulación de la respuesta glucémica y control del apetito en un mamífero.
17. Uso de la composición de fibra dietética de acuerdo con la reivindicación 16, en la que el mamífero es un ser humano.

18. Medicamento que contiene la composición de fibra dietética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10.

5 19. Medicamento de acuerdo con la reivindicación 18 para tratamiento y/o profilaxis de hipercolesterolemia, regulación de la respuesta glucémica y control del apetito en un mamífero.

20. Medicamento de acuerdo con la reivindicación 19, en la que el mamífero es un ser humano.

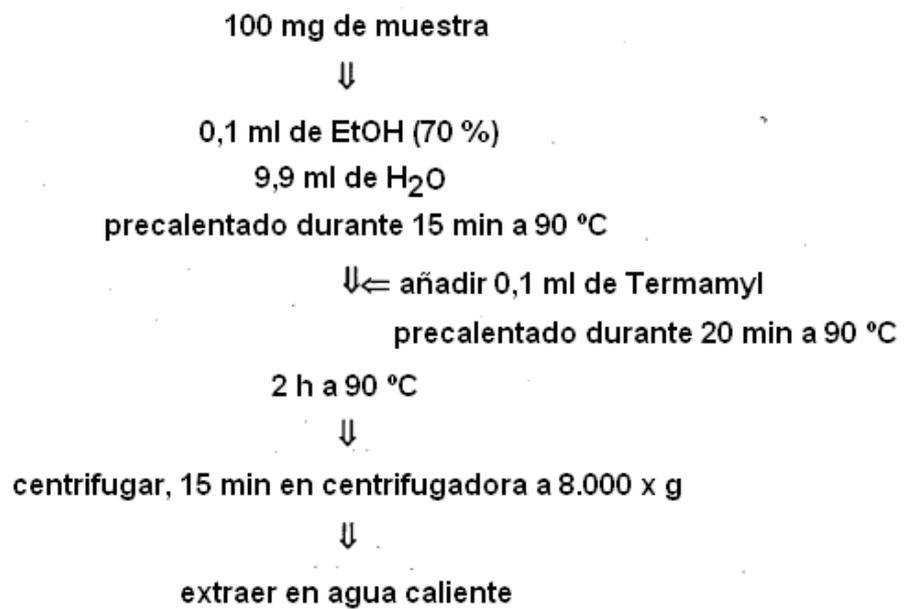


Figura 1.

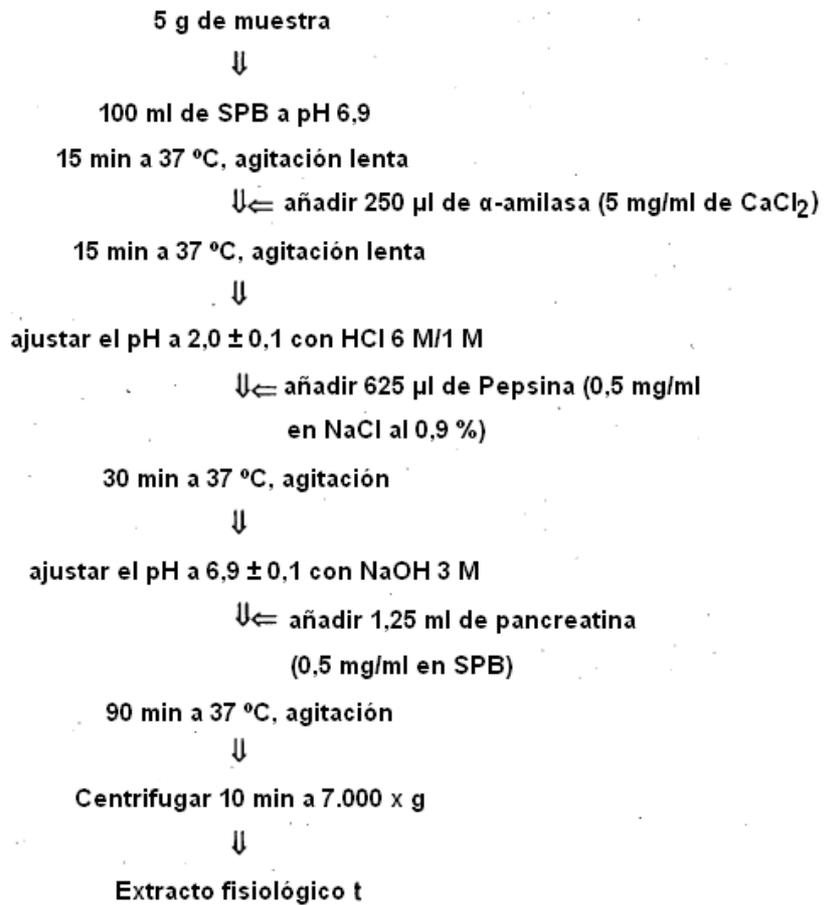


Figura 2.

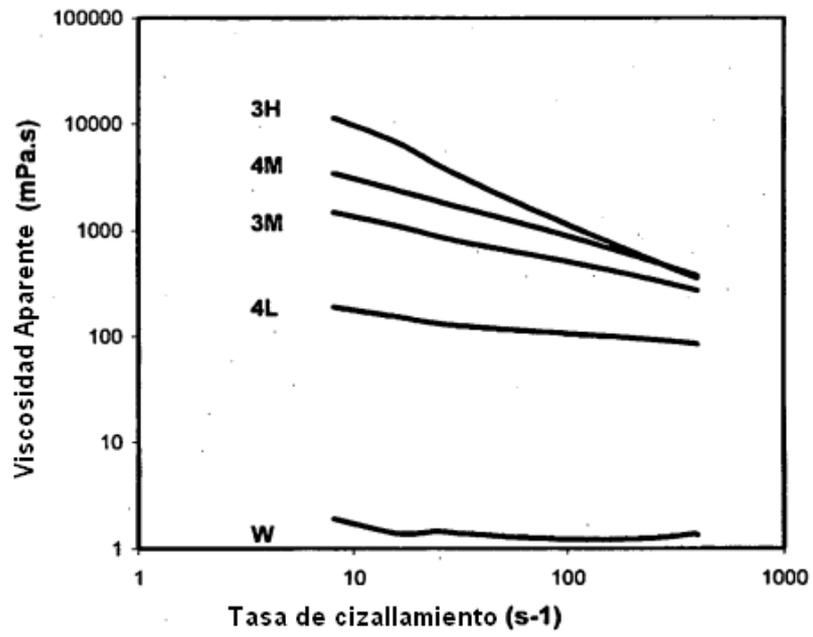


Figura 3.

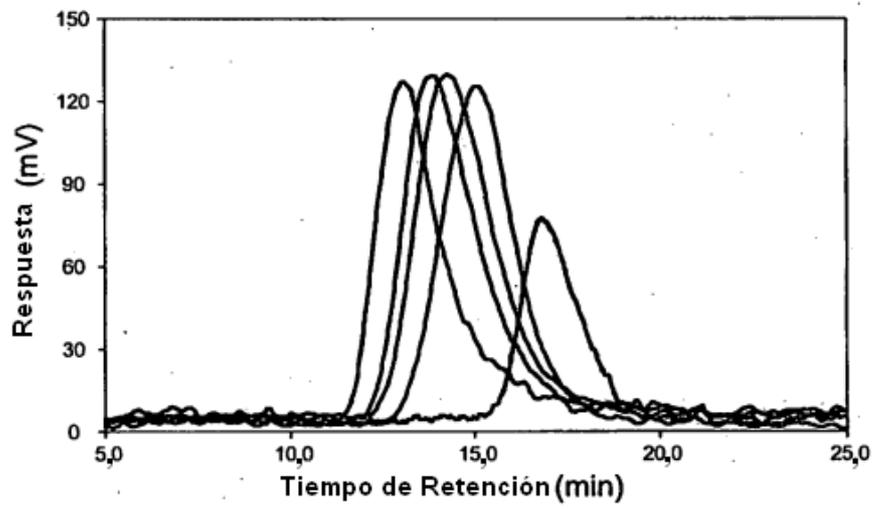


Figura 4.

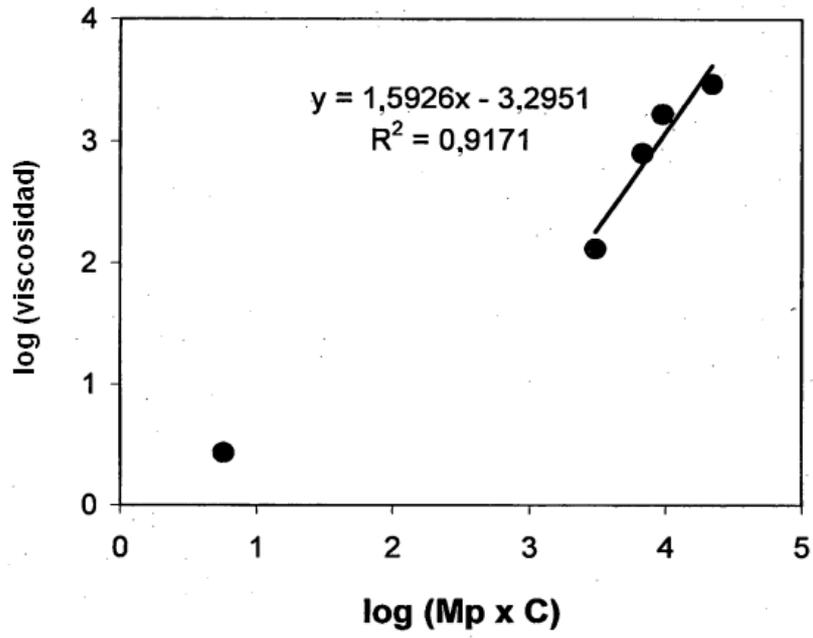


Figura 5.

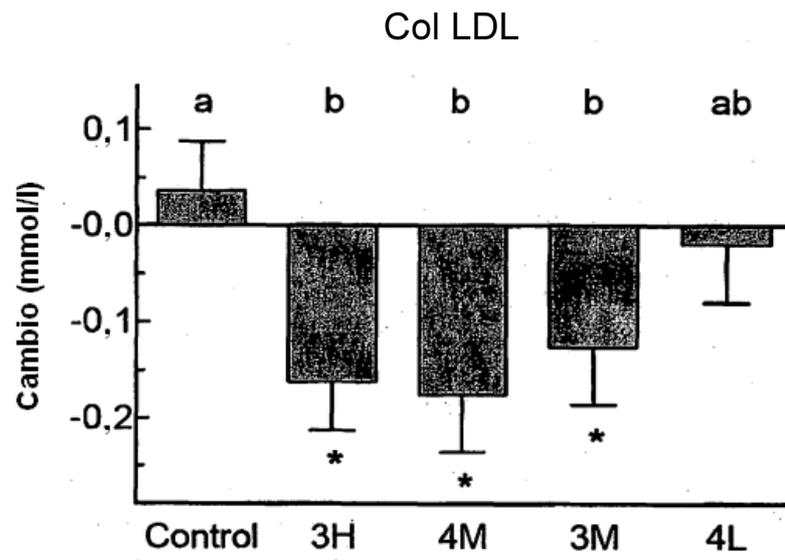


Figura 6.

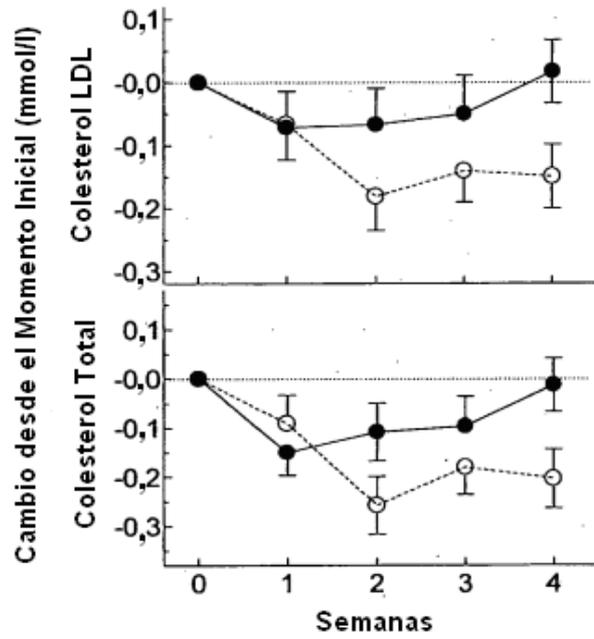


Figura 7.

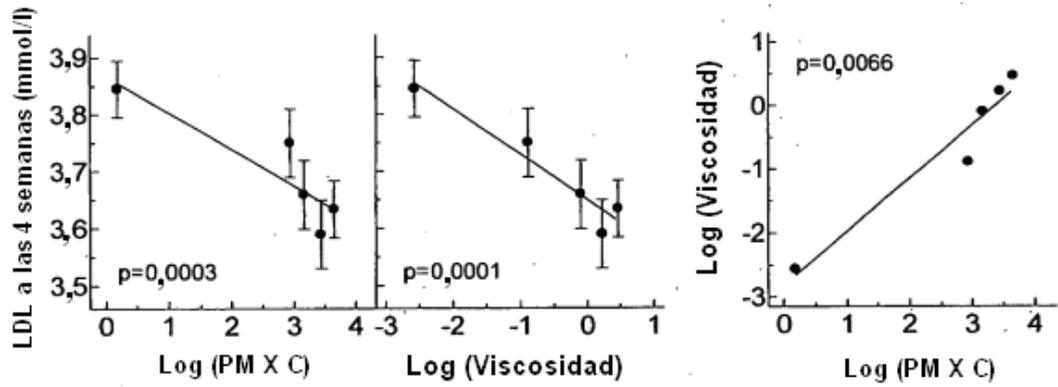


Figura 8.

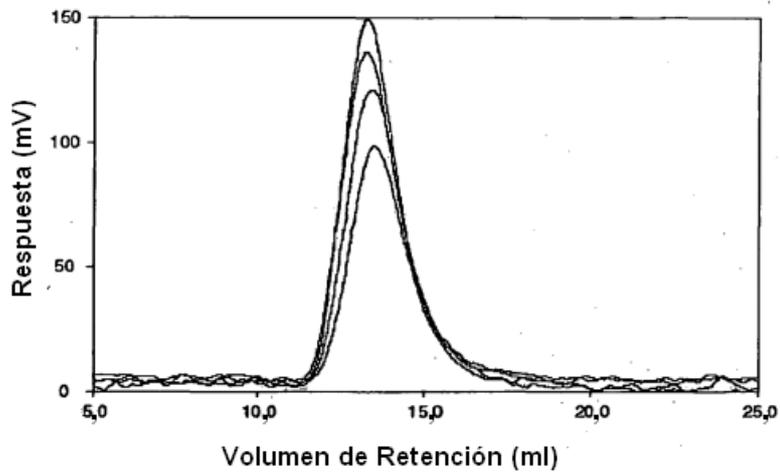


Figura 9.

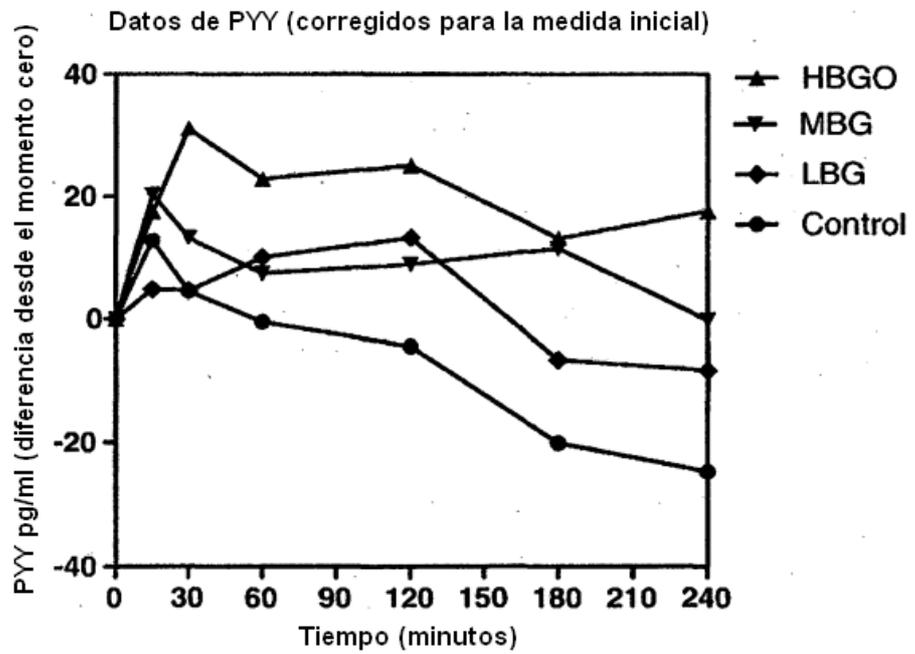


Figura 10.

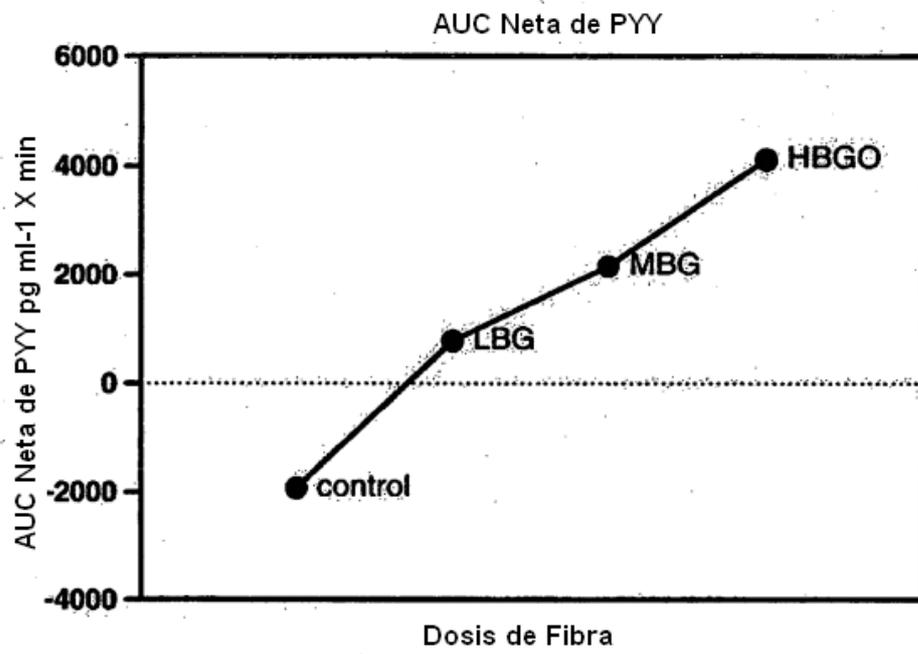


Figura 11.