

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 719 277**

51 Int. Cl.:

A23G 3/20 (2006.01)

A23L 29/238 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.11.2011 PCT/US2011/059271**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.05.2012 WO12061675**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.11.2011 E 11838852 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2019 EP 2635130**

54 Título: **Composición de mananos solubles purificados para suplementos alimentarios y procedimientos de uso de los mismos**

30 Prioridad:

05.11.2010 US 410609 P

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

09.07.2019

73 Titular/es:

**BOSTON THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
354 Merrimack Street No.4
Lawrence, MA 01843, US**

72 Inventor/es:

**ZOMER, ELIEZER y
PLATT, DAVID**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 719 277 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 mananos solubles purificados para suplementos alimentarios y procedimientos de uso de los mismos

Referencias cruzadas a solicitudes relacionadas

- 5 Esta solicitud reivindica la prioridad sobre la solicitud de patente provisional de Estados Unidos con n.º de serie 61/410.609, presentada el 5 de noviembre de 2010.

Campo de la invención

- 10 La presente divulgación se refiere al campo de las composiciones de polisacáridos purificados. Más específicamente, la presente divulgación se refiere a la extracción y purificación de composiciones para reducir el índice glucémico de carbohidratos de los alimentos y moderar las elevaciones de la glucosa en sangre.

Antecedentes de la invención

- 15 La fibra de las legumbres ha atraído considerable interés como fuente natural de fibra de la dieta soluble. Las legumbres contienen un embrión de color amarillo duro central rodeado por una capa córnea y comparativamente grande de endosperma semitransparente de color blanco. Este endosperma contiene un polisacárido con una estructura principal de manano que contiene principalmente cadenas secundarias de galactosa. El endosperma está rodeado por una cáscara de color marrón oscuro tenaz. El color de la fracción gomosa depende de la cantidad de cáscara externa (color marrón) y cotiledón (color amarillo) presentes.

- 20 Desafortunadamente, la harina de diversas legumbres comercialmente disponible puede tener sustancias químicas, aromas, y olores naturales no deseados. Adicionalmente tienen alta viscosidad y no se pueden usar para suplementos de la dieta en una dosificación clínicamente eficaz requerida. Pueden contener también una cantidad de saponinas de estructuras esteroideas que pueden tener actividades tóxicas, que incluyen un efecto sobre la fertilidad análogo al de las hormonas eficaces como anticonceptivos orales. Se sabe de saponinas y alcaloides que producen una variedad de toxicidades cuando se consumen en cantidades en exceso. A fin de producir un suplemento de la dieta con una alta carga eficaz de fibra de polisacárido manano soluble, estas saponinas, otros alcaloides y los lípidos proteináceos no deseados, y otros componentes desagradables deben eliminarse para hacer un producto adecuado como suplemento funcional de la dieta.

- 30 La investigación sobre la nutrición llevada a cabo en los años 70 del siglo XX mostró que diferentes carbohidratos no tienen los mismos efectos sobre los niveles de glucosa en sangre (azúcar) tras la ingesta. Estos hallazgos estimularon la suposición general de que todos los carbohidratos complejos (almidones) producen respuestas de glucosa más bajas que los azúcares simples y se cuestionó la significancia clínica de las listas de intercambio de carbohidratos que han regulado las dietas de las personas con diabetes durante otras tres décadas. Estas listas de intercambio están basadas en la suposición de que las porciones de diferentes alimentos que contienen cantidades iguales de carbohidratos producirán la misma respuesta de glucosa en sangre. Por consiguiente, se desarrolló el procedimiento del índice glucémico (IG) para clasificar porciones iguales de carbohidratos de diferentes alimentos de acuerdo con la extensión en la cual aumenta los niveles de glucosa en sangre tras su ingesta. Los alimentos con un valor de IG alto (≥ 70) contienen carbohidratos de digestión rápida, que producen un gran aumento y disminución rápidos del nivel de glucosa en sangre. Por el contrario, los alimentos con un valor de IG bajo (≤ 55) contienen carbohidratos de digestión lenta, que producen un aumento gradual, relativamente bajo en el nivel de glucosa en sangre.

- 40 Más de dos décadas de investigación ha confirmado que el efecto de los alimentos sobre los niveles de glucosa en sangre no se puede prever con precisión sobre la base del tipo y cantidad del carbohidrato que contenga. Esto es debido a que la velocidad a la cual se digiere y libera el carbohidrato en el torrente sanguíneo está influenciada por muchos factores alimenticios, tales como la forma física del paciente, su grasa, proteína y contenido de fibra, y la estructura química de su carbohidrato. Por estas razones, alimentos aparentemente similares en el mismo grupo alimentario pueden producir respuestas de glucosa en sangre ampliamente diferentes. Por lo tanto, es necesario medir los valores del IG de los alimentos de forma individual.

- 50 La investigación del IG tiene importantes implicaciones para la industria alimentaria y la salud de las personas. Los científicos están ahora de acuerdo que los términos 'carbohidrato complejo' y 'azúcares', que aparecen comúnmente en las marcas de alimentos, tienen poca significancia nutritiva o fisiológica. Recientemente, se reunió un comité de expertos de la Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) y la World Health Organization (OMS) para revisar las evidencias de investigación disponibles con respecto a la importancia de los carbohidratos en la nutrición y la salud humana. El comité aprobó el uso del procedimiento del IG para clasificar alimentos ricos en carbohidratos y recomendó que los valores del IG de los alimentos se usaran junto con la información acerca de la composición alimentaria para guiar las elecciones de alimentos. En la actualidad, los valores de IG se están usando para construir planes de dieta para personas con diabetes y se están usando en la investigación científica, que está examinando la asociación entre el impacto glucémico de las dietas y el riesgo de determinadas enfermedades.

El documento US 3.973.008 desvela manano de konjac soluble en agua capaz de experimentar gelación cuando se calienta en solución alcalina acuosa. Se obtiene extrayendo el tubérculo molido de la planta de konjac con agua, separando la materia insoluble, dializando el líquido exento de sólidos frente al agua y liofilizando a continuación el líquido dializado para eliminar el agua. Se describe que el extracto de manano de konjac es útil para aliviar el estreñimiento y reducir el peso.

El documento US 6.733.769 B1 desvela procedimientos para producir composiciones de glucomanano de baja viscosidad mezclando un compuesto que disminuye la viscosidad con glucomanano en condiciones adecuadas para formar una composición de glucomanano de baja viscosidad. Se describe además la capacidad de modular (aumento o disminución) la viscosidad combinando glucomanano con compuestos de diferentes pesos moleculares, así como procedimientos para disminuir la glucosa en sangre y el colesterol en mamíferos administrando una cantidad terapéutica eficaz de un complejo de maltodextrina-glucomanano.

Durante la última década, un corpus creciente de investigaciones ha mostrado que el impacto glucémico global de la dieta de las personas puede afectar el desarrollo de la resistencia a la insulina y el riesgo de enfermedades asociadas (cardiopatía, diabetes), independientemente del contenido total de carbohidratos de la dieta. Hasta la fecha, las evidencias disponibles sugieren que las dietas basadas en alimentos ricos en carbohidratos con bajo IG mejoran la sensibilidad de la insulina y el control de la glucosa en sangre en personas con diabetes; reducen los niveles altos de grasa en sangre; y pueden ayudar a prolongar el rendimiento físico máximo durante los eventos de resistencia. Además, los alimentos con bajo IG tienden a ser menos refinados y relativamente abundantes y son por tanto útiles para las dietas de control de peso. Dado que la diabetes no dependiente de insulina (NIDDM) y la cardiomiopatía de coronarias continúan siendo las causas principales de enfermedad y muerte en los países industrializados, la extensión en la cual el impacto glucémico de las dietas de las personas influencia el inicio y la progresión de estas enfermedades es una característica de gran importancia. Por lo tanto, se requiere una investigación adicional para determinar los valores del IG de un intervalo mayor de alimentos ricos en carbohidratos y para examinar los efectos de los diferentes procedimientos de procesamiento. Los valores del IG de nuevos alimentos e ingredientes se pueden determinar antes de que se distribuyan en el mercado y su valor de IG puede indicarse en el panel de nutrición de los alimentos para ayudar a las consumidores en sus esfuerzos de disminuir el impacto glucémico de su dieta.

Hasta la fecha, pocos estudios han medido la glucosa en sangre postprandial y las respuestas a la insulina simultáneamente. Esto es debido a los costes elevados de medir los niveles de insulina en muestras de sangre y también refleja la creencia generalizada de que la glucemia es el único factor postprandial relevante a considerar en la terapia de la dieta de las personas con diabetes mellitus. Sin embargo, la investigación disponible indica que las respuestas posprandiales a la insulina de algunos alimentos son desproporcionadamente mayores que sus respuestas de glucosa en sangre. Un corpus creciente de resultados de investigación procedentes de ensayos clínicos de dietas y una gran cantidad de estudios epidemiológicos indican que el consumo a largo plazo de una dieta con una alta carga glucémica que induce niveles de glucosa e insulina en sangre reiterados y altos se asocia con un riesgo creciente de desarrollar resistencia a la insulina, diabetes mellitus no dependiente de insulina, dislipidemia, y enfermedades cardiovasculares. Podría ser posible mostrar un vínculo más directo entre la dieta y el riesgo de determinadas enfermedades crónicas si estuviera disponible una gran base de datos de los valores del índice de insulina de los alimentos comunes.

Aunque los carbohidratos de la dieta son un estímulo para la secreción de insulina, otros factores alimenticios tales como determinados aminoácidos y ácidos grasos potencian también la secreción de insulina. Alimentos ricos en proteínas, pero bajos en carbohidratos, tales como la carne o el pescado, inducen niveles relativamente altos de secreción de insulina en comparación con sus bajas respuestas de glucosa en sangre. Además, alimentos ricos en carbohidratos refinados y grasas, tales como el chocolate y determinados productos de panadería, pueden producir respuestas de insulina que son mucho mayores que sus respuestas glucémicas postprandiales. Recientemente, los libros de dietas superventas en Estados Unidos han popularizado el concepto de que los alimentos que estimulan respuestas de insulina elevadas son particularmente engordantes. Desafortunadamente, los autores no identifican siempre correctamente los alimentos insulinémicos bajos o altos.

Sumario de la invención

Esta divulgación se dirige a composiciones de polisacáridos de manano purificados o fibras de polisacárido de manano de diversas legumbres y a procedimientos de uso de las mismas. La fibra hipoalérgica purificada y de tamaño homogéneo compuesta de más de un 50% de unidades de monosacárido de manosa es útil para proporcionar un único suplemento alimentario de dosificación alta. Este suplemento alimentario puede utilizarse para reducir el índice glucémico de carbohidratos de los alimentos y elevaciones moderadas de glucosa en sangre controlando la gestión de azúcares y la absorbancia en la circulación.

La invención se limita a la materia sujeto de las reivindicaciones.

En una realización ilustrativa, se desvela en el presente documento una composición de fibras de polisacárido de manano solubles químicamente purificadas procedentes de semillas de leguminosas que incluyen, aunque no de forma limitativa *Ceratonia siliqua*, *Cesalpinia spinosa* *Trigonella foenum-graecum*, y *Ciamopsis tetragonolobus*, y su

5 uso en el ensamblaje de suplementos alimentarios sabrosos. Un proceso de fraccionamiento proporciona fibras de polisacáridos de manano de tamaño homogéneo químicamente modificadas y purificadas, fisiológicamente solubles, de alta calidad, desprovistas de impurezas naturales, incluyendo proteínas, alcaloides (compuestos químicos espumantes similares a jabones), glucoalcaloides (por ejemplo, sapogeninas), impurezas ambientales tales como metales pesados, residuos agrícolas, y toxinas microbianas.

10 En una realización ilustrativa, el proceso de purificación incluye al menos tres fases de purificación. La primera fase de este proceso, de acuerdo con la divulgación, comienza con la mezcla de semillas de leguminosas en polvo en una mezcla semilíquida en condiciones que solubilizan y extraen las proteínas y pigmentos de la mezcla semilíquida. La primera fase puede combinar una solución a pH alcalino, bicarbonato de sodio, trifosfato, detergente, y/o mezclas de los mismos con las semillas de las leguminosas en polvo. El procesamiento alcalino puede usar cualquier calidad alimentaria o solución alcalina de calidad farmacéutica incluyendo, aunque no de forma limitativa, hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH), bicarbonato de sodio (NaHCO₃), carbonato de sodio (Na₂CO₃), y/o base de triamonio a una concentración de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 molar. La relación de polvo alcalino a polvo de semillas de legumbre puede variar de aproximadamente 1.2 a aproximadamente 1:100 en una relación en base molar.

20 En una segunda fase del proceso, de acuerdo con la divulgación, la mezcla semilíquida se diluye en ácidos y se calienta a una temperatura seleccionada durante un periodo seleccionado de tiempo para solubilizar los minerales y para conseguir la hidrólisis parcial de las proteínas y de los polisacáridos de tipo almidón. Los diluyentes ácidos pueden ser de cualquier calidad alimentaria o ácidos de calidad farmacéutica que incluyen, aunque no de forma limitativa, HCl, citratos, acetatos, sulfatos, o mezclas de los mismos a concentraciones de hasta aproximadamente 2 molares y a un pH menor de aproximadamente pH 4,0. La temperatura y el tiempo de exposición pueden variar desde aproximadamente la temperatura ambiente a la ebullición durante periodos de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 48 horas. La relación de mezcla ácida a mezcla alcalina puede variar de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 1.20 en una relación en base molar.

25 En una tercera fase del proceso, de acuerdo con la divulgación, la mezcla semilíquida diluida se mezcla con un disolvente durante un periodo de tiempo de contacto a una temperatura seleccionada a fin de producir compuestos lipófilos seleccionados, incluyendo alcaloides; endotoxinas microbianas, por ejemplo, lipopolisacáridos; micotoxinas, por ejemplo, aflatoxinas; así como péptidos, oligosacáridos y monosacáridos para solubilizar y absorber en el disolvente.

30 En una realización ilustrativa, la concentración del disolvente se ajustó a una concentración seleccionada, cuando las fibras de polisacáridos de mananos de las semillas de leguminosas se recubren como un precipitado fuera de la fase del disolvente. Los tratamientos secuenciales producen un disolvente agotado que contiene restos contaminantes incluyendo proteínas fragmentadas, carbohidratos del tipo de almidón solubilizado, pigmentos, alcaloides, y otros componentes de impurezas lipófilas de las semillas, dando como resultado a la vez un precipitado de fibras de polisacáridos de manano purificadas.

35 La tercera fase del proceso puede incluir mezclar la mezcla acidificada de semillas de leguminosas con disolventes en el intervalo de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 1:20 sobre una base peso a peso (p/p). El disolvente puede ser cualquier alimento o alcohol polar de calidad farmacéutica o cetona. En una realización ilustrativa, el disolvente es etanol aproximadamente al 95 % (p/p) y el periodo de tiempo de mezcla está en el intervalo de aproximadamente 30 a aproximadamente 600 minutos. La temperatura de la mezcla durante el tiempo de contacto está en el intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 80 grados Celsius. Esta etapa puede repetirse mediante resuspensión en disolvente tamponado para la recuperación mejorada de la fibra con alta pureza.

45 Una cuarta fase del proceso, de acuerdo con la divulgación, implica la separación de los polisacáridos o fibras de manano extraídas procedentes del disolvente. En una realización ilustrativa, esto se lleva a cabo mediante centrifugación o filtración seguida por secado al vacío. Sin embargo, debe apreciarse que se puede llevar a cabo también la separación mediante otros proceso industrial, por ejemplo, evaporación rotatoria. En una realización ilustrativa, esta fase puede incluir el lavado con un alcohol polar a una concentración en el intervalo de aproximadamente 20 % a aproximadamente 95 % de etanol (p/p). El proceso final de secado puede incluir agitación, vacío, aglomeración y tamizado. En esta etapa de secado, la fibra de polisacárido de manano se procesa mediante vacío, granulación y tamizado para obtener polvo listo para la fabricación del suplemento alimentario en un envase o medicamento de administración farmacéutica tal como un comprimido masticable, comprimidos oblongos, cápsulas de gel, extractos de plantas medicinales y/o un formato de gel líquido concentrado.

50 El proceso industrial global podría llevarse a cabo en modos de alimentación secuenciales o continuos. El proceso como se describe puede incluir aditivos para mejorar la extracción de impurezas, por ejemplo, la adición de un agente sulfitante de calidad alimentaria o calidad farmacéutica al disolvente, por ejemplo, dióxido de azufre gas y una o más sales de bisulfito, bisulfito y metabisulfito, o peróxido de hidrógeno en el intervalo de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,4 % (p/p).

55 En una realización ilustrativa, se desvela una composición, por ejemplo, en la forma de un comprimido. La composición puede comprender, consistir o consistir esencialmente de al menos un polisacárido de manano soluble

purificado de alto peso molecular y al menos un polisacárido de manano purificado de bajo peso molecular. La composición puede comprender, consistir, o consistir esencialmente de al menos un polisacárido de manano soluble purificado de alto peso molecular, al menos un polisacárido de manano purificado de bajo peso molecular, y al menos un oligosacárido y/o monosacárido. La composición puede comprender, consistir, o consistir esencialmente de 1 a 25 % (p/p) de al menos un primer polisacárido de manano soluble purificado de alto peso molecular, 20 a 80 % (p/p) de al menos un segundo polisacárido de manano purificado de bajo peso molecular, y de 40 a 60 % (p/p) de al menos un oligosacárido y/o monosacárido.

Breve descripción de los dibujos

Las composiciones, sistemas, procesos, y procedimientos desvelados en el presente documento se ilustran en las figuras de los dibujos acompañantes que se entiende que son ilustrativas y no limitantes, en las cuales, referencias similares se pretende que se refieran a partes similares o correspondientes, y en las que:

La Fig. 1 ilustra un diagrama de flujo en bloque de una realización de un procedimiento para recuperar polisacáridos de manano purificados;
 La Fig. 2 ilustra una estructura química de un polisacárido de manano;
 La Fig. 3 ilustra un diagrama de flujo en bloque de una realización de un procedimiento para recuperar polisacáridos de manano purificados de alto peso molecular (HMW);
 La Fig. 4 ilustra un diagrama de flujo en bloques de una realización de un procedimiento para recuperar polisacáridos de manano purificados de bajo peso molecular (LMW);
 La Fig. 5 ilustra una comparación gráfica de los niveles de glucosa en sangre de sujetos;
 La Fig. 6 ilustra una tabla de detalles del sujeto;
 La Fig. 7 ilustra una tabla del peso y el contenido de macronutrientes de las porciones de ensayo de las tres comidas de arroz del ensayo;
 La Fig. 8 ilustra una tabla del orden de presentación de las comidas de ensayo;
 Las Figs. 9 y 10 ilustran tablas de las concentraciones de glucosa en sangre individuales de los sujetos para las comidas de ARROZ del ensayo;
 Las Figs. 11 y 12 ilustran tablas de las concentraciones de glucosa en sangre individuales de los sujetos para las comidas de ARROZ + 3 comprimidos de manano del ensayo;
 Las Figs. 13 y 14 ilustran tablas de las concentraciones de glucosa en sangre individuales de los sujetos para las comidas de ARROZ + 6 comprimidos de manano del ensayo;
 La Fig. 15 ilustra una tabla de las concentraciones de glucosa en plasma para las muestras de sangre (mmol/l) recogidas durante las sesiones de ensayo de las tres comidas de ensayo;
 Las Figs. 16 y 17 ilustran tablas de los resultados de la insulina en plasma individuales de los sujetos para las comidas de ARROZ del ensayo;
 Las Figs. 18 y 19 ilustran tablas de los resultados de insulina en plasma individuales de los sujetos para las comidas de ARROZ + 3 comprimidos de manano del ensayo;
 Las Figs. 20 y 21 ilustran tablas de los resultados de insulina en plasma individuales de los sujetos para las comidas de ARROZ + 6 comprimidos de manano del ensayo;
 La Fig. 22 ilustra una tabla de las concentraciones de los resultados de insulina en plasma para las muestras de sangre (pmol/l) recogidas durante las sesiones de ensayo de las tres comidas de ensayo;
 La Fig. 23 ilustra una tabla de los resultados del ensayo de metales pesados de un comprimido que contiene aproximadamente 2 gramos de polisacárido(s) de manano purificado(s);
 La Fig. 24 ilustra un gráfico de los resultados de ensayo de la citotoxicidad de polisacárido(s) de manano purificado(s); y la Fig. 25 ilustra una tabla de los resultados del ensayo de toxinas microbianas de los polisacárido(s) de manano purificado(s).

Descripción detallada

Se desvelan en el presente documento realizaciones detalladas de las composiciones, sistemas, procesos y procedimientos, sin embargo, debe entenderse que las realizaciones desveladas son meramente ilustrativas de las composiciones, sistemas, procesos, y procedimientos desvelados en el presente documento, que pueden materializarse en diversas formas. Por lo tanto, los detalles funcionales específicos en el presente documento no deben interpretarse como limitantes, sino meramente como una base para las reivindicaciones y como una base representativa para enseñar a un experto en la materia a emplear de forma diversa las presentes composiciones, sistemas, procesos y procedimientos desvelados en el presente documento.

En una realización ilustrativa, se desvelan en el presente documento los procedimientos de extracción, purificación y las composiciones de fibras alimentarias de los polisacáridos de manano (denominadas también en el presente documento como "polisacáridos de manano" o "fibras de polisacáridos de manano") procedentes de leguminosas, tales como, aunque no de forma limitativa, leguminosas comerciales o leguminosas que crecen comercialmente. La(s) fibra(s) hipoalergénica(s) purificadas y de tamaño homogéneo es(son) útil(es) para proporcionar un único suplemento alimentario con alta dosificación importante para conseguir beneficios globales de salud. Por ejemplo, una elevada dosificación de manano es eficaz para apoyar la salud glucémica, y mantener niveles normales de azúcar en sangre así como disminuir el colesterol en sangre. La alta dosificación de manano es un nutriente probiótico que soporta el crecimiento de bacterias beneficiosa y el mantenimiento de la flora intestinal beneficiosa

para la salud colónica e intestinal. La alta dosificación de manano es también eficaz para promover un sistema digestivo sano y la absorción de nutrientes esenciales.

5 En una realización ilustrativa, las semillas de las leguminosas se fraccionan y los polisacáridos o fibras de manano fraccionadas se purifican para generar de polisacáridos de una diversidad de pesos moleculares. Diversos procedimientos de procesamiento y procesos factibles se desvelan para maximizar rendimientos y fibras solubles que se pueden incorporar en una composición de suplemento soluble que se puede administrar en dosis orales terapéuticamente eficaces de fibra de polisacárido de manano. El proceso de fraccionamiento puede llevarse a cabo en modos de alimentación discontinuos o continuos secuenciales.

10 En una realización ilustrativa, la extracción de fibra de polisacárido de manano soluble pura con un peso molecular predeterminado se lleva a cabo tratando el material de semilla de legumbre extraído con ácido a un pH y temperatura constantes durante un periodo de tiempo de contacto seleccionado; y fibras de fraccionamiento en diversas concentraciones de disolvente, tal como, aunque no de forma limitativa, etanol. El disolvente, por ejemplo, etanol, se puede usar en una concentración de entre aproximadamente 25 % a aproximadamente 65 % en una base de peso a peso (p/p). Sin embargo, debe apreciarse en el ámbito de la divulgación que se pueden usar otros disolventes.

15 La concentración del disolvente se ajustó a una concentración seleccionada, cuando las fibras de polisacáridos de manano de las semillas de leguminosas se recubren como un precipitado fuera de la fase del disolvente. Tras la precipitación, las fibras se colocan en un disolvente, se lavan, y se secan. En una realización ilustrativa, la recogida del precipitado se lleva a cabo mediante centrifugación o filtración, y el lavado de la fibra con una mezcla de ácido etanólico. Además, la etapa de lavado puede llevarse a cabo en un segundo o en un número de tiempos adicionales para mejorar la pureza del producto final.

20 Un proceso o procedimiento 100 para recuperar una o más fibras de polisacárido de manano purificadas de acuerdo con una realización ilustrativa se describe con referencia a la Fig. 1. En esta realización ilustrativa, la fibra 200 de polisacárido de manano purificada, ilustrada en la Fig. 2, se recupera o extrae de polvo de semillas de legumbre, tales como, aunque no de forma limitativa *Cassia fistula*, *Ceratonia siliqua*, *Cæsalpinia spinosa* *Trigonella foenum-græcum*, y/o *Cyamopsis tetragonolobus*. El polvo de semillas de leguminosas puede ser un polvo comercialmente disponible de calidad alimentaria o calidad farmacéutica. Sin embargo, debe apreciarse que cualquier forma farmacéutica y/o nutricionalmente aceptable de semillas de leguminosas es adecuada para el uso en los procesos y procedimientos desvelados en el presente documento. La extracción de las fibras de polisacáridos de manano puede llevarse a cabo también utilizando semilla bruta preparando polvo o copos de una semilla bruta, utilizando, por ejemplo, procedimientos y equipos industriales comunes.

25 En una realización ilustrativa, el proceso puede dividirse en fases. La primera fase puede incluir la mezcla o la disolución de polvo de semillas de legumbre en un primer disolvente de una mezcla semilíquida en condiciones que solubilizan y extraen proteínas y pigmentos de la mezcla semilíquida. La primera fase puede incluir combinar una solución a pH alcalino, bicarbonato de sodio, trifosfato, detergente, y/o mezclas de los mismos con el polvo de las semillas de leguminosas. El procesamiento alcalino puede utilizar cualquier forma farmacéutica y/o nutricionalmente aceptable de una solución alcalina incluyendo, aunque no de forma limitativa, hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH), bicarbonato de sodio (NaHCO₃), carbonato de sodio (Na₂CO₃), Na₂CO₂, y/o base de triamonio a una concentración de aproximadamente 0,01 a 1 molar. La relación de polvo alcalino a polvo de semillas de legumbre puede variar de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 1:100 (p/p), inclusive, de todos los intervalos y subintervalos entre ellos. En una realización ilustrativa, el proceso de extracción puede requerir un agitador o un agitador de alta potencia debido a la alta viscosidad de la mezcla semilíquida.

35 Como se ilustra en la Fig. 1, la primera fase incluye disolver el polvo de semillas de leguminosas en un disolvente, por ejemplo agua, agua purificada, y/o agua destilada, ilustrado como 102. La relación del polvo de semillas de leguminosas al disolvente puede estar en el intervalo de aproximadamente 1:10 a aproximadamente 1:100 en una base de peso a volumen (p/v), inclusive, de todos los intervalos y subintervalos entre ellos. En esta realización ilustrativa, la relación del polvo de semillas de leguminosas al disolvente es de aproximadamente 1:15 (p/v). La temperatura del proceso de extracción puede estar en el intervalo de aproximadamente 25 a aproximadamente 95 grados Celsius, inclusive, de todos los intervalos y subintervalos entre ellos. En esta realización ilustrativa, la temperatura inicial para la extracción es de aproximadamente 80 a aproximadamente 95 grados Celsius. Sin embargo, a través de la solubilización, la temperatura puede disminuir hasta la temperatura ambiente. El periodo de contacto puede estar en el intervalo de aproximadamente 2 a 24 horas, inclusive, de todos los intervalos y subintervalos entre ellos. En esta realización ilustrativa, el periodo de contacto es de aproximadamente 4 horas.

45 Al final del periodo de solubilización, el pH del disolvente se aumenta a aproximadamente 9,0, por ejemplo, añadiendo hidróxido de sodio y/o hidróxido de potasio a la mezcla semilíquida, ilustrado como 104. puede añadirse también un detergente natural suave, incluyendo, aunque no de forma limitativa dodecil sulfato de sodio a la mezcla semilíquida, ilustrado como 106, para mejorar la solubilización de las proteínas y las sustancias lipófilas. Esta etapa de extracción puede durar durante un periodo de aproximadamente 30 a aproximadamente 60 minutos y llevarse a cabo a una temperatura de aproximadamente 37 grados Celsius o menos. Debe apreciarse que pueden usarse diversas mezclas acuosas alcalinas y detergentes, temperaturas, tiempos de contacto, y polvo de semillas de

leguminosas en las relaciones del disolvente sin apartarse del ámbito y la intención de esta divulgación y que dicha sustitución se contempla en el ámbito de la presente divulgación.

- 5 En una segunda fase del proceso, la mezcla semilíquida puede diluirse en ácidos y calentarse a una temperatura seleccionada durante un periodo seleccionado para solubilizar los minerales y para conseguir al menos la hidrólisis parcial de las proteínas y de los polisacáridos de tipo almidón. Los diluyentes ácidos pueden ser cualquier forma farmacéutica y/o nutricionalmente aceptable de un ácido incluyendo, aunque no de forma limitativa, ácido clorhídrico (HCl), citratos, acetatos, y/o sulfatos, a una concentración de hasta aproximadamente 2 moles y a un pH menor de aproximadamente pH 4,0. La relación del ácido a la mezcla semilíquida alcalina puede variar de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 1:20 en una relación en base molar, inclusive, de todos los intervalos y subintervalos entre ellos. La temperatura y el tiempo de exposición pueden variar desde aproximadamente la temperatura ambiente a la ebullición durante periodos de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 48 horas, inclusive, de todos los intervalos y subintervalos entre ellos. Como se ilustra en la Fig. 1, la segunda fase incluye acidificar la mezcla semilíquida resultante a un pH de aproximadamente 3, ilustrada como 108, y ebullición la mezcla semilíquida a aproximadamente 100 grados Celsius durante aproximadamente 2 a aproximadamente 5 horas, ilustrada como 110.
- 10
- 15 Después que se ha diluido y calentado la mezcla semilíquida, el pH de la mezcla diluida puede ajustarse opcionalmente posteriormente a un pH de aproximadamente 9, ilustrada como 112.

- 20 En una tercera fase del proceso, la mezcla semilíquida diluida puede mezclarse con un disolvente durante un periodo de tiempo de contacto a una temperatura seleccionada a fin de producir determinados compuestos lipófilos seleccionados, tales como, aunque no de forma limitativa, alcaloides; endotoxinas microbianas, tales como lipopolisacáridos; micotoxinas, tales como aflatoxinas; así como péptidos, oligosacáridos y monosacáridos en el disolvente. En una realización ilustrativa, La tercera fase del proceso incluye mezclar la mezcla acidificada de semillas de leguminosas con disolventes en el intervalo de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 1:20 (p/p), inclusive, de todos los intervalos y subintervalos entre ellos. El disolvente puede ser cualquier forma farmacéutica y/o nutricionalmente aceptable del disolvente incluyendo, aunque no de forma limitativa, alcoholes polares y/o cetonas.
- 25 en una realización ilustrativa el disolvente es aproximadamente etanol al 95 % (p/p) y el periodo de tiempo de mezcla está en el intervalo de aproximadamente 30 a aproximadamente 600 minutos, inclusive, de todos los intervalos y subintervalos entre ellos. La temperatura de la mezcla durante el tiempo de contacto está en el intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 80 grados Celsius, inclusive, de todos los intervalos y subintervalos entre ellos.

- 30 Como se ilustra en la Fig. 1, la tercera fase incluye añadir un disolvente orgánico, tales como, aunque no de forma limitativa, etanol a la mezcla en aproximadamente una concentración de disolvente al 50 % (p/p), ilustrada como 114. En una realización ilustrativa, la concentración del disolvente se ajustó a una concentración seleccionada, cuando las fibras de polisacáridos de manano de las semillas de leguminosas se recubren como un precipitado fuera de la fase del disolvente. esto produce un disolvente gastado que contiene restos contaminantes incluyendo proteínas fragmentadas, carbohidratos del tipo de almidón solubilizado, pigmentos, alcaloides, y otros componentes de impurezas lipófilas de las semillas, dando como resultado a la vez un precipitado de fibras de polisacáridos de manano purificadas. En una realización ilustrativa, la tercera fase puede repetirse una o más veces, por ejemplo, hasta cinco veces, resuspendiendo la fibra recuperada en disolvente tamponado para la recuperación mejorada de la fibra con alta pureza.
- 35

- 40 En una cuarta fase, la fibra de polisacárido de manano precipitada se extrae del disolvente mediante centrifugación o filtración seguido por secado al vacío. Sin embargo, debe apreciarse dentro del alcance de la divulgación que la extracción de la fibra de polisacárido de manano del disolvente puede llevarse a cabo mediante otro proceso industrial, incluyendo evaporación rotatoria.

- 45 Como se ilustra en la Fig. 1, la fibra de polisacárido de manano precipita y se recoge o recupera mediante centrifugación o filtración, ilustrada como 116. En esta realización ilustrativa, el filtrado líquido contiene proteínas, aminoácidos, oligosacáridos y monosacáridos, lípidos, alcaloides, saponinas, pigmentos, minerales y otras impurezas incluyendo derivados orgánicos en descomposición. La fracción sólida es aproximadamente del 90 % (p/p) o más de fibra de polisacárido de manano pura, que en este punto, puede reextraerse una o más veces con una cantidad nueva de disolvente a fin de maximizar la pureza y la recuperación.

- 50 En una realización ilustrativa, la fibra de polisacárido de manano recuperada puede a continuación lavarse una o más veces y secarse, ilustrada como 118. la fibra de polisacárido de manano recuperada puede lavarse con un alcohol polar a una concentración en el intervalo de aproximadamente 20 % a aproximadamente 95 % de etanol (p/p). La fibra de polisacárido de manano recuperada puede secarse procesando la fibra de polisacárido de manano recuperada mediante vacío, granulación, y tamizado para obtener un polvo. Sin embargo, debe apreciarse que la fibra de polisacárido de manano recuperada puede secarse mediante numerosos procesos de secado diferentes incluyendo, aunque no de forma limitativa, aglomeración, tamizado, secado en horno, secado por agitación, secado en lecho fluidizado, liofilización y secado al vacío.
- 55

En esta realización ilustrativa, se usa el secado al vacío. Las fibras de polisacárido de manano secas contienen aproximadamente 90 % (p/p) o más de fibra de polisacárido de manano pura, que es de apariencia blanca a

blanquecina, inodora, insípida y soluble en agua. El polvo de fibra de polisacárido de manano purificado puede usarse a continuación para la fabricación de suplemento e la dieta en una forma farmacéutica o medicamento tal como, aunque no de forma limitativa, un comprimido masticable, comprimidos oblongos, cápsulas de gel, extractos de plantas medicinales y/o un formato de gel líquido concentrado.

- 5 En una realización ilustrativa, la fibra de polisacárido de manano purificada o polvo de polisacárido se muele en un polvo con una malla de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 y se ensaya para el contenido de agua. Basándose en el contenido de agua, puede ser necesario un secado adicional para la estabilidad a largo plazo y el almacenamiento seguro a temperatura ambiente.

10 Mientras que el proceso de extracción descrito anteriormente se presenta como un proceso secuencial discontinuo, debe apreciarse que se puede usar un modo continuo tal como un modo de extracción contracorriente de dos o más etapas, como es práctica común en la industria. El proceso industrial global podría llevarse a cabo en modos de alimentación secuenciales o continuos. El proceso puede incorporar también aditivos adicionales para mejorar la extracción de impurezas, tales como, aunque no de forma limitativa, la adición de un agente sulfitante farmacéutica y/o nutricionalmente aceptable al disolvente, tales como, aunque no de forma limitativa, dióxido de azufre gas y una o más sales de sulfito, bisulfito y metabisulfito, y/o peróxido de hidrógeno en el intervalo de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,4 % (p/p).

15 En una realización ilustrativa, se puede controlar el peso molecular final del(de los) polisacárido(s) de manano. El peso molecular final del(de los) polisacárido(s) de manano se controla en dos etapas, el tiempo de ebullición a un pH de aproximadamente 3 y un fraccionamiento de la fibra pura final en aproximadamente el 25 %, aproximadamente el 45 % y/o aproximadamente el 65 % (p/p) de etanol en agua. Las concentraciones menores de etanol precipitan fibras de alto peso molecular (HMW), por ejemplo aproximadamente 60 kD a aproximadamente 300 kD. Las concentraciones mayores de etanol precipitan fibras de bajo peso molecular (LMW), por ejemplo aproximadamente 5 kD a aproximadamente 40 kD. Además, el tiempo de ebullición o calentamiento a alta temperatura es más largo para producir LMW. Por el contrario, el tiempo de ebullición o calentamiento a alta temperatura es más corto para producir fibras de HMW.

20 Un proceso o procedimiento 300 para recuperar una o más fibras de polisacárido de manano purificadas de alto peso molecular de acuerdo con una realización ilustrativa se desvela con referencia a la Fig. 3. En esta realización ilustrativa, la(s) fibra(s) de polisacárido(s) de manano purificada(s) se recupera o extrae de polvo de semillas de leguminosas, por ejemplo *Cassia fistula*. Como se ilustra en la Fig. 3, una primera fase 302 del proceso incluye disolver aproximadamente 2 kilogramos (kg) de polvo de semillas de leguminosas 304 en aproximadamente 150 litros de agua a temperatura ambiente, ilustrado como la etapa 306. Después que el polvo de semillas de leguminosas 304 se disolvió en el agua, se aumentó el pH de la mezcla se aumentó a aproximadamente 8,2 añadiendo una cantidad suficiente de carbonato de sodio (Na_2CO_3), ilustrado como la etapa 308. Puede aumentarse el pH de la mezcla adicionalmente hasta aproximadamente 9,1 añadiendo una cantidad suficiente de hidróxido de sodio uno molar (NaOH) y mezclando la mezcla durante aproximadamente 2 horas, ilustrado como la etapa 308.

35 Se puede añadir también a la mezcla un detergente natural suave, incluyendo, aunque no de forma limitativa, dodecil sulfato de sodio (SDS), ilustrado como la etapa 312, para mejorar la solubilización de las proteínas y las sustancias lipófilas. La mezcla puede a continuación mezclarse a aproximadamente 30 grados Celsius durante aproximadamente 1 a aproximadamente 2 horas, ilustrado como la etapa 314. Tras mezclar la mezcla, se puede disminuir el pH hasta aproximadamente 6,0 añadiendo una cantidad suficiente de ácido clorhídrico (HCl), ilustrado como la etapa 316. A continuación puede procesarse la mezcla mediante centrifugación y puede recogerse el filtrado líquido o el flujo a su través, ilustrado como la etapa 318. El precipitado recogido puede descartarse, ilustrado como la etapa 320.

40 En una segunda fase 322 del proceso, el filtrado líquido recogido se diluyó en ácido a un pH de aproximadamente 3,0 y se mezcló a aproximadamente 30 grados Celsius, ilustrado como la etapa 324. A continuación puede calentarse la mezcla acidificada y someterse a ebullición durante aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 1 atm, ilustrado como la etapa 326, para solubilizar los minerales y para conseguir al menos la hidrólisis parcial de las proteínas y los polisacáridos análogos al almidón. Los diluyentes ácidos pueden ser cualquier forma farmacéutica y/o nutricionalmente aceptable de un ácido incluyendo, aunque no de forma limitativa, ácido clorhídrico (HCl), citratos, acetatos, y/o sulfatos, a una concentración de hasta aproximadamente 2 molares y a un pH menor de aproximadamente pH 4,0. Tras el calentamiento, la mezcla acidificada puede enfriarse y filtrarse, ilustrado como la etapa 328. Puede recogerse el filtrado líquido o el flujo a su través, ilustrado como la etapa 330. El precipitado recogido puede descartarse, ilustrado como la etapa 332.

45 En una tercera fase 334 del proceso, se puede añadir etanol al filtrado líquido recogido en aproximadamente un 35 % sobre una base volumen a volumen (v/v), ilustrado como la etapa 336. A continuación puede mezclarse la mezcla resultante durante aproximadamente 15 minutos, ilustrado como la etapa 338. Tras la mezcla, la mezcla puede filtrarse o procesarse mediante centrifugación y puede retenerse el precipitado recogido, ilustrado como la etapa 340. Puede descartarse el filtrado líquido o el flujo a su través, ilustrado como la etapa 342.

55 En una cuarta fase 344 del proceso, se puede añadir aproximadamente ácido clorhídrico al 4 % (HCl) en

aproximadamente etanol al 80 % (p/p) al precipitado recogido, ilustrado como la etapa 346. A continuación, la mezcla resultante puede agitarse durante al menos aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente, ilustrado como la etapa 348. Después de agitar, la mezcla puede filtrarse o procesarse mediante centrifugación y puede retenerse el precipitado recogido, ilustrado como la etapa 350. Puede descartarse el filtrado líquido o el flujo a su través, ilustrado como la etapa 352.

En una quinta fase 354 del proceso, se puede añadir hidróxido sódico a aproximadamente el 4% (NaOH) en aproximadamente etanol al 80 % (p/p) al precipitado recogido, ilustrado como la etapa 356. A continuación, la mezcla resultante puede agitarse durante aproximadamente 30 minutos, ilustrado como la etapa 358. Después de agitar, la mezcla puede filtrarse o procesarse mediante centrifugación y puede retenerse el precipitado recogido, ilustrado como la etapa 360. Puede descartarse el filtrado líquido o el flujo a su través, ilustrado como la etapa 362.

En una sexta fase 364 del proceso, puede lavarse el precipitado recogido con acetato de sodio a aproximadamente el 4 % en etanol aproximadamente al 80 % (p/p), ilustrado como la etapa 366. A continuación, la mezcla resultante puede agitarse durante aproximadamente 30 minutos, ilustrado como la etapa 368. Después de agitar, la mezcla puede filtrarse o procesarse mediante centrifugación y puede retenerse el precipitado recogido, ilustrado como la etapa 370. Puede descartarse el filtrado líquido o el flujo a su través, ilustrado como la etapa 372.

En una séptima fase 374 del proceso, puede lavarse el precipitado recogido aproximadamente dos veces más en etanol a aproximadamente el 80 % (p/p), ilustrado como la etapa 376. A continuación, la mezcla resultante puede agitarse durante aproximadamente 30 minutos, ilustrado como la etapa 378. Después de agitar, la mezcla puede filtrarse o procesarse mediante centrifugación y puede retenerse el precipitado recogido, ilustrado como la etapa 380. Puede descartarse el filtrado líquido o el flujo a su través, ilustrado como la etapa 382.

En una octava fase 384 del proceso, se puede secar el precipitado recogido procesando el precipitado recogido al vacío, granulación, y tamizado para obtener un polvo de más de aproximadamente 95 % de sólidos (p/p), ilustrado como la etapa 386. el polvo seco contiene aproximadamente 90 % (p/p) o más de fibra de polisacárido de manano pura HMW, que es de apariencia blanca a blanquecina, inodora, insípida y soluble en agua. El polvo de fibra de polisacárido de manano HMW purificado puede a continuación envasarse, ilustrado como la etapa 388, y usarse para la fabricación del suplemento alimentario en una forma farmacéutica o medicamento tal como, aunque no de forma limitativa, un comprimido masticable, comprimidos oblongos, cápsulas de gel, extractos de plantas medicinales y/o un formato de gel líquido concentrado.

Un proceso o procedimiento 400 para recuperar una o más fibras de polisacárido de manano purificadas de bajo peso molecular de acuerdo con una realización ilustrativa se desvela con referencia a la Fig. 4. En esta realización ilustrativa, el proceso 400 es similar al proceso 300 descrito anteriormente con referencia a la Fig. 3. Se describen a continuación las diferencias entre el proceso 400 y el proceso 300. De acuerdo con el proceso 400, el polvo de semillas de legumbre 404 es *Trigonella foenum-graecum*. El proceso 400 incluye una segunda fase 422, en el que la mezcla acidificada se calienta y se ebulle durante más de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 101 kPa, ilustrado como la etapa 426, para solubilizar los minerales y para conseguir al menos la hidrólisis parcial de las proteínas y los polisacáridos análogos al almidón. la(s) fibra(s) de polisacárido(s) de manano purificada(s) se recuperan o extraen de polvo de semillas de leguminosas, de acuerdo con el proceso 400, son de bajo peso molecular.

En esta realización ilustrativa, el polvo recogido contiene aproximadamente 90 % (p/p) o más de fibra de polisacárido de manano pura, que es de apariencia blanca a blanquecina, inodora, insípida y soluble en agua. El proceso 400 incluye también una octava fase 484, en el que el polvo de fibra de polisacárido de manano LMW purificada puede envasarse, ilustrado como la etapa 488, y usarse para la fabricación del suplemento alimentario en una forma farmacéutica o medicamento tal como, aunque no de forma limitativa, un comprimido masticable, comprimidos oblongos, cápsulas de gel, extractos de plantas medicinales y/o un formato de gel líquido concentrado.

Mientras que, los procesos de extracción descrito anteriormente se presentan como un proceso secuencial discontinuo, debe apreciarse que se puede usar un modo continuo tal como un modo de extracción contracorriente de dos o más etapas, como es práctica común en la industria. debe también apreciarse que el uso de diversas fuentes de semillas de leguminosas o harina como la materia prima que se va a extraer puede necesitar el ajuste de la temperatura y/o tiempo de contacto para obtener el peso molecular deseado. Adicionalmente, a fin de conseguir una fibra de polisacáridos de manano exenta de alérgenos y exenta de toxinas pueden requerirse además lavados del disolvente.

Composiciones

En una realización ilustrativa, el(los) polisacárido(s) o fibra(s) de manano purificada(s) se incorpora en una composición de suplemento soluble que puede administrar dosis orales terapéuticamente eficaces de fibra de polisacárido de manano. En una realización ilustrativa, la composición incluye al menos un polisacárido de manano soluble purificado de alto peso molecular. En una realización ilustrativa, el polisacárido de manano de alto peso molecular tiene aproximadamente 50 a aproximadamente 300 kD. En una realización ilustrativa, la composición incluye al menos un polisacárido de manano purificado de bajo peso molecular. En una realización ilustrativa, el

polisacárido de manano de bajo peso molecular tiene aproximadamente 5 a aproximadamente 50 kD.

5 En una realización ilustrativa, la composición incluye al menos un polisacárido de manano soluble purificado de alto peso molecular y al menos un polisacárido de manano purificado de bajo peso molecular. En una realización ilustrativa, la composición incluye al menos un polisacárido de manano soluble purificado de alto peso molecular, al menos un polisacárido de manano purificado de bajo peso molecular, y al menos un oligosacárido, monosacárido, y/o alcohol de azúcar.

10 El uno o más oligosacáridos, monosacáridos, y/o alcoholes azucarados pueden incluir, aunque no de forma limitativa, Manitol, Eritritol, Sorbitol, Inositol, Rafinosa (un trisacárido no reductor), Galactinol (dulcitol), Estaquiosa, Verbascosa, Maninotriosa, y homólogos superiores. En una realización ilustrativa, la composición incluye aproximadamente 1 gramo del al menos un polisacárido de manano soluble purificado de alto peso molecular, aproximadamente 2 gramos del al menos un polisacárido de manano soluble purificado de bajo peso molecular, y aproximadamente 1 gramo del alcohol de azúcar.

15 En una realización ilustrativa, la composición incluye aproximadamente 1 % a aproximadamente 50 % (p/p) o aproximadamente 1 % a aproximadamente 25 % (p/p) de un polisacárido de manano soluble purificado de alto peso molecular. En una realización ilustrativa, la composición incluye aproximadamente 20 % a aproximadamente 80 % (p/p) de un polisacárido de manano soluble purificado de bajo peso molecular. En una realización ilustrativa, la composición incluye aproximadamente 40 % a aproximadamente 60 % (p/p) de unos oligosacáridos y/o un monosacárido. En una realización ilustrativa, el polisacárido de manano soluble purificado de alto peso molecular tiene una viscosidad elevada. En una realización ilustrativa, el polisacárido de manano soluble purificado de bajo peso molecular tiene una alta solubilidad.

20 La relación de manano de bajo peso molecular a manano de alto peso molecular es de 20 a 1 (p/p), y hasta 100 a 1 (p/p), inclusive, de todos los intervalos y subintervalos entre ellos. En una realización ilustrativa, las composiciones descritas anteriormente pueden incluir opcionalmente uno o más aditivos adicionales. En una realización ilustrativa, un aditivo adicional puede incluir uno o más alcoholes azucarados, incluyendo, aunque no de forma limitativa, Sorbitol, Eritritol, Inositol, y otros alcoholes azucarados del tipo. Una lista no limitante de otros aditivos adicionales potenciales incluye vitaminas y minerales en sus requerimientos del % de valores diarios recomendados (por ejemplo, véase www.USDA.gov).

25 En una realización ilustrativa, las composiciones descritas anteriormente pueden incluir o combinarse opcionalmente con una o más medicaciones o fármacos para la diabetes, incluyendo, aunque no de forma limitativa, pioglitazona (por ejemplo Actos), glimepirida (por ejemplo Amaryl), rosiglitazona (por ejemplo Avandia), exenatida (por ejemplo Byetta), gliburida (por ejemplo DiaBeta), metformina (por ejemplo Glucophage), gliburida y metformina (por ejemplo Glucovance), gliburida (por ejemplo Glynase), miglitol (por ejemplo Glyset), insulina lispro (por ejemplo Humalog), Insulina Iofano, sitagliptina (por ejemplo Januvia), insulina glargina (por ejemplo Lantus), insulina aspart (por ejemplo NovoLog), saxagliptina (por ejemplo Onglyza), repaglinida (por ejemplo Prandin), acarbosa (por ejemplo Precose), nateglinida (por ejemplo Starlix), liraglutida (por ejemplo Victoza), y otras medicaciones del tipo para la diabetes.

30 En una realización ilustrativa, se produce una composición en la forma de un comprimido masticable que contiene fibra de polisacárido de manano purificada. Se usa un mezclador MultiDirectional Motions para producir el comprimido masticable. El mezclador MultiDirectional Motions se hace funcionar de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 revoluciones por minutos (RPM). En una realización ilustrativa, el mezclador tiene un tambor de mezcla soportado por dos ejes cruzados, conectado por juntas universales de tipo Y, de tal manera que el tambor de mezcla combina movimientos de giro, balanceo y rotación para mezclar vigorosa y rápidamente los contenidos evitando a la vez la estratificación por gravedad de los materiales. El tambor de mezcla es un tipo de tambor de acero inoxidable pulido sin rincones muertos. El exclusivo mecanismo de eje accionado asegura un funcionamiento suave y fiable con baja vibración y ruido. La uniformidad de la mezcla excede el 99,5 %, y el coeficiente de carga consigue aproximadamente un 85 % más, que los mezcladores rotatorios tradicionales. Los componentes importantes principales son el potente sistema de impulsión, un sistema de control digital, y un barril de mezcla compatible con unas buenas prácticas de fabricación (GMP).

35 En una realización ilustrativa, La temperatura de la mezcla está en el intervalo de aproximadamente 15 a aproximadamente 35 grados Celsius, que puede ser constante. En esta realización ilustrativa, la temperatura de la mezcla es la temperatura ambiente de aproximadamente 23 grados Celsius. El periodo de mezcla puede estar en el intervalo de aproximadamente 30 minutos a 240 minutos. El periodo de contacto puede ser de aproximadamente 30 minutos.

40 En una realización ilustrativa, se desvela un protocolo de mezcla secuencial cuando las fibras de polisacárido de manano HMW se revisten con o incluyen en fibras de polisacárido de manano LMW utilizando un mezclador de movimiento multidireccional de tipo V de alto rendimiento o agitador de eficacia similar que mezcla el polvo hasta una uniformidad que excede aproximadamente el 99,5 %. La fibra de polisacárido de manano individual HMW se reviste por interacción molecular con la fibra de polisacárido de manano LMW y la mezcla de fibra(s) de polisacárido de manano combinadas se incluye a continuación en uno o más oligosacáridos y/o monosacáridos que proporcionan

también un aroma dulce. La composición cuando se compacta en un comprimido masticable es suficientemente dura para el envasado automático y la manipulación general, sin embargo, tras el consumo y el contacto con agua, saliva u otro fluido, el comprimido se desintegra fácilmente y se disuelve en menos de aproximadamente 1 minuto, para proporcionar un suplemento alimentario sabroso y reduce el índice glucémico en los alimentos, tales como alimentos con un alto contenido de carbohidratos. El comprimido puede desintegrarse también fácilmente y se disuelve en aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 30 minutos.

En una realización ilustrativa, las composiciones desveladas en el presente documento pueden revestirse para proporcionar una disolución controlada en el tiempo de las fibras de polisacárido de manano funcionales de alto y/o bajo peso molecular para mejorar la solubilidad y la palatabilidad con un rendimiento alimentario mejorado en el sistema oral y gastrointestinal al contrario que los perfiles enriquecidos de las formulaciones de liberación inmediata. En una realización ilustrativa, las composiciones pueden revestirse con una o más sustancias que incluyen, aunque no de forma limitativa, Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), Metilhidroxietilcelulosa (MHEC), Etilcelulosa (EC), Hidroxipropilcelulosa (HPC), Povidona, Carboximetilcelulosa de sodio, Polietilenglicoles (PEG), Polímeros de acrilato, Aqua-Zein®, que es una formulación de zeína acuosa que no contiene alcohol, Almidón de amilosa y derivados de almidón, y para el revestimiento entérico: Ftalato acetato de celulosa (CAP), Polímeros de acrilato, Ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, Ftalato acetato de polivinilo y otros revestimientos conocidos en la técnica.

En una realización ilustrativa, las composiciones desveladas en el presente documento son útiles para proporcionar u producir un único suplemento alimentario de dosificación alta y/o un medicamento importante para conseguir beneficios globales para la salud. Por ejemplo, una elevada dosificación de manano es eficaz para apoyar la salud glucémica, y mantener niveles normales de azúcar en sangre así como disminuir el colesterol en sangre. La alta dosificación de manano es un nutriente probiótico que soporta el crecimiento de bacterias beneficiosas y el mantenimiento de la flora intestinal beneficiosa para la salud colónica e intestinal. La alta dosificación de manano es también eficaz para promover un sistema digestivo sano y la absorción de nutrientes esenciales. Las composiciones desveladas en el presente documento son útiles en la medicina veterinaria y/o humana. Las composiciones pueden administrarse por vía oral a un paciente o sujeto. El paciente o sujeto puede ser un mamífero, incluyendo mamíferos no humanos. Las composiciones desveladas en el presente documento pueden administrarse por vía oral, como un comprimido masticable, comprimidos oblongos, cápsulas de gel, una píldora, una unidad de servicio de gel líquido alimentario, extracto de plantas medicinales, y/u otros tipos de administración del tipo.

Debe entenderse que los ejemplos que siguen se proporcionan a fines explicativos y no deben considerarse como limitantes, y que serán evidentes numerosas variaciones y modificaciones para los expertos en la materia y pueden realizarse sin apartarse del espíritu y el ámbito de la divulgación.

Ejemplo 1

En un ejemplo ilustrativo, se proporcionó a un sujeto sospechoso de tener una dolencia prediabética una comida que contenía aproximadamente 400 kcal de combinación de almidón y azúcar. Se controló la glucosa en sangre del sujeto durante un periodo de 2 horas después de la comida. Se describe un gráfico de los niveles de glucosa en sangre del sujeto de acuerdo con una realización ilustrativa con referencia a la Fig. 5. Como se ilustra en la Fig. 5, los primeros puntos de datos 500 para la dolencia sin tratamiento, mientras que los segundos puntos de datos 502 son para la dolencia con tratamiento. En esta realización ilustrativa, el sujeto consumió aproximadamente 6 gramos de una mezcla de fibras de polisacárido de manano purificadas antes de la comida. Los resultados de una comparación entre los primeros puntos de datos 500 y los segundos puntos de datos 502 ilustran claramente los niveles más bajos de glucosa durante las 2 horas del ensayo indicando una disminución en el índice glucémico. Por tanto, el consumo de aproximadamente 6 gramos de una mezcla de fibras de polisacárido de manano purificadas da como resultado niveles de glucosa más bajos.

Ejemplo 2

En un ejemplo ilustrativo adicional, se llevó a cabo un estudio comparando la glucosa en sangre postprandial a corto plazo y las respuestas de la insulina producidas por dos comidas de ensayo que contienen fibras de polisacárido de manano purificadas, comparado con los efectos producidos por una porción igual de carbohidratos de una comida de control de arroz blanco simple. El estudio usó un diseño de medidas repetidas, de tal manera que cada sujeto consumió cada comida en dos ocasiones diferentes, completando un total de seis sesiones de ensayo diferentes. Cada sujeto completó sus sesiones de ensayo en mañanas diferentes de los días de la semana en un momento del día similar, tan cerca como fue posible del momento en el que ellos desayunarían normalmente.

Sujetos

Los detalles relevantes de los sujetos incluyendo el género, la edad, el índice de masa corporal (IMC), y la etnicidad se relacionan en la Fig. 6. Como se ilustra en la Fig. 6. Los sujetos incluyeron diez sujetos sanos, no fumadores, con sobrepeso u obesos (4 mujeres, 6 hombres). La edad promedio \pm SD de los sujetos fue de $29,2 \pm 3,3$ años (intervalo 25,6 - 36,8 años), y su valor promedio \pm SD del índice de masa corporal fue de $27,3 \pm 1,1$ kg/m² (intervalo: 25,5 - 28,7 kg/m²).

Todos los sujetos cumplen los siguientes criterios: son de edades entre 25-65 años; no fumadores; tienen un peso

corporal estable en el intervalo de peso con sobrepeso para su altura (valores del IMC mayores que 25 kg/m²); tienen hábitos alimentarios normales y están y no han estado haciendo dieta o comiendo en un modo demasiado restrictivo en los 3 meses pasados; tienen un patrón regular de actividad física baja a moderada; son capaces de ayunar durante más o igual a 10 horas la noche antes de cada sesión del ensayo; son capaces de abstenerse de comer una cena a base de leguminosas o de beber alcohol el día antes de cada sesión del ensayo; encuentran los alimentos del ensayo adecuados para el consumo en 12 minutos; están cubiertos por la seguridad social o un sistema similar; no están tomando ningún tratamiento para la anorexia, pérdida de peso, o cualquier forma de tratamiento o medicación que interfiera igualmente con el metabolismo o con los hábitos alimentarios; firmaron el formulario del consentimiento informado para el estudio; no tienen ninguna enfermedad física o mental clínicamente significativa; no padecen de una alergia alimentaria o de una intolerancia grave a alimentos; no están tomando con regularidad medicación recetada diferente de la medicación anticonceptiva convencional; no son mujeres que estén embarazadas actualmente, que amamenten, que traten de quedarse embarazadas o que usen un anticonceptivo aceptable; no están participando en otro ensayo clínico o participaron en otro ensayo clínico en la última semana; no están experimentando anestesia general en el mes antes de la inclusión; no están en una situación, en la que la opinión del investigador podría interferir con la participación óptima en el presente estudio o podría constituir un riesgo especial para el sujeto.

Alimentos del ensayo

Se sirvió a un sujeto cada comida de ensayo basada en arroz en una porción fija que contenía 50 gramos de carbohidratos disponibles. Las tres comidas del ensayo consistieron en la misma porción del arroz de jazmín cocinado (por ejemplo, arroz con aroma de jazmín Sun Rice®, Ricegrowers Limited, NSW, Australia) se sirvió con 250 ml de agua corriente. Dos de las comidas del ensayo incluyeron también el consumo tanto de tres (3) como de seis (6) comprimidos de fibra de polisacárido de manano purificada con 250 ml de agua corriente 10 minutos antes del consumo de la comida basada en arroz. Se consumió un vaso de vidrio de 250 ml de agua 10 minutos antes del consumo de la comida de arroz para la comida del control ("ARROZ").

La composición de cada uno de los comprimidos de manano purificados de acuerdo con la divulgación incluyó aproximadamente 2,0 g del polisacárido de manano purificado y aproximadamente 1,5 g de Sorbitol. Por lo tanto, la comida del ensayo en la que se consumieron tres comprimidos de manano purificado ("ARROZ + 3") incluyó aproximadamente 6,0 g de polisacárido de manano purificado y aproximadamente 4,5 g de Sorbitol. La comida del ensayo en la que se consumieron seis comprimidos de manano purificado ("ARROZ + 6") incluyó aproximadamente 12,0 g de polisacárido de manano purificado y aproximadamente 9 g de Sorbitol.

En la Figura 7 se ilustran los contenidos de macronutrientes de las porciones iguales de carbohidratos de las tres comidas de ensayo (ARROZ, ARROZ + 3, y ARROZ + 6), calculados usando los datos del fabricante. Como se ilustra en la Fig. 7, las tres comidas incluyeron un tamaño de porción de aproximadamente 63 g de arroz seco incluyendo aproximadamente 4,6 g de proteínas, aproximadamente 0,3 g de grasa, aproximadamente 50 g de carbohidratos disponibles, aproximadamente 0,4 g de fibra, y aproximadamente 932 kJ de energía.

Administración de los alimentos del ensayo

Las tres comidas de arroz del ensayo (ARROZ, ARROZ + 3 y ARROZ + 6) se consumieron cada una por los 10 sujetos en dos ocasiones diferentes. Por lo tanto, cada sujeto completó seis sesiones de ensayo diferentes. Cada una de las seis comidas del ensayo se presentó a los sujetos en un orden aleatorio de acuerdo con la lista ilustrada en la Fig. 8. Diez minutos antes del consumo de la comida de arroz del ensayo, se requirió a los sujetos consumir cualquiera de 250 ml de agua (comida ARROZ del control), 3 comprimidos de manano purificado de acuerdo con la divulgación con 250 ml de agua (comida ARROZ + 3) o 6 comprimidos de manano purificado de acuerdo con la divulgación con 250 ml de agua (ARROZ + 6). Se sirvieron a los sujetos todas las comidas del ensayo en platos de porcelana blanca convencionales sin ningún envasado comercial. Por lo tanto, se puede considerar que los sujetos han sido enmascarados para la identidad exacta del arroz o los comprimidos de manano purificados incluidos en las comidas del ensayo.

Se preparó cada porción de arroz poco antes del consumo de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Una porción de ensayo de arroz seco se cocinó individualmente en la estufa usando un procedimiento de ebullición suave con agua en exceso. La porción de arroz se agitó ocasionalmente durante el proceso de cocción, antes de drenarse y servirse a un sujeto en un tazón de porcelana blanca. Cada porción de arroz se sirvió junto con 250 ml de agua corriente. tan pronto como los sujetos comenzaron a comer, se inició un cronómetro para cronometrar el progreso de la sesión experimental de dos horas. Se instruyó a los sujetos a consumir todo el alimento y líquido que se les sirvió a un ritmo cómodo en 12 minutos.

Protocolo experimental

El día antes de cada sesión de ensayo, se requirió a los sujetos a abstenerse de beber alcohol durante todo el día y a evitar niveles inusuales de captación de alimentos y actividad física. por la tarde se les requirió para comer una merienda basada en un alimento rico en carbohidratos y grasa baja, diferente de leguminosas, tras lo cual se requirió a los sujetos a ayunar durante al menos 10 horas durante la noche hasta el inicio de su sesión de ensayo la mañana

siguiente. Durante el periodo de ayuno, se les permitió beber solo agua.

La mañana siguiente los sujetos informaron al centro de investigación en condiciones de ayuno. Los investigadores comprobaron en primer lugar que cada sujeto se sentía bien y no había tomado ninguna medicación debido a la sesión de ensayo previa, y había sido capaz de cumplir todos los requerimientos experimentales precedentes. A continuación se registró el peso corporal de cada sujeto (sujetos vestidos, pero sin chaquetas y zapatos), tras lo cual se les calentó una mano en un cubo de agua caliente durante 1-2 minutos. A continuación se obtuvo la primera de las dos muestras de sangre pinchadas en el dedo en ayunas (-10 min) procedentes de la punta del dedo ($\geq 0,7$ ml de sangre capilar dependiendo del flujo sanguíneo y del nivel de hematocrito) usando un dispositivo de lanceta automática estéril (por ejemplo, Safe-T-Pro®, Boehringer Mannheim, Alemania). A continuación se proporcionó al sujeto tanto arroz con 250 ml de agua (comida ARROZ del control), arroz con 3 comprimidos de manano purificados y 250 ml de agua (comida ARROZ + 3), como arroz con 6 comprimidos de manano purificados y 250 ml de agua. Se les requirió consumir esta porción de ensayo en 5 minutos. Después de 10 minutos, se recalentó la mano de los sujetos en agua caliente durante otro minuto, tras lo cual se tomó otra muestra de sangre en ayuno (0 min).

Después se obtuvo esta muestra de sangre en ayunas, Los sujetos estaban sentados en una mesa grande en una habitación tranquila y se les sirvió una porción fija de arroz blanco, que consumieron junto con 250 ml de agua a un ritmo cómodo en 12 minutos. Se inició un cronómetro para cada sujeto tan pronto como comenzaron a comer (0 min). Se instruyó a los sujetos a consumir todo el agua y el alimento que se les sirvió, tras lo cual se les pidió que permanecieran sentados en el centro de investigación y abstenerse de comer y beber adicionalmente durante las siguientes dos horas. se extrajeron muestras adicionales de sangre pinchando en el dedo 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos después que se había comenzado la comida. Se recalentaron las manos de los sujetos durante 1-2 minutos en agua caliente antes que se requirió cada muestra de sangre. Por lo tanto, se recogieron un total de ocho muestras de sangre de cada sujeto durante una sesión del ensayo. Tras completar los 120 minutos de la sesión del ensayo, se dejó a los sujetos consumir algunos refrescos antes de dejar el centro de investigación.

Determinación de la glucosa en plasma y concentraciones de insulina

Se recogió cada muestra de sangre en tubos de microcentrífuga de plástico de 1,5 ml que contenían 10 unidades internacionales (UI) de un anticoagulante, sal de heparina de sodio (por ejemplo, de Calidad II, Sigma Chemical Company, Castle Hill, NSW, Australia). Inmediatamente después de la extracción, se mezcló la muestra de sangre con el anticoagulante invirtiendo suavemente el tubo, y se centrifugó a $12.500 \times g$ durante 0,5 - 1,0 minutos a temperatura ambiente. A continuación se transfirió el plasma inmediatamente a un tubo de microcentrífuga de plástico sin revestir marcado y a continuación se almacenó a -20°C hasta que se analizó.

Medición de las concentraciones de glucosa en plasma

se midieron las concentraciones de glucosa en plasma por duplicado usando un analizador centrífugo espectrofotométrico automático Roche/Hitachi 912® (por ejemplo, Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Alemania) empleando el ensayo de la glucosa hexoquinasa / glucosa-6-fosfato deshidrogenasa enzimática (por ejemplo, Boehringer Mannheim Australia, Castle Hill, NSW, Australia). Se analizaron las ocho muestras de sangre de una sesión de ensayo del sujeto individual en mismo ciclo de análisis. Cada ciclo se llevó a cabo con calibradores normalizados y controles internos (por ejemplo, CFAS, Precinorm S, y Precinorm U, Boehringer Mannheim, Australia). Si los valores por duplicado para una muestra de sangre difirieron en más de $0,3 \text{ mmol/l}$, se volvió a analizar la muestra otras 2 veces, y se usaron las 2-3 concentraciones más similares para calcular una concentración de glucosa en sangre promedio para esta muestra.

Medición de las concentraciones de insulina en plasma

Se midieron las concentraciones de insulina en plasma utilizando un kit de radioinmunoensayo compuesto por un tubo revestido de anticuerpo en fase sólida (por ejemplo, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, Estados Unidos). Se analizaron todas las muestras de sangre recogidas de cada sujeto individual a través del estudio completo en el mismo ciclo de ensayo utilizando los controles internos. Se calculó la concentración final de insulina de cada muestra de plasma convirtiendo los recuentos radioactivos observados, usando una curva de calibración creada por patrones de concentraciones de insulina conocidos. Se utilizaron dos conjuntos de patrones en cada ciclo de ensayo.

Análisis de datos

Se usó el valor promedio de las concentraciones de glucosa en plasma por duplicado para cada muestra de sangre como las concentraciones de glucosa en sangre de los sujetos para los ocho puntos temporales de cada sesión de ensayo de dos horas. Para cada sujeto, se calculó el área incremental bajo la curva de respuesta de glucosa en plasma de dos horas (ABCi) para cada comida de ensayo usando la regla trapezoidal con el valor inicial, valor de ayuno truncado en cero. El valor inicial era la concentración promedio de las dos muestras de sangre en ayuno (-10 y 0 minutos). Se ignoró cualquier área negativa por debajo del nivel de ayuno. Los valores de la ABCi permiten la comparación de los efectos integrados de las comidas de ensayo durante un periodo de tiempo fijo. El área incremental bajo la curva de respuesta de insulina en plasma para las comidas de ensayo de cada sujeto se calcularon usando el mismo procedimiento relacionado anteriormente para la ABCi de la glucosa en plasma.

La glucosa en plasma bruta y los resultados de la insulina en plasma se tiparon en una hoja de cálculo (por ejemplo, el software Microsoft® Excel 2004, Microsoft Corporation) ya que se obtuvieron durante el curso del estudio. Una vez que se completó la entrada de datos, se calcularon las áreas incrementales bajo la curva para la glucosa en plasma y las respuestas de la insulina. A continuación se transfirieron los datos en las hojas de cálculo a otro archivo del programa informático (por ejemplo, software Statview®, versión 4.02, 1993, Abacus concepts Inc, Berkley, CA, EE.UU.), a fin de calcular las estadísticas descriptivas para las respuestas de la ABCi a la glucosa y la insulina (incluyendo la media, la mediana, la desviación estándar (SD) y el error estándar de la media (SEM)).

Se usó el análisis de medidas repetidas de la varianza (ANOVA) para determinar si hubo alguna diferencia significativa entre las respuestas de la ABCi de la glucosa y la insulina medias de las tres comidas de arroz de ensayo. Si se encontró un efecto del producto estadísticamente significativo, se llevó a cabo un ensayo de múltiples comparaciones post-hoc a fin de identificar diferencias significativas específicas. Para los datos normalmente distribuidos, se usó el ensayo PLSD de Fisher como el ensayo post-hoc.

RESULTADOS

No se notificaron u observaron efectos adversos graves durante el estudio y ninguno de los sujetos notificó tomar ninguna medicación diferente que la de los comprimidos de manano purificados. Cada sesión experimental de dos horas procedió sin incidentes. De manera similar, ninguno de los sujetos abandonó prematuramente el estudio. Dos sujetos notificaron incomodidades gastrointestinales menores tras una sesión experimental de 2 horas que contenían la dosis más alta (6 comprimidos) de comprimidos de manano purificados. Estos sujetos notificaron dolor de estómago débil y/o diarrea por la tarde de la sesión de ensayo conteniendo la dosificación de 6 comprimidos de manano purificado. Los diez sujetos notificaron que la dosis más grande de comprimidos de manano purificados fue difícil de consumir debido al sabor y al tamaño de los comprimidos.

Respuestas a la glucosa en plasma

En las Figs. 9-14 se ilustran los valores de las concentraciones individuales de la glucosa en sangre para cada comida de ensayo y los valores ABCi de la glucosa en plasma correspondientes de los 10 sujetos. Las Figs. 9 y 10 ilustran las concentraciones de glucosa en sangre individuales de los sujetos para las comidas de ARROZ del ensayo. Las Figs. 11 y 12 ilustran las concentraciones de glucosa en sangre individuales de los sujetos para las comidas de ARROZ + 3 del ensayo. Las Figs. 13 y 14 ilustran las concentraciones de glucosa en sangre individuales de los sujetos para las comidas de ARROZ + 6 del ensayo.

La comida del control (ARROZ) produjo la concentración máxima más elevada de glucosa en plasma a los 30 minutos y la respuesta glucémica global mayor, en referencia a los valores ABCi de la glucosa ilustrados en la Fig. 15. La Fig. 15 ilustra la media absoluta \pm SEM de las concentraciones de glucosa en plasma para las ocho muestras de sangre (mmol/l) recogidas durante las sesiones de ensayo de dos horas para las tres comidas de ensayo repetido dos veces y las áreas incrementales medias bajo las curvas de respuesta de glucosa en plasma de dos horas de los alimentos (ABCi). Los resultados relacionados a los 0 minutos son los valores medios de las dos muestras de sangre en ayunas (-10 y 0 min).

La respuesta glucémica global producida por las dos comidas de ensayo que contienen Arroz y comprimidos de manano purificados fue similar a lo largo del periodo experimental de 120 minutos. Las comidas del ensayo ARROZ + 3 y ARROZ + 6 produjeron un aumento estacionario de la glucosa en plasma hasta una respuesta máxima moderada en 30 minutos, seguido por un declive gradual de la respuesta de glucosa entre 30 - 120 minutos. La comida de ARROZ + 6 produjo una concentración de glucosa en plasma más pequeña en cada punto temporal a lo largo de los 120 minutos de periodo experimental, dando como resultado una respuesta glucémica global inferior en comparación con la comida de ARROZ + 3.

Respuesta de la insulina en plasma

En las Figs 16-21 se ilustran las respuestas individuales de la insulina en plasma y los valores de insulina de la ABCi para las comidas del ensayo de los 10 sujetos. Las Figs. 16 y 17 ilustran las concentraciones de insulina en plasma de los sujetos para las comidas de ARROZ. Las Figs. 18 y 19 ilustran las concentraciones de insulina en plasma individuales de los sujetos para las comidas de ARROZ + 3. Las Figs. 20 y 21 ilustran las concentraciones de insulina en plasma individuales de los sujetos para las comidas de ARROZ + 6.

En la Fig. 22 se ilustran las concentraciones de insulina en plasma promedio para las tres comidas de arroz. La Fig. 22 ilustra la media absoluta \pm SEM de las concentraciones de insulina en plasma para las ocho muestras de sangre (pmol/l) recogidas durante las sesiones de ensayo de dos horas para las comidas de ensayo y las áreas incrementales medias bajo las curvas de respuesta de insulina en plasma de dos horas (ABCi). Los resultados relacionados a los 0 minutos son los valores medios de las dos muestras de sangre en ayunas (-10 y 0 min).

Como se espera debido a su alta respuesta glucémica, el alimento del control (ARROZ) produjo un gran aumento en la concentración de insulina en plasma y la respuesta global a la insulina en plasma más grande, en referencia a los valores ABCi de la insulina ilustrados en la Fig. 22. Las respuestas insulinémicas producidas por las dos comidas de ensayo ARROZ + 3 y ARROZ + 6 fue similar a lo largo del periodo experimental. Las dos comidas produjeron un

5 aumento estacionario de la concentración de insulina en plasma hasta una respuesta máxima a los 30 minutos seguida por un declive gradual en la concentración de insulina entre 30 - 120 minutos. De manera similar, a la respuesta glucémica correspondiente, la comida de ARROZ + 6 produjo un máximo menor y una respuesta de insulina global en comparación con la comida de ARROZ + 3. Los niveles promedio de insulina en plasma para las tres comidas de arroz permanecieron por encima del nivel inicial de ayuno a la finalización del periodo experimental de 120 minutos.

Respuestas de la ABCi promedio

10 La glucosa postprandial y las respuestas de la insulina de la ABCi variaron entre los sujetos que participaron en el estudio. Esta variación entre diferentes respuestas de personas al mismo alimento es normal y es debida a numerosos factores, incluyendo diferentes velocidades a las cuales los sujetos ingirieron el alimento, diferencias en el contenido de nutrientes de las porciones del alimento de ensayo individual, diferencias en el metabolismo de los carbohidratos de los sujetos, y el estilo de vida y factores genéticos.

15 Se usaron ensayos estadísticos paramétricos (por ejemplo, medidas repetidas de ANOVA y el ensayo PLSD de Fisher) para determinar si hubo cualesquiera diferencias significativas entre la glucosa en plasma y las respuestas de la insulina ABCi para las comidas de ensayo del arroz.

20 Las medidas repetidas de ANOVA unifactoriales de promedio de respuestas de ABCi de la glucosa en plasma de las comidas de arroz indicaron que existió una diferencia significativa entre los valores de ABCi medios ($p = 0,0001$). Los resultados del ensayo post-hoc (por ejemplo, el ensayo PLSD de Fisher) mostraron que la respuesta de ABCi media para la comida del control (ARROZ) fue significativamente mayor que las respuestas de glucosa medias para el ARROZ + 3 comprimidos ($p < 0,01$) y el ARROZ + 6 comprimidos ($p < 0,001$). La respuesta ABCi de glucosa en plasma media para el ARROZ + 3 comprimidos se encontró también que era significativamente mayor que la respuesta de glucosa media para el ARROZ + 6 comprimidos ($p < 0,05$).

25 Las medidas repetidas de ANOVA unifactoriales de promedio de respuestas de ABCi de la insulina en plasma de las comidas de arroz indicaron que existió una diferencia significativa entre los valores de ABCi medios ($p = 0,0009$). La respuesta ABCi de insulina media en plasma de la comida ARROZ fue significativamente mayor que las respuesta de la insulina medio de la comida de ARROZ + 3 comprimidos ($p < 0,05$) y la comida de ARROZ + 6 comprimidos ($p < 0,001$). No se detectó diferencia significativa entre las respuestas de insulina media en plasma de las dos comidas de ensayo que contenían los comprimidos de manano purificados.

Relación entre la glucosa de los alimentos de ensayo y las respuestas de insulina ABCi

30 Se usó el análisis de regresión lineal para determinar el grado al cual se asociaron las respuestas de glucosa e insulina en plasma de los sujetos individuales para las comidas del ensayo. En general, Las respuestas de la glucosa de las comidas de arroz del ensayo estuvieron significativamente asociadas con sus respuestas de insulina correspondientes ($r = 0,78$, $n = 60$, $p = 0,0001$).

Conclusión

35 Este estudio muestra que el consumo de comprimidos que tienen una composición que incluye fibras del polisacárido manano purificadas de acuerdo con la divulgación antes de un alimento con un alto contenido de carbohidratos reduce las respuestas de la glucosa postprandial y la insulina de esta comida. La dosis menor de manano purificado, los 3 comprimidos que contenían 6 g de polisacárido de manano y 4,5 g de Sorbitol, dieron como resultado un 19 % de reducción en la glucosa postprandial y un 16 % de disminución en la respuesta de insulina postprandial en comparación con el arroz blanco consumido solo. La dosis mayor de manano purificado, los 6 comprimidos que contenían 12 g de polisacárido de manano y 9 g de Sorbitol, produjeron un 32 % de reducción en la respuesta de la glucosa de 2 h y un 24 % de reducción en la respuesta de la insulina postprandial en comparación con la comida de control del arroz blanco.

Ejemplo 3

45 *Ensayo de toxicidad*

50 En una realización ilustrativa, los procesos de purificación descritos anteriormente eliminan las dioxinas por debajo de 0,01 mg/kg, que se considera seguro para consumo humano. Se han encontrado altos niveles de pentaclorofenol y dioxinas en determinados lotes de goma guar originarios y/o procedentes de la India, aproximadamente 1000 veces el nivel de los que se puede considerar una contaminación normal de fondo. Dicha contaminación constituye un riesgo para la salud pública si no se toman medidas para evitar la presencia de pentaclorofenol (PCP) y dioxinas en la goma guar. En una realización ilustrativa, el ensayo demuestra que el producto o la fibra de polisacárido de manano purificada de acuerdo con la divulgación no contiene más de 0,01 mg/kg de pentaclorofenol (PCP). De manera similar, el proceso está validado para las toxinas microbianas y los metales pesados para hacer el producto seguro para el consumo humano y no humano.

55 En una realización ilustrativa, la fibra de polisacárido de manano purificada de acuerdo con la divulgación se ensayó

para metales pesados. Como se ilustra en la Fig. 23, un comprimido masticable que contiene aproximadamente 2 gramos de fibra de polisacárido de manano purificada de acuerdo con la divulgación se ensayó para el antimonio usando un procedimiento de ensayo GB/T 5009.137-2003. Los resultados indican que el comprimido masticable contiene menos de aproximadamente 1 mg/kg de antimonio. Se ensayó el comprimido masticable para el arsénico usando un procedimiento de ensayo GB/T 5009.11-2003. Los resultados indican que el comprimido masticable contiene menos de aproximadamente 1,4 mg/kg de arsénico. Se ensayó el comprimido masticable para el cadmio usando un procedimiento de ensayo GB/T 5009.15-2003. Los resultados indican que el comprimido masticable contiene menos de aproximadamente 1 mg/kg de cadmio. Se ensayó el comprimido masticable para el cromo usando un procedimiento de ensayo GB/T 5009.123-2010. Los resultados indican que el comprimido masticable contiene menos de aproximadamente 1 mg/kg de cromo. Se ensayó el comprimido masticable para el plomo usando un procedimiento de ensayo GB/T 5009.12-2010. Los resultados indican que el comprimido masticable contiene menos de aproximadamente 6 mg/kg de plomo. Se ensayó el comprimido masticable para el mercurio usando un procedimiento de ensayo GB/T 5009.17-2003. Los resultados indican que el comprimido masticable contiene menos de aproximadamente 0,5 mg/kg de mercurio. Se ensayó el comprimido masticable para el estaño usando un procedimiento de ensayo GB/T 5009.16-2003. Los resultados indican que el comprimido masticable contiene menos de aproximadamente 6 mg/kg de estaño.

En una realización ilustrativa, la fibra de polisacárido de manano purificada de acuerdo con la divulgación se ensayó para, la citotoxicidad usando, por ejemplo, un cultivo de células de tejido de mama. El procedimiento del bioensayo de la citotoxicidad incluyó la resuspensión de las células en medio de cultivo de ensayo que contenía aproximadamente 0,25 % de suero de feto de bovino inactivado térmicamente (HI-FBS) (por ejemplo, Gibco lote n.º 1297785) y Penicilina Estreptomina 4X (Pen/Estrep). Tras resuspender las células, aproximadamente 100 µl de las células de cultivo en crecimiento se transfirieron en cada pocillo de una placa de ensayo (5.000 células/pocillo). Las muestras de ensayo se diluyeron en serie en medio de ensayo sin Pen/Estrep en un tubo de ensayo por duplicado. Aproximadamente 100 µl de la dilución en serie se añadieron a las células. El volumen final de cada pocillo fue de aproximadamente 200 µl, que contenían aproximadamente 2x Pen/Estrep. A continuación se incubaron las células durante aproximadamente 137 horas. Tras la incubación, aproximadamente 20 µl de reactivo Promega Substrate Cell Titer 96 Aqueous One Solution se añadieron a cada pocillo. Las muestras se incubaron a continuación a aproximadamente 37 grados Celsius y se determinó la densidad óptica (DO) a 490 nm. Los resultados se representaron en gráfico y se calculó la DI50 (concentración de inhibición que produce el 50 % de reducción del crecimiento). Los resultados se ilustran en forma gráfica en la Fig. 24. Como se ilustra en la Fig. 24, el polisacárido de manano purificado no tiene citotoxicidad. Se usó camptotecina (CPT) con células de tejido de mama como control.

En una realización ilustrativa, la fibra de polisacárido de manano purificada de acuerdo con la divulgación se ensayó para la neurotoxicidad. Se llevaron a cabo los ensayos de neurotoxicidad usando células de glioma (por ejemplo ATCC® CCL-107™) y células de neuroblastoma (por ejemplo, ATCC® HTB-11™). Las células que se habían almacenado previamente a aproximadamente -200 grados Celsius se reconstituyeron y cultivaron en medio de ensayo (por ejemplo, HI-FBS al 5 % - Gibco lote n.º 1393129). Las células se resuspendieron en medio de ensayo exento de citoquinas que contenía HI-FBS al 5 % (por ejemplo, Gibco lote n.º 1393129) a 20.000 células/100 µl. Aproximadamente 100 µl de las células se transfirieron a cada pocillo de una placa de ensayo (por ejemplo, un formato de 96 pocillos). Se añadieron aproximadamente 20 µl de Factor de crecimiento nervioso a cada pocillo y se incubaron durante aproximadamente 20 horas a aproximadamente 37 grados Celsius. Solución de Factor de crecimiento nervioso, por ejemplo, el factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF) en medio de crecimiento contiene 5 % de HI-FBS para un crecimiento óptimo.

En una placa diferente, se diluyó en serie una muestra por duplicado en diluciones de 1:3 en medio de ensayo. Se transfirieron aproximadamente 100 µl a las células en cada pocillo en la placa de ensayo y se incubaron durante aproximadamente 24 horas a aproximadamente 37 grados Celsius. Se añadieron aproximadamente 20 µl de Promega® CellTiter 96® AQueous One Solution y se incubaron a aproximadamente 37 grados Celsius. Se determinaron los resultados a la DO de 490 nm. Se analizaron los datos de la proliferación frente a controles negativos y positivos (10 µg/ml de metotrexato añadido). Se determinó a continuación la CI50 mediante el análisis de regresión de Probit. Los resultados indicaron que la fibra de polisacárido de manano purificada no tiene neurotoxicidad. La fibra de polisacárido de manano purificada no tiene un valor de CI50 establecido a concentraciones de aproximadamente 5 mg/ml, donde las neurotoxinas y citotoxinas conocidas tienen una CI50 en los niveles de los microgramos y nanogramos/ml.

En una realización ilustrativa, la fibra de polisacárido de manano purificada de acuerdo con la divulgación se ensayó para las toxinas microbianas. Se llevó a cabo un ensayo para las toxinas microbianas totales utilizando Endosafe®-PTS (Charles River laboratories). Los resultados del ensayo de las endotoxinas críticas son cruciales para la confirmación de una fabricación segura y necesarios para la liberación de un producto terapéutico seguro. Se utilizó un espectrofotómetro manipulado manualmente que utiliza cartuchos desechables con licencia médica de la FDA para los ensayos de endotoxinas fiables y convenientes. Con resultados de ensayo en aproximadamente 15 minutos, la fabricación y la liberación pueden avanzar rápidamente sin retraso. El ensayo ilustrado en la Fig. 25 de la fibra de polisacárido de manano purificada indica que las endotoxinas microbianas totales están por debajo del límite de detección del ensayo, por ejemplo, menos de 0,5 UE/ml, y menos de 0,0083 UE/mg.

5 Aunque las composiciones, sistemas, procesos, y procedimientos desvelados en el presente documento se han descrito e ilustrado junto con determinadas realizaciones, serán evidentes para los expertos en la materia muchas variaciones y modificaciones y pueden realizarse sin apartarse del espíritu y el ámbito de la invención. Las composiciones, sistemas, procesos y procedimientos desvelados en el presente documento no están limitados por tanto a los detalles precisos de la metodología o construcción que se muestra anteriormente de tal manera que dichas variaciones y modificaciones se pretende que estén incluidas en el ámbito de la divulgación.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende:
- 5 al menos un primer polisacárido de manano soluble purificado de alto peso molecular de 50 kD a 300 kD;
al menos un segundo polisacárido de manano purificado de bajo peso molecular de 5 KD a 50 KD, en la que el al
al menos un primer polisacárido de manano soluble purificado de alto peso molecular, y el al menos un segundo
polisacárido de manano purificado de bajo peso molecular se purifican para contener menos de un 1 % de
impurezas no de polisacáridos naturales incluyendo proteínas, alcaloides, glucoalcaloides y proporcionar fibras
alimentarias hipoalergénicas; y
10 al menos un alcohol de azúcar y un oligosacárido y/o monosacárido,
en la que la relación de polisacárido de manano de bajo peso molecular a polisacárido de manano de alto peso
molecular es de 20:1 a 100:1 en peso.
2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que al menos uno del al menos un primer polisacárido de
manano soluble purificado de alto peso molecular y del al menos un segundo polisacárido de manano purificado de
bajo peso molecular se fracciona a partir de una o más semillas de leguminosas, incluyendo la una o más semillas
15 de leguminosas al menos una de *Cassia fistula*, *Ceratonia siliqua*, *Caesalpinia spinosa*, *Trigonella foenumgraecum*,
y/o *Cyamopsis tetragonolobus*.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el al menos un primer polisacárido de manano
soluble purificado de alto peso molecular y el al menos un segundo polisacárido de manano purificado de bajo peso
molecular se purifican para eliminar al menos una porción de contaminantes ambientales y agrícolas incluyendo
20 metales pesados, pesticidas, herbicidas, toxinas microbianas y micotoxinas.
4. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el al menos un primer polisacárido de manano
soluble purificado de alto peso molecular está incluido en el al menos un segundo polisacárido de manano purificado
de bajo peso molecular formando al menos un polisacárido de manano combinado; y en la que el al menos un
polisacárido de manano combinado está incluido en el al menos un oligosacárido y/o monosacárido.
- 25 5. La composición de acuerdo con la reivindicación 4, en la que la composición está en forma de al menos uno de un
comprimido masticable, un comprimido oblongo, una cápsula de gel, una planta carnosa y un gel líquido
concentrado.
6. La composición de acuerdo con la reivindicación 5, en la que la composición se disuelve en 1 minuto a 30 minutos
tras el contacto con el agua, la saliva, u otro fluido.
- 30 7. La composición de acuerdo con la reivindicación 5, en la que la composición contiene:
- 1 % a 25 % (p/p) del al menos un primer polisacárido de manano soluble purificado de alto peso molecular;
20 % a 80 % (p/p) del al menos un segundo polisacárido de manano purificado de bajo peso molecular; y
40 % a 60 % (p/p) del al menos un oligosacárido y/o un monosacárido.
8. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición incluye:
- 35 1 gramo del primer polisacárido de manano soluble purificado de alto peso molecular;
2,0 gramos del segundo polisacárido de manano soluble purificado de bajo peso molecular; y
1 gramo del alcohol de azúcar.

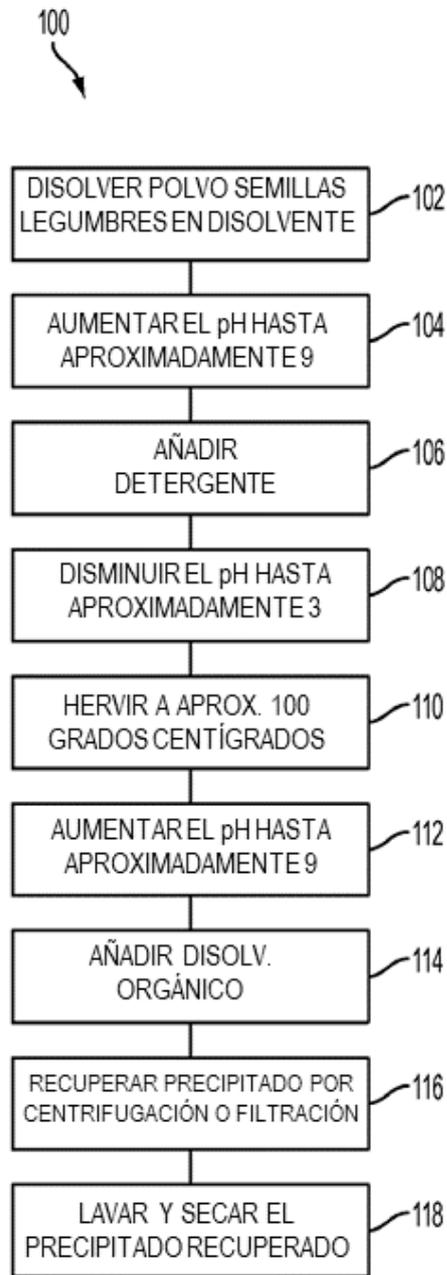


FIG. 1

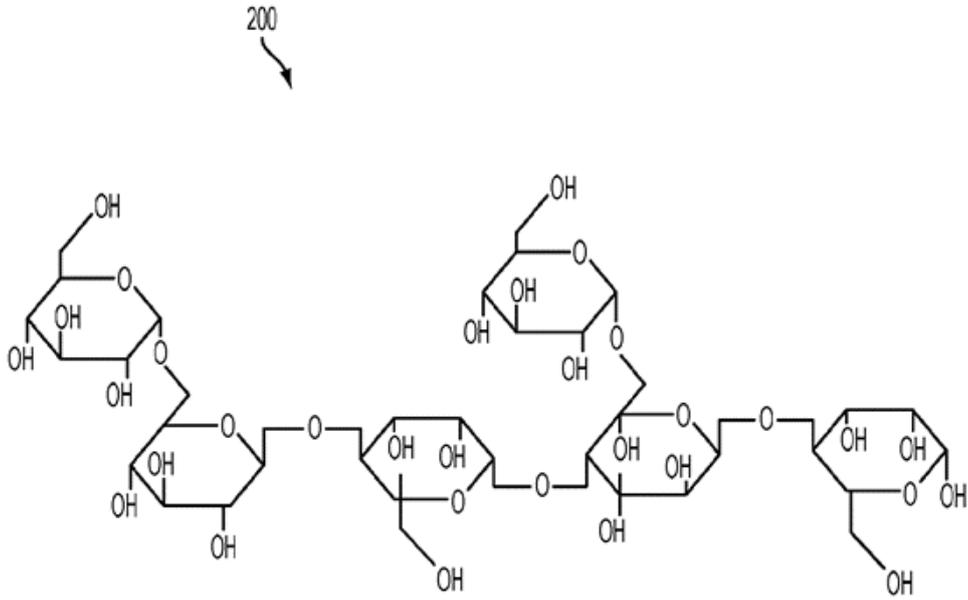


FIG. 2

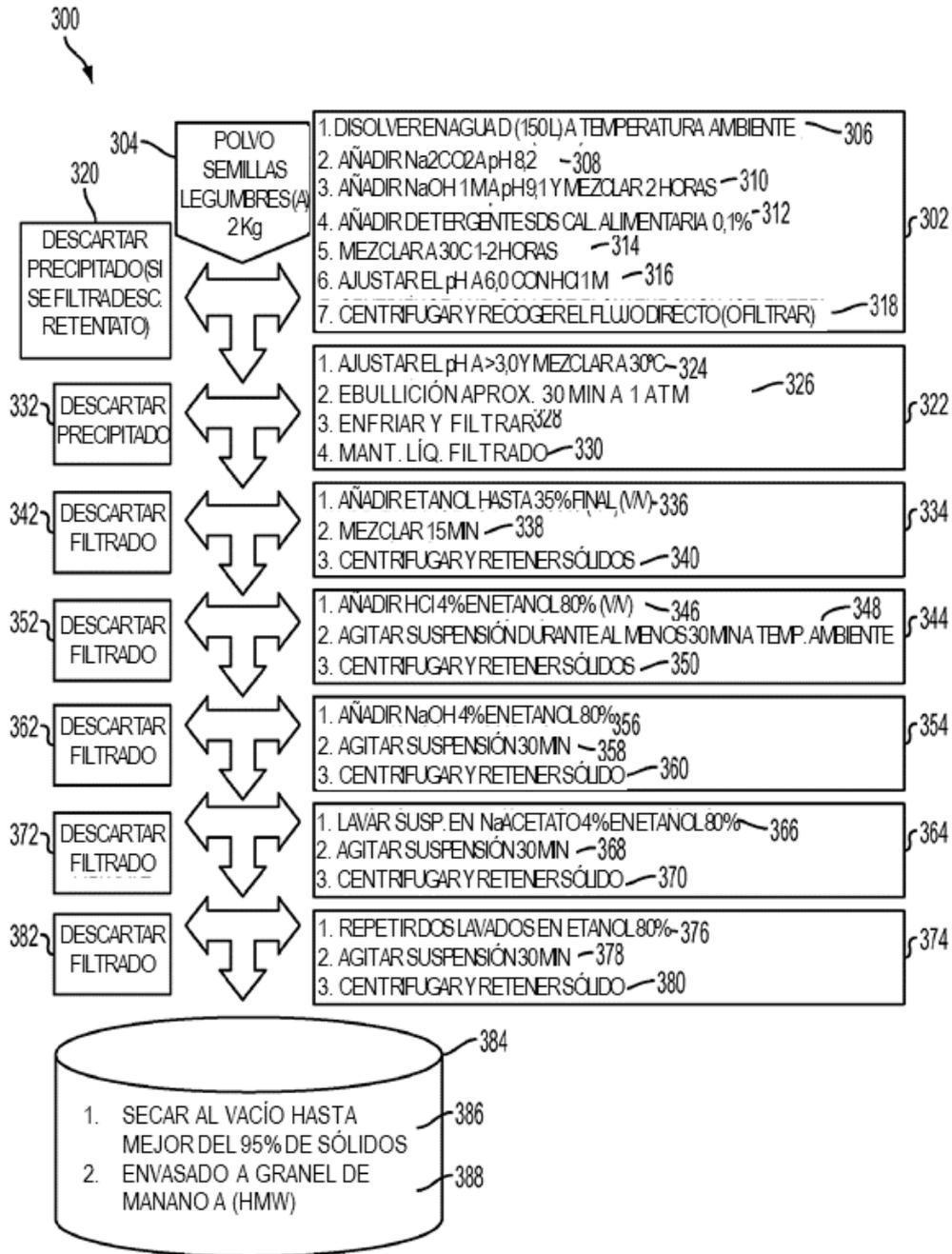


FIG. 3

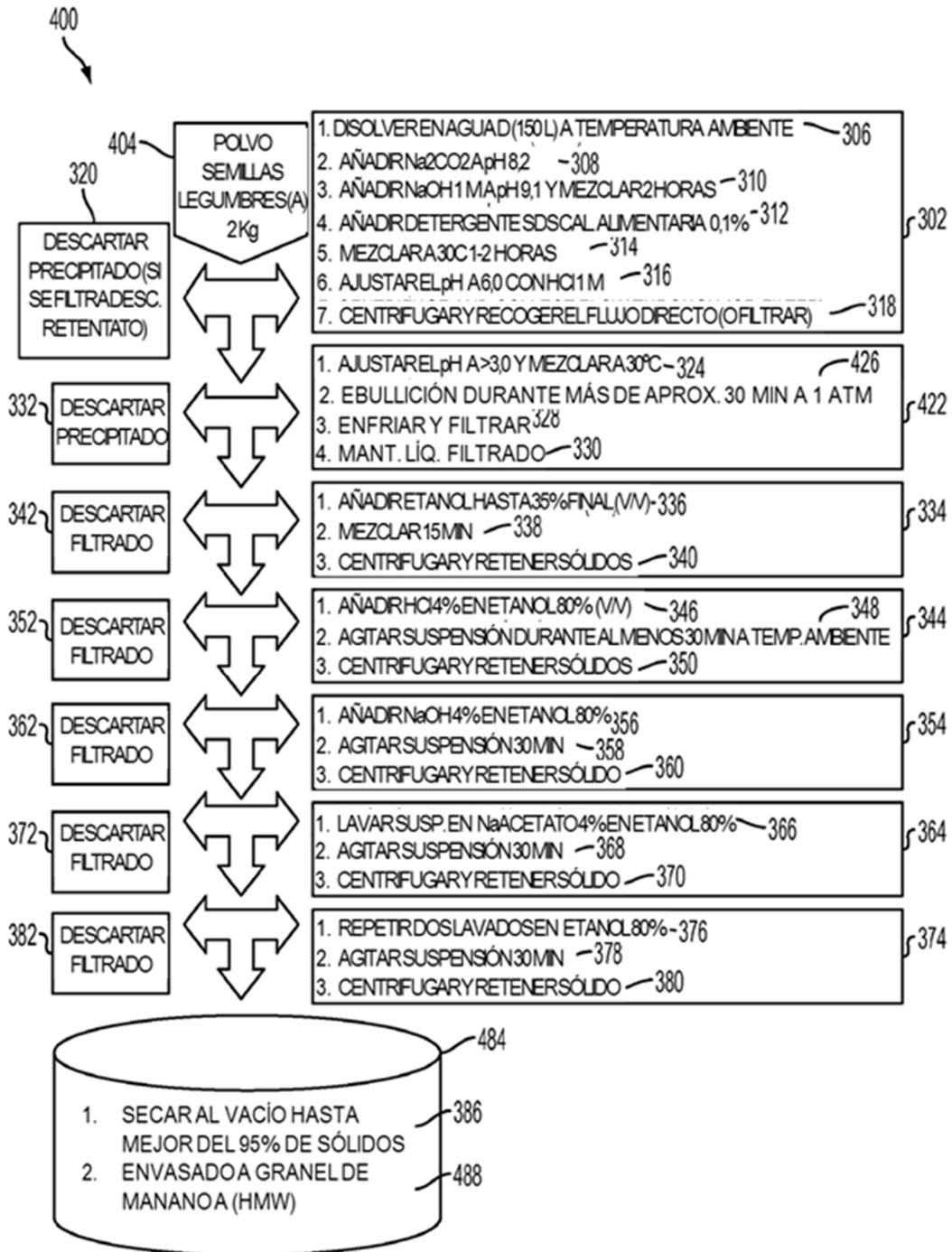


FIG. 4

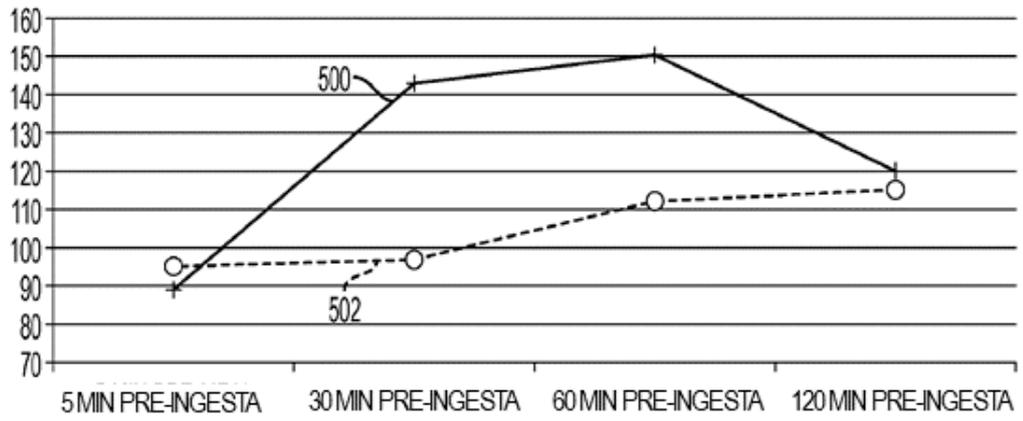


FIG. 5

NÚMERO	GÉNERO	EDAD (año)	IMC (kg/m ²)	ETNICIDAD
1	F	25,6	28,5	CAUCÁSICO
2	M	30,8	26,2	CAUCÁSICO
3	M	30,1	26,5	CAUCÁSICO
4	F	26,5	27,3	CAUCÁSICO
5	M	29,2	28,7	CAUCÁSICO
6	M	36,8	25,5	CAUCÁSICO
7	M	26,3	27,2	CAUCÁSICO
8	M	28,0	28,4	CAUCÁSICO
9	F	27,5	27,8	CAUCÁSICO
10	F	31,6	26,7	CAUCÁSICO

FIG. 6

	ARROZ	ARROZ + 3	ARROZ + 6
TAMAÑO PORCIÓN (g)	63,0 (seco)	63,0 (seco)	63,0 (seco)
PROTEÍNA (g)	4,6	4,6	4,6
GRASA (g)	0,3	0,3	0,3
CARBOHIDRATO DISPONIBLE (g)	50,0	50,0	50,0
FIBRA (g)	0,4	0,4	0,4
ENERGÍA (kJ)	932	932	932

FIG. 7

SUJETO	1	2	3	4	5	6
1	ARROZ	ARROZ + 3	ARROZ + 6	ARROZ	ARROZ + 3	ARROZ + 6
2	ARROZ	ARROZ + 3	ARROZ	ARROZ + 6	ARROZ + 3	ARROZ + 6
3	ARROZ + 3	ARROZ + 6	ARROZ + 3	ARROZ	ARROZ + 6	ARROZ
4	ARROZ + 6	ARROZ + 3	ARROZ	ARROZ + 3	ARROZ	ARROZ + 6
5	ARROZ	ARROZ	ARROZ	ARROZ + 6	ARROZ + 3	ARROZ + 3
6	ARROZ	ARROZ + 6	ARROZ + 6	ARROZ	ARROZ + 3	ARROZ + 3
7	ARROZ + 3	ARROZ + 6	ARROZ	ARROZ	ARROZ + 3	ARROZ + 6
8	ARROZ + 3	ARROZ	ARROZ	ARROZ + 6	ARROZ + 6	ARROZ + 3
9	ARROZ	ARROZ	ARROZ + 6	ARROZ + 3	ARROZ + 6	ARROZ + 3
10	ARROZ	ARROZ + 6	ARROZ	ARROZ + 6	ARROZ + 3	ARROZ + 3

FIG. 8

RESULTADOS DE GLUCOSA EN PLASMA (mmol/l)

ALIMENTO: ARROZ + 3 COMPRIMIDOS DE MANANO

TIEMPO (MIN)	SUJETO										MEDIA	SEM
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
-10	5,76	5,34	5,64	5,17	5,67	5,27	5,28	5,64	5,44	4,80	5,40	0,09
0	5,73	5,22	5,69	5,09	5,72	5,35	5,15	5,63	5,42	4,78	5,38	0,10
0	5,75	5,28	5,66	5,13	5,69	5,31	5,22	5,63	5,43	4,79	5,39	0,10
15	6,04	6,80	7,53	5,72	7,13	5,76	5,79	5,81	6,40	6,24	6,32	0,20
30	8,08	8,75	8,36	7,50	9,14	8,57	6,37	8,37	8,07	6,97	8,02	0,27
45	10,88	8,04	8,79	7,15	7,11	8,16	6,53	9,20	7,65	6,15	7,96	0,44
60	11,27	6,49	7,25	6,44	6,52	7,42	6,29	7,23	7,16	5,69	7,17	0,49
90	7,69	5,78	6,47	6,38	6,19	5,00	5,38	6,02	6,39	5,85	6,11	0,23
120	7,76	5,20	6,87	6,28	6,12	5,16	5,47	5,45	6,45	5,07	5,98	0,28
ABCi	328,84	156,88	193,65	158,61	134,78	142,44	78,05	142,82	169,95	130,80	163,68	20,7

FIG. 9

RESULTADOS DE GLUCOSA EN PLASMA (mmol/l)

ALIMENTO: ARROZ

TIEMPO (MIN)	SUJETO										MEDIA	SEM
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
-10	5,59	5,19	5,44	4,95	5,72	5,58	5,23	5,28	5,01	4,79	5,28	0,10
0	5,61	5,22	5,43	5,04	5,94	5,61	5,29	5,31	5,00	4,84	5,33	0,10
0	5,60	5,20	5,43	4,99	5,83	5,59	5,26	5,29	5,00	4,81	5,30	0,10
15	7,04	6,26	6,44	6,48	6,27	7,20	5,83	5,52	6,14	5,93	6,31	0,16
30	10,02	7,73	7,97	7,63	7,90	8,89	7,56	7,40	7,73	7,46	8,03	0,26
45	10,31	7,87	7,35	6,36	7,01	8,50	7,34	6,46	7,17	6,83	7,52	0,37
60	8,58	6,81	6,43	5,64	5,37	5,54	6,67	5,84	6,24	5,97	6,31	0,29
90	7,15	5,69	5,77	6,12	6,38	4,68	5,59	5,71	5,74	5,47	5,83	0,20
120	5,98	5,81	5,66	5,57	5,92	5,49	5,05	5,46	6,17	4,75	5,59	0,14
ABCi	278,25	153,86	117,71	139,73	67,87	117,04	114,10	80,21	157,54	131,64	135,80	18,3

FIG. 10

RESULTADOS DE GLUCOSA EN PLASMA (mmol/l)

ALIMENTO: ARROZ + 3 COMPRIMIDOS DE MANANO

TIEMPO (MIN)	SUJETO										MEDIA	SEM
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
-10	5,59	5,22	5,74	5,08	5,86	5,43	5,49	5,42	5,04	4,71	5,36	0,11
0	5,55	5,15	5,70	5,04	6,02	5,33	5,59	5,53	5,14	4,86	5,39	0,11
0	5,57	5,18	5,72	5,06	5,94	5,38	5,54	5,47	5,09	4,78	5,37	0,11
15	7,01	6,72	7,27	6,89	7,54	6,78	7,09	6,84	7,76	6,93	7,08	0,11
30	8,96	7,97	8,11	7,42	9,01	7,40	8,13	8,34	6,36	6,62	7,83	0,28
45	8,31	7,28	7,03	6,06	7,86	7,17	6,76	7,20	4,80	5,52	6,80	0,34
60	7,46	6,43	6,35	5,92	6,82	6,69	5,99	5,54	5,18	5,33	6,17	0,23
90	6,02	6,11	6,21	6,02	6,24	6,10	5,18	5,94	5,64	5,99	5,94	0,10
120	6,48	5,56	6,25	5,81	5,91	5,85	5,29	5,73	5,43	5,13	5,74	0,13
ABCI	183,26	157,43	115,73	137,18	127,76	135,91	87,82	108,90	65,83	124,88	124,47	10,51

FIG. 11

RESULTADOS DE GLUCOSA EN PLASMA (mmol/l)

ALIMENTO: ARROZ + 3 COMPRIMIDOS DE MANANO

TIEMPO (MIN)	SUJETO										MEDIA	SEM
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
-10	5,77	5,05	5,63	5,05	5,78	5,58	5,29	5,19	4,90	4,78	5,30	0,12
0	5,89	5,25	5,38	5,20	5,78	5,34	5,45	5,38	4,73	4,77	5,31	0,12
0	5,83	5,15	5,51	5,12	5,78	5,46	5,37	5,28	4,81	4,78	5,31	0,11
15	8,21	6,96	7,03	6,75	6,72	7,56	6,89	6,35	6,41	6,65	6,95	0,18
30	9,89	7,94	8,38	7,19	7,90	7,12	7,41	8,30	6,53	6,79	7,74	0,31
45	8,70	7,20	8,07	5,42	8,21	6,00	6,67	7,02	5,24	5,11	6,76	0,41
60	7,14	6,45	7,20	5,50	6,50	5,56	6,17	4,74	4,36	4,62	5,82	0,33
90	6,61	5,78	5,94	6,31	6,08	5,45	5,44	5,41	5,19	5,80	5,80	0,14
120	6,52	5,36	5,80	5,87	6,12	5,27	5,24	6,02	5,72	4,83	5,67	0,16
ABCI	203,40	152,03	159,00	115,43	113,03	65,70	92,93	98,13	75,52	91,80	116,70	13,50

FIG. 12

RESULTADOS DE GLUCOSA EN PLASMA (mmol/l)

ALIMENTO: ARROZ + 6 COMPRIMIDOS DE MANANO

TIEMPO (MIN)	SUJETO										MEDIA	SEM
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
-10	5,82	5,36	5,48	5,14	5,84	5,31	5,07	5,35	5,06	4,84	5,32	0,10
0	5,81	5,25	5,65	5,06	5,87	5,27	4,97	5,38	5,23	4,81	5,33	0,11
0	5,82	5,30	5,56	5,10	5,85	5,29	5,02	5,36	5,14	4,83	5,33	0,11
15	8,07	6,11	8,36	6,65	6,91	6,73	5,14	6,35	7,57	6,83	6,87	0,30
30	9,79	7,34	7,68	6,55	8,16	7,88	5,77	8,08	6,50	7,25	7,50	0,35
45	8,83	6,75	7,07	5,17	7,42	6,80	6,10	7,98	5,84	5,80	6,77	0,35
60	7,51	5,75	6,23	5,09	6,15	5,15	5,64	6,37	5,67	5,01	5,85	0,24
90	6,57	5,19	6,67	6,01	5,94	5,33	5,51	4,68	5,45	5,17	5,65	0,20
120	6,97	5,33	5,74	6,07	5,93	4,90	5,36	5,05	5,52	4,82	5,57	0,20
ABCi	216,34	72,61	147,49	87,52	84,68	82,17	62,81	111,41	94,43	95,07	105,45	14,34

FIG. 13

RESULTADOS DE GLUCOSA EN PLASMA (mmol/l)

ALIMENTO: ARROZ + 6 COMPRIMIDOS DE MANANO

TIEMPO (MIN)	SUJETO										MEDIA	SEM
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
-10	6,18	5,14	5,67	4,93	6,01	5,25	5,47	5,28	5,31	4,71	5,39	0,14
0	6,14	5,20	5,68	5,04	5,87	5,39	5,55	5,18	5,30	4,79	5,41	0,13
0	6,16	5,17	5,67	4,98	5,94	5,32	5,51	5,23	5,31	4,75	5,40	0,14
15	9,18	6,55	7,51	7,11	7,24	5,31	7,32	7,31	6,02	6,19	6,97	0,33
30	9,77	7,70	7,99	7,28	7,89	7,37	8,16	7,06	7,47	6,49	7,72	0,28
45	7,71	7,05	7,12	5,90	7,33	7,39	5,74	5,64	7,44	5,45	6,67	0,28
60	7,04	6,09	6,53	5,55	5,88	5,09	4,96	5,12	6,78	5,25	5,83	0,24
90	7,02	4,95	5,63	5,46	5,56	4,43	5,13	5,07	5,70	5,43	5,44	0,21
120	6,88	5,03	5,77	5,66	5,84	4,91	5,60	4,00	5,78	4,67	5,41	0,25
ABCi	179,29	104,80	103,53	117,79	68,59	60,56	69,75	63,71	127,05	89,55	98,46	11,66

FIG. 14

TIEMPO (MIN)	ARROZ (n = 20)	ARROZ + 3 (n = 20)	ARROZ + 6 (n = 20)
0	5,34 ± 0,09	5,34 ± 0,11	5,36 ± 0,12
15	6,31 ± 0,13	7,02 ± 0,09	6,92 ± 0,25
30	8,02 ± 0,21	7,79 ± 0,28	7,61 ± 0,27
45	7,74 ± 0,37	6,78 ± 0,36	6,72 ± 0,27
60	6,74 ± 0,37	5,99 ± 0,27	5,84 ± 0,21
90	5,97 ± 0,21	5,87 ± 0,10	5,54 ± 0,19
120	5,78 ± 0,19	5,71 ± 0,14	5,49 ± 0,22
ABCi	149,74 ± 18,66	120,58 ± 11,06	101,96 ± 12,09

FIG. 15

RESULTADOS DE INSULINA EN PLASMA (pmol/l)

ALIMENTO: ARROZ

TIEMPO (MIN)	SUJETO										MEDIA	SEM
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
-10	48,21	22,92	12,62	35,13	40,78	21,01	18,26	17,70	19,05	12,09	24,78	3,89
0	50,09	37,48	14,38	44,29	54,48	9,88	16,44	12,22	30,86	15,17	28,53	5,39
0	49,15	30,20	13,50	39,71	47,63	15,44	17,35	14,96	24,96	13,63	26,65	4,50
15	91,08	123,16	172,09	205,55	154,71	61,99	71,63	22,60	92,80	146,87	114,25	17,77
30	279,60	277,24	127,87	376,93	267,73	163,23	136,91	130,64	202,06	197,84	216,00	26,03
45	553,19	396,93	89,41	72,63	188,87	154,21	88,38	190,92	158,85	62,52	195,59	50,24
60	607,89	200,99	102,82	59,92	113,23	28,04	58,55	61,36	101,85	53,40	138,81	54,31
90	252,91	179,34	83,66	142,65	47,49	11,09	28,99	49,21	77,20	19,31	89,18	24,92
120	284,13	207,23	67,66	91,36	106,74	10,45	15,57	5,70	113,14	25,17	92,71	29,03
ABCi	33855,17	21573,29	10160,14	12357,70	9384,64	5231,63	4926,00	6451,61	10302,56	6733,14	12097,59	2861,3

FIG. 16

RESULTADOS DE INSULINA EN PLASMA (pmol/l)

ALIMENTO: ARROZ

TIEMPO (MIN)	SUJETO										MEDIA	SEM
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
-10	41,33	22,45	13,99	22,92	46,33	16,25	11,62	11,32	32,14	10,49	22,88	4,10
0	42,87	38,85	15,44	31,38	37,22	19,19	18,58	16,80	27,14	22,56	27,00	3,17
0	42,10	30,65	14,71	27,15	41,77	17,72	15,10	14,06	29,64	16,52	24,94	3,46
15	194,12	192,59	18,86	147,89	173,87	31,89	66,08	63,63	94,52	163,86	114,73	21,30
30	421,06	241,49	227,33	374,45	233,14	97,84	156,67	221,07	135,33	152,21	226,06	32,54
45	407,44	291,67	107,21	172,40	155,85	127,87	75,11	81,02	187,48	68,89	167,49	34,07
60	343,61	372,29	112,99	63,36	62,85	103,21	61,05	34,18	92,82	25,73	127,21	39,50
90	188,77	95,41	70,91	79,54	102,48	33,20	16,62	17,75	48,70	34,36	68,77	16,51
120	98,96	138,18	58,38	44,72	14,37	38,58	22,23	9,68	94,67	23,14	54,29	13,58
ABCi	25481,81	20749,55	9191,21	11849,43	8575,42	5767,04	4974,91	5386,77	7894,80	5872,26	10574,32	2221,0

FIG. 17

RESULTADOS DE INSULINA EN PLASMA (pmol/l)

ALIMENTO: ARROZ + 3 COMPRIMIDOS DE MANANO

TIEMPO (MIN)	SUJETO										MEDIA	SEM
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
-10	33,08	47,05	26,26	27,26	50,39	17,08	26,63	15,73	31,18	16,00	29,07	3,81
0	56,56	46,33	14,12	18,34	52,39	12,62	20,43	10,96	24,19	28,31	28,43	5,41
0	44,82	46,69	20,19	22,80	51,39	14,85	23,53	13,35	27,69	22,16	28,75	4,35
15	170,28	174,73	87,07	134,54	123,95	81,94	71,57	59,02	151,06	143,90	119,81	13,28
30	421,77	486,51	163,08	174,47	399,62	134,79	130,92	132,16	136,86	191,38	237,16	44,35
45	386,69	325,18	94,94	193,30	201,70	60,29	76,56	54,85	68,60	44,32	150,64	38,67
60	234,37	189,95	66,10	154,94	172,46	55,88	40,96	16,27	15,46	28,73	97,51	25,86
90	117,52	200,89	14,97	137,31	48,23	31,67	21,14	68,16	36,52	58,21	73,46	18,98
120	162,61	91,97	20,17	29,75	94,24	25,17	13,09	43,23	12,48	72,03	56,47	15,35
ABCi	20876,49	21223,74	5230,49	13021,42	11842,66	5069,82	3487,55	5248,31	4135,57	6674,74	9681,08	2142,87

FIG. 18

RESULTADOS DE INSULINA EN PLASMA (pmol/l)

ALIMENTO: ARROZ + 3 COMPRIMIDOS DE MANANO

TIEMPO (MIN)	SUJETO										MEDIA	SEM
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
-10	43,29	46,02	20,33	21,39	55,55	10,75	24,19	10,02	26,16	26,04	28,37	4,79
0	67,97	52,67	16,61	26,86	44,98	16,39	29,41	20,93	22,58	23,39	32,18	5,46
0	55,63	49,35	18,47	24,13	50,27	13,57	26,80	15,48	24,37	24,72	30,28	4,90
15	238,97	291,43	38,33	114,99	103,43	68,59	55,35	43,10	117,94	173,92	124,60	27,07
30	487,55	347,18	133,96	169,29	323,07	144,16	120,21	143,41	109,51	132,19	211,05	40,70
45	379,58	364,21	73,46	184,20	284,61	86,69	95,98	95,85	84,48	48,38	169,74	40,04
60	230,34	279,60	76,30	114,39	106,97	42,80	73,88	48,33	5,74	37,24	101,56	27,79
90	174,51	186,10	52,85	91,40	83,43	17,70	16,45	11,78	15,88	59,47	70,96	20,37
120	153,71	102,92	13,98	43,61	52,19	16,04	16,43	27,26	37,25	28,10	49,15	14,27
ABCi	23056,67	22908,64	5128,52	10282,99	10704,44	4699,21	3799,34	4362,77	3592,16	5580,07	9411,48	2396,47

FIG. 19

RESULTADOS DE INSULINA EN PLASMA (pmol/l)

ALIMENTO: ARROZ + 6 COMPRIMIDOS DE MANANO

TIEMPO (MIN)	SUJETO										MEDIA	SEM
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
-10	70,07	25,77	16,80	20,12	66,67	6,38	15,08	12,48	26,10	16,31	27,58	7,05
0	68,86	29,55	24,34	29,31	70,70	9,64	23,59	11,61	29,48	13,36	31,04	6,88
0	69,47	27,66	20,57	24,71	68,68	8,01	19,33	12,05	27,79	14,83	29,31	6,93
15	315,41	172,86	72,56	149,05	173,66	46,68	40,91	31,97	111,60	175,12	128,98	27,62
30	445,39	302,21	204,09	164,95	304,78	101,53	148,27	145,05	117,01	107,53	204,08	35,52
45	300,68	215,57	134,11	130,78	214,77	107,03	64,55	87,85	75,06	73,40	140,38	24,81
60	245,65	156,18	74,92	33,77	119,82	18,97	41,00	56,70	46,70	42,49	83,62	22,40
90	199,10	70,17	24,95	97,25	89,51	18,37	13,84	8,88	54,00	20,53	59,66	18,56
120	210,10	50,65	81,57	45,10	63,29	22,32	16,76	16,45	78,65	33,53	61,84	18,11
ABCI	22758,91	13626,59	7504,40	8245,39	9018,47	4240,17	3357,66	4429,65	5279,60	5746,86	8420,77	1855,83

FIG. 20

RESULTADOS DE INSULINA EN PLASMA (pmol/l)

ALIMENTO: ARROZ + 6 COMPRIMIDOS DE MANANO

TIEMPO (MIN)	SUJETO										MEDIA	SEM
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
-10	45,62	54,89	21,49	14,09	39,73	14,54	8,66	14,00	22,32	25,33	26,07	4,90
0	49,97	69,75	11,18	22,08	41,60	14,96	17,46	11,72	16,25	16,69	27,17	6,27
0	47,80	62,32	16,34	18,08	40,66	14,75	13,06	12,86	19,28	21,01	26,62	5,48
15	208,87	308,41	255,31	259,97	71,77	105,02	54,50	43,81	96,50	21,79	142,59	33,17
30	356,91	456,16	158,86	144,36	296,39	93,63	133,28	63,48	129,37	144,51	197,69	40,38
45	409,16	337,57	78,43	115,13	174,35	71,57	74,34	134,91	88,10	103,63	158,72	37,51
60	276,31	207,56	74,51	76,16	64,44	25,63	48,71	39,40	52,67	81,21	94,66	25,66
90	187,18	75,26	47,38	38,04	28,21	14,81	10,94	3,18	17,09	41,61	46,37	17,02
120	184,92	48,96	51,04	41,57	42,87	3,44	10,16	13,93	28,77	23,13	44,88	16,43
ABCI	23853,11	17284,82	9414,47	9235,84	6725,09	3635,50	4115,74	3546,59	4677,59	5107,88	8759,66	2135,11

FIG. 21

TIEMPO (MIN)	ARROZ (n = 20)	ARROZ + 3 (n = 20)	ARROZ + 6 (n = 20)
0	25,80 ± 3,93	29,51 ± 4,59	27,96 ± 5,63
15	114,49 ± 16,07	122,21 ± 19,70	135,79 ± 24,94
30	221,03 ± 26,97	224,10 ± 41,63	200,89 ± 36,46
45	181,54 ± 41,29	160,19 ± 39,07	149,55 ± 30,33
60	133,01 ± 44,22	99,54 ± 25,98	89,14 ± 23,55
90	78,98 ± 20,00	72,21 ± 18,82	53,01 ± 17,17
120	73,50 ± 20,32	52,81 ± 14,39	53,36 ± 17,12
ABCi	11335,95 ± 2529,91	9546,28 ± 2262,07	8590,22 ± 1982,35

FIG. 22

CHINA DRAGON Inspection & Certification (H.K.) Ltd.
中龍檢驗認證(香港)有限公司 Centro de ensayo C.I.C.
 2/F, Block A, 50 Fuk Hi Street, Yuen Long, N.T., Hong Kong www.cdichk.com
 Tel: (852) 2675 0404 Fax: (852) 2675 9137 E-mail: enquiry@cdichk.com
 中龍檢驗有限公司檢驗中心

檢驗報告 / Informe de ensayo 編號 / No.: N10967 日期 / Fecha: 18.10.2010

2. 重金屬測試 / Análisis de metales pesados

檢測項目 Elementos de ensayo	檢測結果 Resultados de ensayo	指標 Índice	檢測方法 Método de ensayo	小結 Conclusión
錫 / Antimonio	<1 mg/kg*	-----	GB/T 5009.137-2003	-----
砷 / Arsénico	≤1.4 mg/kg*	≤1.4 mg/kg	GB/T 5009.11-2003	Pass / 合格
鎘 / Cadmio	<1 mg/kg*	-----	GB/T 5009.15-2003	-----
鉻 / Cromo	<1 mg/kg*	-----	GB/T 5009.123-2003	-----
鉛 / Plomo	<6 mg/kg*	≤6 mg/kg	GB/T 5009.12-2010	Pass / 合格
汞 / Mercurio	<0.5 mg/kg*	≤0.5 mg/kg	GB/T 5009.17-2003	Pass / 合格
錳 / Estaño	<6 mg/kg*	≤2.0 mg/kg	GB/T 5009.16-2003	Pass / 合格

備註: / Notas:

1. 樣品已回 / Test sample returned.
2. 根據香港法例公眾衛生及市政條例(第 132 章)第 V 部《食物標籤(金屬雜質含量)規例》作檢測標準。
3. * 代表檢測限 / Límite de detección.

HOJA DE SUSTITUCIÓN

 ***** 報告完 / Fin del informe *****

FIG. 23

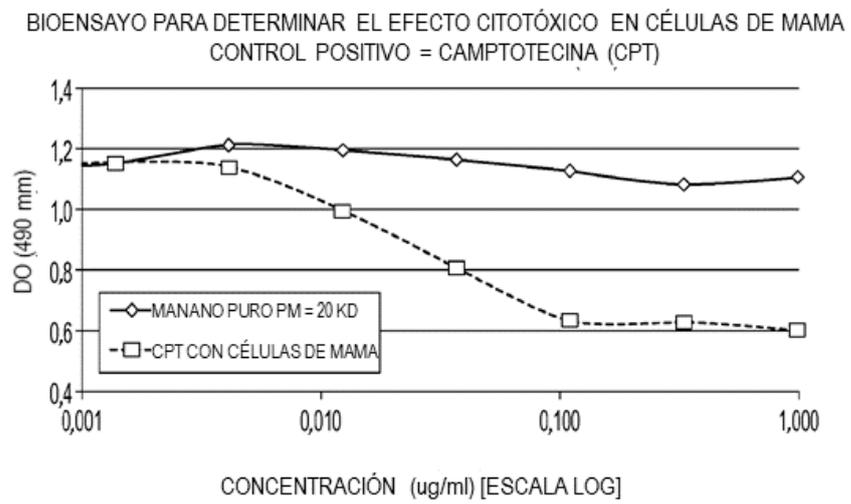


FIG. 24

FORMATO DE ENSAYO: A		ENSAYO CINÉTICO CROMOGENICO		
MUESTRA	DILUCIÓN	UE/ml	FINAL UE/mG	CONTROL POSITIVO RECUPERACIÓN ENR.
MANANO PURIFICADO PM = 100 KD	1:10	<0,5	<0,0083	135%
	1:100	<5,0	<0,083	83%
	1:500	<25,0	<0,416	78%
FORMATO DE ENSAYO: B		ENDOSAFE-PTS (PTD) PATENTADO		
MUESTRA	DILUCIÓN	UE/ml	FINAL UE/mG	CONTROL POSITIVO RECUPERACIÓN ENR.
MANANO PURIFICADO PM = 20 KD	1:10	5.72	0,095	186%

FIG. 25