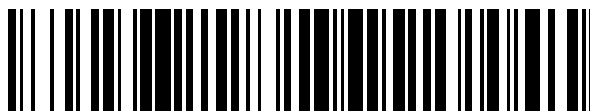


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 767 600**

51 Int. Cl.:

**A23L 33/00** (2006.01)

**A23L 33/175** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.11.2012 PCT/NL2012/050832**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.05.2014 WO14081284**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.11.2012 E 12798433 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.11.2019 EP 2922414**

54 Título: **Fórmulas que comprenden perfiles de aminoácidos optimizados**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**18.06.2020**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**VAN GOUDOEVER, JOHANNES BERNARD;  
VAN DER BEEK, ELINE MARLEEN y  
ABRAHAMSE-BERKEVELD, MARIEKE**

74 Agente/Representante:

**TOMAS GIL, Tesifonte Enrique**

ES 2 767 600 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**

Fórmulas que comprenden perfiles de aminoácidos optimizados

5 Campo

[0001] La presente invención se refiere a fórmulas infantiles y fórmulas de continuación que contienen perfiles de aminoácido optimizado. Las fórmulas pueden contener proteínas intactas, proteínas hidrolizadas, fracciones de proteína, aminoácidos libres y/o una combinación de las mismas seleccionadas en base en su capacidad de proporcionar la fórmula con un perfil de aminoácido optimizado. La presente invención también se refiere a la administración de estas fórmulas a bebés para conseguir un crecimiento y/o desarrollo equilibrados.

Antecedentes

15 [0002] Los aminoácidos son bloques de construcción esenciales de proteínas en el cuerpo humano. Algunos aminoácidos se clasifican como esenciales, lo que significa que el cuerpo humano no puede sintetizar el aminoácido, por lo que debe obtenerse de la dieta. Los aminoácidos esenciales para seres humanos son valina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, fenilalanina, histidina y triptófano. Cisteína y tirosina se consideran condicionalmente aminoácidos esenciales, debido a su conexión fuerte a metionina y fenilalanina respectivamente. Los aminoácidos restantes (alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina y serina) son aminoácidos no esenciales y pueden ser sintetizados o provenir de la dieta.

25 [0003] Las fórmulas para lactantes contienen típicamente un nivel más alto de proteína total en comparación con leche materna. Esto es a pesar de la hipótesis generalmente aceptada que demasiada proteína lleva a diferencias en la cinética metabólica posprandial y en última instancia, diferencias en el crecimiento y desarrollo. Por ejemplo, algunos ejemplos claves son las diferencias en el crecimiento temprano y composición corporal mejorada de bebés lactantes cuando se compara con bebés alimentados de fórmula (Depeso, 1992; Depeso 1998; y borrasca, 2012) y la asociación de altos niveles de proteína en la nutrición temprana con un aumento en la adiposidad infantil (Heinig, 1993; y Koletzko, 2009).

35 [0004] El hecho de que las proteínas usadas en fórmulas para lactantes no combinan típicamente la calidad de proteína (por ejemplo, niveles de aminoácido o perfil) de leche materna también se ha considerado un factor de contribución a estas diferencias (Günter; 2007), aunque no se ha investigado en la misma medida. La WO 2011/119023 A1 divulga fórmulas infantiles de proteína baja con un equilibrio mejorado de la leucina de aminoácidos de cadena ramificada esencial, isoleucina y valina.

Resumen

40 [0005] En el trabajo previo a la presente invención, los presentes inventores investigaron la absorción de aminoácidos y síntesis de proteínas de bebés y descubrieron que una necesidad del bebé de aminoácidos esenciales no necesariamente parece estar en línea con las expectativas existentes, recomendaciones, fuentes de proteína individuales o productos. La presente invención así está basada en el descubrimiento de los inventores de que es la composición de aminoácido de la fuente de proteínas (o calidad) la que necesita una consideración primaria al desarrollar fórmulas para lactantes, mientras el nivel de proteína parece ser necesario, pero en consideración secundaria.

50 [0006] Los inventores usaron luego los resultados de su investigación para desarrollar perfiles de aminoácido optimizados y formulaciones adecuadas para conseguir estos perfiles, incluyendo formulaciones que comprenden proteínas intactas, proteínas hidrolizadas, fracciones de proteína, aminoácidos libres y/o combinaciones de los mismos. Las formulaciones están propuestas para promover el crecimiento y/o desarrollo equilibrados (por ejemplo, cerebro, función cognitiva, cuerpo, composición del cuerpo). También se propone que tales formulaciones se puedan producir con niveles alterados (por ejemplo; bajados) de proteína total pero con perfiles de aminoácido óptimos, reuniendo así las necesidades de bebés y por lo tanto promoviendo el crecimiento equilibrado y/o desarrollo en bebés mientras se previene o reduce el riesgo de obesidad en el bebé con una fase posterior de vida y también para evitar o reducir el riesgo de enfermedades relacionadas con la obesidad y condiciones tales como enfermedades metabólicas (por ejemplo, síndrome metabólico, diabetes) y enfermedad cardiovascular.

60 [0007] Así, según un primer aspecto de la presente invención, por lo tanto proporcionamos una fórmula infantil o de continuación según la reivindicación 1. La fórmula infantil o de continuación comprende una composición proteínica que puede comprender proteínas intactas, proteínas hidrolizadas, fracciones de proteína, aminoácidos libres y/o una combinación de las mismas.

[0008] La composición proteínica comprende 3,2-5,0 g de treonina por 100 g de proteína y la composición proteínica comprende 0,7-1,1 g de triptófano por 100 g de proteína. Opcionalmente, la composición proteínica comprende al menos 0,6 g, 0,7 g, 0,8 g, 0,9 g o 1,0 g de cisteína por 100 g de proteína.

5 [0009] La composición proteínica comprende una proporción de aminoácidos de triptófano a neutrales (isoleucina, leucina, valina, fenilalanina, tirosina y metionina) de 1:33,4 (0,030) a 1:40,8 (0,025). Adecuadamente, la composición proteínica comprende una proporción de aminoácidos de triptófano a neutrales de 1:34,1 (0,029) a 1:40,1 (0,025), aún más adecuadamente, la composición proteínica comprende una proporción de 1:35,1 (0,028) a 1:39,1 (0,026), más adecuadamente la composición proteínica comprende una proporción de 1:36,1 (0,028) a 1:38,1 (0,026). Opcionalmente, la composición proteínica comprende al menos 0,6 g, 0,7 g, 0,8 g, 0,9 g o 1,0 g de cisteína por 100 g de proteína.

15 [0010] La composición proteínica comprende 5,0-7,8 g de isoleucina por 100 g de proteína, 6,6-10,3 g de leucina por 100 g de proteína, 6,2-9,7 g de lisina por 100 g de proteína, 1,8-2,8 g de metionina por 100 g de proteína y 5,2-8,1 g de valina por 100 g de proteína. Opcionalmente, la composición proteínica comprende al menos 0,6 g, 0,7 g, 0,8 g, 0,9 g o 1,0 g de cisteína por 100 g de proteína.

20 [0011] La fórmula puede comprender 45-52 mg de treonina por 100 mL de fórmula y/o la fórmula puede comprender 10-12 mg de triptófano por 100 mL de fórmula. Adecuadamente, la fórmula comprende 45-52 mg de treonina por 100 mL de fórmula y 10-12 mg de triptófano por 100 mL de fórmula.

25 [0012] La fórmula puede proporcionar o se puede formular para proporcionar treonina en una cantidad de 68-78 mg/kg de peso corporal/día y/o la fórmula puede proporcionar o se puede formular para proporcionar, triptófano en una cantidad de 15-17 mg/kg de peso corporal/día. Adecuadamente, la fórmula proporciona o está formulada para proporcionar, treonina en una cantidad de 68-78 mg/kg peso del cuerpo/día y triptófano en una cantidad de 15-17 mg/kg de peso corporal/día.

30 [0013] Adecuadamente, la fórmula de la presente invención está destinada a un bebé nacido a término. Adecuadamente, la fórmula según cualquier aspecto de la presente invención está destinada a un bebé humano. Más adecuadamente, la fórmula según cualquier aspecto de la presente invención está destinada a un bebé humano nacido a término.

[0014] Adecuadamente, la composición o fórmula proteínica no comprende o consiste en leche materna.

35 [0015] La fórmula de la presente invención puede comprender además un oligosacárido no digerible. Adecuadamente, el oligosacárido no digerible puede estar seleccionado del grupo que consiste en galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos ácidos.

40 [0016] La fórmula de la presente invención puede comprender además un ácido graso poliinsaturado (PUFA). Adecuadamente, el PUFA puede estar seleccionado del grupo que consiste en ácido alfa-linolénico (ALA), ácido linoleico (LA), ácido eicosapentanoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), ácido araquidónico (ARA) y ácido docosapentanoico (DPA).

45 [0017] La fórmula de la presente invención puede comprender además un probiótico.

[0018] El probiótico puede comprender una bacteria de producción de ácido láctico. El probiótico puede comprender una especie *Lactobacillus*. El probiótico puede comprender una especie *Bifidobacterium*.

50 [0019] La fórmula de la presente invención puede comprender un polvo adecuado para hacer una composición líquida después de la reconstitución con una solución acuosa, tal como con agua.

[0020] La fórmula de la presente invención puede comprender un alimento líquido listo para usar.

55 [0021] También, se ha descrito una fórmula tal y como se define aquí para usar en promover, ayudar o conseguir el crecimiento o desarrollo equilibrado en un bebé. También está provisto de un método para promover, ayudar o conseguir el crecimiento del cuerpo o desarrollo en un bebé, donde el método comprende la administración al infante de una fórmula tal y como se define aquí.

60 [0022] La fórmula comprende un nivel de ingesta de proteína de 0,9 a 1,2 g de proteína por 100 mL de fórmula infantil, más adecuadamente, 1,0-1,2 g de proteína por 100 mL de fórmula infantil; o la fórmula comprende un nivel de ingesta de proteína de 1,4 a 1,8 g de proteína por 100 kcal de fórmula infantil, más adecuadamente 1,5-1,8 g de proteína por 100 kcal de fórmula infantil.

65 [0023] La composición proteínica de fórmula comprende también 5,0-7,8 g de isoleucina por 100 g de proteína, 6,6-10,3 g de leucina por 100 g de proteína, 6,2-9,7 g de lisina por 100 g de proteína, 1,8-2,8 g de metionina por 100 g de proteína, 3,2-5,0 g de treonina por 100 g de proteína, 0,7-1,1 g de triptófano por 100 g de proteína y

5,2-8,1 g de valina por 100 g de proteína. Más adecuadamente, la composición proteínica de la fórmula comprende 3,2-5,0 g de treonina por 100 g de proteína y/o la composición proteínica de fórmula comprende 0,7-1,1 g de triptófano por 100 g de proteína. En una forma de realización más adecuada, la composición proteínica de la fórmula comprende 3,2-5,0 g de treonina por 100 g de proteína y 0,7-1,1 g de triptófano por 100 g de proteína.

[0024] En algunas formas de realización adecuadas, la fórmula comprende 70-81 mg de isoleucina por 100 mL de fórmula, 93- 107 mg de leucina por 100 mL de fórmula, 87- 100 mg de lisina por 100 mL de fórmula, 25- 29 mg de metionina por 100 mL de fórmula, 45- 52 mg de treonina por 100 mL de fórmula, 10- 12 mg de triptófano por 100 mL de fórmula, y/o 73-84 mg de valina por 100 mL de fórmula. Más adecuadamente, la fórmula comprende 45-52 mg de treonina por 100 mL de fórmula y/o la fórmula comprende 10-12 mg de triptófano por 100 mL de fórmula. En una forma de realización más adecuada, la fórmula comprende 45-52 mg de treonina por 100 mL de fórmula y 10-12 mg de triptófano por 100 mL de fórmula.

[0025] El término "crecimiento o desarrollo" se refiere a crecimiento y desarrollo del crecimiento y desarrollo del cuerpo de un bebé y/o la composición del cuerpo del bebé, también como se expone más abajo.

[0026] Las composiciones proteínicas y fórmulas de los varios aspectos de la invención se exponen con más detalle más abajo.

Breve descripción de las figuras

[0027]

La Figura 1 muestra un ejemplo de un gráfico fijado por el método IAAO para un aminoácido de prueba como se ha descrito en la introducción del ejemplo 1.

La Figura 2 muestra los índices de liberación de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento de 21 bebés ( $\text{F}^{13}\text{CO}_2$ ) en ingestas de lisina diferentes como se ha descrito en el ejemplo 1 y, en particular, el ejemplo 1a. Usando un modelo cruzado de regresión lineal bifásica, el punto de interrupción medio se estimó que sería  $130 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  ( $P < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,46$ ).

La Figura 3 muestra los índices de liberación de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento de 33 bebés ( $\text{F}^{13}\text{CO}_2$ ) en ingestas de metionina diferentes como se ha descrito en el ejemplo 1 y, en particular, el ejemplo 1b. Usando un modelo cruzado de regresión lineal bifásica, el punto de interrupción medio se estimó que sería  $38 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  ( $P < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,59$ ).

La Figura 4 muestra los índices de liberación de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento de 32 bebés ( $\text{F}^{13}\text{CO}_2$ ) en ingestas de treonina diferentes como se ha descrito en el ejemplo 1 y, en particular, el ejemplo 1c. Usando un modelo cruzado de regresión lineal bifásica, el punto de interrupción medio se estimó que sería  $68 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  ( $P < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,362$ ).

La Figura 5 muestra los índices de liberación de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento de 30 bebés ( $\text{F}^{13}\text{CO}_2$ ) en ingestas de triptófano diferentes como se ha descrito en el ejemplo 1 y, en particular, el ejemplo 1d. Usando un modelo cruzado de regresión lineal bifásica, el punto de interrupción medio se estimó que sería  $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  ( $P < 0,05$ ,  $r^2 = 0,13$ ).

La Figura 6 muestra los índices de liberación de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento de 28 bebés ( $\text{F}^{13}\text{CO}_2$ ) en ingestas de valina diferentes como se ha descrito en el ejemplo 1 y, en particular, el ejemplo 1e. Usando un modelo cruzado de regresión lineal bifásica, el punto de interrupción medio se estimó que sería  $110 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  ( $P = 0,001$ ,  $r^2 = 0,35$ ).

La Figura 7 muestra los índices de liberación de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento de 22 bebés ( $\text{F}^{13}\text{CO}_2$ ) en ingestas de isoleucina diferentes como se ha descrito en el ejemplo 1 y en particular el ejemplo 1f. Usando un modelo cruzado de regresión lineal bifásica, el punto de interrupción medio se estimó que sería  $105 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  ( $P < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,61$ ).

La Figura 8 muestra los índices de liberación de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento de 33 bebés ( $\text{F}^{13}\text{CO}_2$ ) en leucina diferente como se ha descrito en el ejemplo 1 y, en particular, el ejemplo 1g. Usando un modelo cruzado de regresión lineal bifásica, el punto de interrupción medio se estimó que sería  $140 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  ( $P = 0,002$ ,  $r^2 = 0,26$ ).

La Figura 9 muestra los resultados del aumento de peso del estudio de lechón descritos en el ejemplo 6, donde los lechones fueron alimentados de una de tres dietas: dieta 1 fue una fórmula infantil de control con niveles normales de proteína y una composición de aminoácido no ajustada para bebés ( $n=26$ ); dieta 2 fue una fórmula de control con un 20% menos de proteína total sin ajuste de aminoácido ( $n= 27$ ); y dieta 3 fue una fórmula con una composición de aminoácido optimizada basada en los resultados descritos en los ejemplos anteriores y con un 20% de proteína total inferior en comparación con el nivel de proteína de la dieta 1 ( $n=26$ ). El índice de crecimiento para los lechones sobre el periodo de estudio del día 17 se muestra en la figura 9, donde se puede ver que las dietas de alimentación de lechones 1 y 3 fueron comparables entre sí, mientras el índice de crecimiento para la dieta 2 de alimentación de los lechones fue menor.

Descripción detallada

Composición proteínica: perfil de aminoácido

[0028] La presente invención se basa en el descubrimiento de los inventores de las necesidades de bebés de aminoácidos esenciales individuales por mediciones reales de niveles de necesidad en bebés alimentados con fórmula y la determinación posterior de aquellos niveles en el contexto del desarrollo del producto (por ejemplo, fórmula infantil o fórmula de continuación), al igual que el desarrollo de perfiles de aminoácido optimizado (es decir, las combinaciones de los niveles requeridos de aminoácidos esenciales individuales) y formulaciones adecuadas para conseguir estos perfiles, incluyendo formulaciones que comprenden proteínas intactas, proteínas hidrolizadas, fracciones de proteína, aminoácidos libres y/o combinaciones de las mismas.

[0029] Curiosamente, cabe señalar que las necesidades de algunos aminoácidos esenciales se desvían de los niveles proporcionados en leche materna o usados en fórmulas para lactantes disponibles comercialmente. Así, los inventores sorprendentemente han descubierto que los niveles de aminoácidos esenciales requeridos para síntesis de proteína (y por lo tanto para crecimiento y desarrollo) en bebés nacidos a término se encuentran en niveles de ingesta de fórmula donde el nivel de ingesta difiere claramente del descubierto en leche materna y en fórmulas disponibles comercialmente para aminoácidos esenciales específicos, donde el perfil combinado de dos o más de aquellos niveles de ingesta difieren claramente de los descubiertos en leche materna y en fórmulas disponibles comercialmente para aminoácidos esenciales específicos y donde las proporciones entre varios aminoácidos difieren claramente de aquellas descubiertas en leche materna y en fórmulas disponibles comercialmente.

[0030] Por ejemplo, los puntos de interrupción individuales para los aminoácidos esenciales que actúan de precursores para neurotransmisores en el cerebro, tales como triptófano y treonina son inferiores a los niveles descubiertos en leche materna y/o fórmulas disponibles comercialmente. Además, la proporción entre triptófano y los aminoácidos neutrales (valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, tirosina y metionina) puede afectar a la biodisponibilidad de triptófano, un precursor para la producción de serotonina en el cerebro y se calculó que era diferente a la descubierta en leche materna y/o fórmulas disponibles comercialmente. Detalles de estos descubrimientos y su relevancia se exponen con más detalle a continuación.

[0031] Además, el uso los niveles nuevos de aminoácidos en composiciones puede permitir composiciones que promuevan el crecimiento y/o desarrollo equilibrados, como además se ha descrito aquí. Esto también puede permitir la disminución eficaz de niveles de proteína en fórmula infantil, también como además se ha descrito aquí.

#### Treonina

[0032] Fórmulas comerciales proporcionan típicamente treonina que varía de 105-125 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> cuando se dan 150 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> (Viadel, 2000). Por el contrario, los presentes inventores establecieron que las necesidades de treonina de bebés era de 68 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> y este se determinó posteriormente que era 45-52 mg/100 mL de (fórmula) y 3,2-5,0 g/100 g de (proteína). Esto sugiere que los niveles de treonina requeridos por bebés son considerablemente (y de forma imprevista) menores que aquellos existentes en fórmulas comerciales.

[0033] La hipertreoninemia se ha asociado a convulsiones y retraso del crecimiento (Reddi; 1978) y otras condiciones indeseables incluyendo amaurosis congénita (Hayasaka, 1986). Fórmulas comerciales a base de leche por lo tanto usan típicamente suero de leche ácido para reducir el riesgo de hipertreoninemia (Rigo, 2001). Sin embargo, ya que las necesidades de treonina determinados en la presente invención parecen ser incluso inferiores a los niveles de fórmulas actuales que se supone que son seguros, todavía puede haber un riesgo de que los bebés reciban a través de fórmulas comerciales existentes más treonina de la que necesitan. Además, se informa de que los bebés alimentados con fórmula tienen una capacidad inferior de oxidar treonina en comparación con bebés lactantes (Darling, 1999). Además, el uso de suero de leche ácido (para reducir niveles de treonina en fórmulas para lactantes) también resultará en los niveles de triptófano más altos, que son considerados, a diferencia de creencias actuales, indeseables (ver a continuación).

[0034] Un contenido dietético excesivo de treonina (es decir, niveles más altos de la leche materna y fórmulas comerciales existentes) se ha mostrado que eleva niveles de treonina y niveles de glicina en varios tejidos, incluyendo el cerebro (Castagné, 1993; and Boehm, 1998). Este aumento de niveles de glicina en el cerebro se cree que afecta al equilibrio neurotransmisor del cerebro, que puede tener consecuencias para el desarrollo cerebral (Boehm, 1998).

[0035] Por consiguiente, la presente invención contempla composiciones proteínicas y fórmulas infantiles que comprenden niveles de treonina que cumplen con las necesidades de un bebé, pero no exceden de forma demostrable estas necesidades. Se cree que tales composiciones proteínicas y fórmulas pueden promover el desarrollo cerebral equilibrado del bebé.

#### Triptófano

[0036] Las fórmulas comerciales proporcionan típicamente triptófano que varía de 24-32 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> cuando se dan 150 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> (Viadel, 2000). Por el contrario, los presentes inventores establecieron que la necesidad de

triptófano de bebés sería  $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  y este fue determinado posteriormente que sería 10-12 mg/100 mL (fórmula) y 0,7-1,1 g / 100 g de (proteína). Esto sugiere que los niveles de triptófano requeridos por bebés son considerablemente (y de forma imprevista) inferiores que aquellos en fórmulas comerciales existentes.

5 [0037] Este hallazgo es también a diferencia de la bibliografía que generalmente enseña que fórmulas para lactantes con niveles aumentados de triptófano son beneficiosas para bebés (Trabulsi, 2011; and Sandström, 2008). De hecho, se creía que niveles aumentados de triptófano se conseguían al usar suero de leche ácido en fórmulas para lactantes. La alfa-lactalbúmina de proteína de suero de leche se conocen por contener alto niveles de triptófano. Por consiguiente, en formas de realización adecuadas de la presente invención la composición o  
10 fórmula infantil proteinácea no comprende solo (por ejemplo, consisten en) suero de leche ácido. Más adecuadamente, la composición o fórmula infantil proteinácea no comprende suero de leche ácido. En algunas formas de realización de la presente invención la composición o fórmula infantil proteinácea no comprende solo (por ejemplo, consiste en) alfa-lactalbúmina. Más adecuadamente, la composición o fórmula infantil proteinácea no comprende alfa-lactalbúmina.

15 [0038] Triptófano se requiere para la formación de serotonina. Serotonina, al ser un neurotransmisor, juega un papel importante en el cerebro y ayuda a transmitir mensajes de una parte del cerebro a otra. Células más cerebrales están directa o indirectamente asociadas a serotonina, incluyendo células relativas a humor, apetito, sueño, memoria, aprendizaje y algunos comportamientos sociales. La ingesta de triptófano dietético se ha demostrado que modula el patrón de sueño en bebés.

[0039] Considerando el papel de triptófano en la vía de serotonina, los presentes descubrimientos de los inventores relativos a niveles de triptófano pueden indicar que el cuerpo de un bebé no requiere niveles significativos de triptófano para el crecimiento y por lo tanto cualquier exceso puede llevar a niveles más altos de serotonina en el cerebro. Altos niveles de serotonina son indeseables ya que esto puede afectar perjudicialmente al desarrollo de córtex (Riccio; 2011) aumentando así el riesgo de enfermedad psiquiátrica en la vida posterior. Altos niveles de serotonina se han asociado a un riesgo de trastornos afectivos, depresión y esquizofrenia. La ingesta dietética alta de triptófano a largo plazo también ha sido asociada a la sensibilidad a la insulina en estudios de animales (Koopmans, 2009).

30 Proporción de triptófano a aminoácidos neutrales

[0040] Se ha afirmado que la proporción alterada de triptófano a aminoácidos neutrales (valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, tirosina y metionina) en fórmulas infantiles puede tener posibles implicaciones en el desarrollo cerebral, porque los aminoácidos neutrales compiten con la absorción de triptófano a través de la barrera hematoencefálica, referida también como competición de transportador (Dörner, 1983; and Heine, 1999) y también puede haber efectos en obesidad dado el papel de triptófano y sus metabolitos en apetito y regulación de ingesta alimenticia (Dörner, 1983). Esto forma la razón fundamental de muchas publicaciones y fórmulas infantiles que se focalizan en disminuir los niveles de proteína (para evitar la carga metabólica innecesaria), proporcionando la cantidad adecuada de triptófano al bebé, conseguida principalmente mediante enriquecimiento de fracciones de suero de leche tal como alfa-lactalbúmina (Heine, 1996; and Lien, 2003).

[0041] La respuesta de insulina a una comida que contiene carbohidratos en adultos inducirá una transferencia de aminoácidos neutrales grandes en el tejido muscular, que como resultado produce un triptófano de plasma relativamente alto: proporción de aminoácido neutral grande, aumentando la transferencia de triptófano en el cerebro (Lien, 2003). Sin embargo, los infantes tienen un nivel más alto de glucagón y epinefrina, que limita el flujo inducido por la insulina de aminoácidos neutrales grandes en el tejido muscular. Combinado con masa muscular inferior y una ingesta de proteína relativamente alta por kilogramo de peso corporal, se ha afirmado que los bebés dependen en gran medida del equilibrio dietético de triptófano: aminoácidos neutrales grandes para mantener la absorción de triptófano del cerebro adecuada (Lien, 2003).

[0042] La proporción de triptófano a aminoácidos neutrales está en el promedio 1:18,2 (0,055) para leche humana (WHO/FAO/UNU; 2007), que es el valor de referencia para productos más comerciales actualmente en el mercado. Las conclusiones en la presente invención derivan claramente de esta hipótesis. En la presente invención, la proporción de triptófano a aminoácidos neutrales resultó ser muy inferior que varía de 1:33,4 (0,030) a 1:40,8 (0,025), dependiendo de niveles de tirosina. Por consiguiente, parece que si una fórmula infantil fuera a ser desarrollada para reunir las proporciones más altas basadas en las publicaciones anteriores y el valor para leche humana, puede haber un riesgo de que la fórmula contenga demasiado triptófano.

[0043] Mientras la proporción descubierta en la presente invención puede parecer contraria a las enseñanzas de la técnica, se cree que es válido y en particular se observa que el punto de interrupción de triptófano obtenido en los presentes experimentos emplearon un exceso de todos los otros aminoácidos (incluyendo aminoácidos neutrales), así los resultados del punto de interrupción fueron obtenidos en un estado de competición de transportador.

65

[0044] Además, la presente invención se basa en mediciones reales de necesidades de los bebés. Esto significa que los aminoácidos neutrales grandes captados por el cuerpo serán transferidos y casi todos incorporados en el tejido muscular y que no habrá un exceso de aquellos aminoácidos. Sin pretender estar sujeto a la teoría, es hipotético que esto resulte en un triptófano beneficioso: proporción de aminoácido neutral grande en el plasma, que permite una disminución de la cantidad de triptófano (como en comparación con leche humana y fórmulas disponibles comercialmente).

[0045] Por consiguiente, se cree que puede ser beneficioso considerar el nivel de triptófano en fórmulas en el contexto de niveles equilibrados óptimos de aminoácidos neutrales. También parece que los resultados de triptófano de la presente invención pueden respaldar una disminución de los niveles de los aminoácidos neutrales, que se refleja en el perfil de aminoácidos determinado en el presente documento cuando se compara con los perfiles descubiertos en la leche materna humana o en fórmulas disponibles comercialmente.

#### Composiciones y fórmulas proteínicas para lactantes

[0046] Así, la presente invención proporciona una fórmula infantil o de continuación que comprende una composición proteínica según la reivindicación 1. La composición proteínica puede comprender proteínas intactas, proteínas hidrolizadas, fracciones de proteína, aminoácidos libres y/o una combinación de las mismas.

[0047] La composición proteínica comprende los siguientes aminoácidos para cada 100 gramos de proteína en la composición proteínica:

- treonina en una cantidad de 3,2-5,0 g, adecuadamente en una cantidad de 3,2-4,5 g, más adecuadamente en una cantidad de 3,5-4,0 g; y
- triptófano en una cantidad de 0,7-1,1 g, adecuadamente en una cantidad de 0,7-1,0 g, más adecuadamente en una cantidad de 0,8-0,9 g.

[0048] Opcionalmente, la composición proteínica comprende al menos 0,6 g, 0,7 g, 0,8 g, 0,9 g o 1,0 g de cisteína por 100 g de proteína.

[0049] Adecuadamente, la composición proteínica comprende treonina en una cantidad de 3,2-4,5 g/100 g de proteína, más adecuadamente en una cantidad de 3,5-4,0 g/100 g de proteína.

[0050] Adecuadamente, la composición proteínica comprende triptófano en una cantidad de 0,7-1,0 g/100 g de proteína, más adecuadamente en una cantidad de 0,8-0,9 g/100 g de proteína.

[0051] En algunas formas de realización ejemplares, la composición proteínica comprende 3,2-4,5 g de treonina por 100 g de proteína, más adecuadamente 3,5-4,0 g de treonina por 100 g de proteína y la composición proteínica comprende además 0,7-1,1 g de triptófano por 100 g de proteína, adecuadamente 0,7-1,0 g por 100 g de proteína, más adecuadamente 0,8-0,9 g por 100 g de proteína.

[0052] La composición proteínica comprende una proporción de triptófano a aminoácidos neutrales (isoleucina, leucina, valina, fenilalanina, tirosina y metionina) de 1:33,4 (0,030) a 1:40,8 (0,025). Adecuadamente, la composición proteínica comprende una proporción de triptófano a aminoácidos neutrales de 1:34,1 (0,029) a 1:40,1 (0,025), aún más adecuadamente, la composición proteínica comprende una proporción de 1:35,1 (0,028) a 1:39,1 (0,026), más adecuadamente la composición proteínica comprende una proporción de 1:36,1 (0,028) a 1:38,1 (0,026). Opcionalmente, la composición proteínica comprende al menos 0,6 g, 0,7 g, 0,8 g, 0,9 g o 1,0 g de cisteína por 100 g de proteína.

[0053] La composición proteínica comprende todos los siguientes aminoácidos por cada 100 gramos de proteína:

- isoleucina en una cantidad de 5,0-7,8 g, adecuadamente en una cantidad de 5,0-7,0 g, más adecuadamente en una cantidad de 5,5-6,3 g;
- leucina en una cantidad de 6,6-10,3 g, adecuadamente en una cantidad de 6,6-9,3 g, más adecuadamente en una cantidad de 7,3-8,4 g;
- lisina en una cantidad de 6,2-9,7 g, adecuadamente en una cantidad de 6,2-8,7 g, más adecuadamente en una cantidad de 6,8-7,8 g;
- metionina en una cantidad de 1,8-2,8 g, adecuadamente en una cantidad de 1,8-2,5 g, más adecuadamente en una cantidad de 2,0-2,3 g; y/o
- valina en una cantidad de 5,2-8,1 g, adecuadamente en una cantidad de 5,2-7,3 g, más adecuadamente en una cantidad de 5,7-6,6 g.

[0054] Opcionalmente, la composición proteínica comprende al menos 0,6 g, 0,7 g, 0,8 g, 0,9 g o 1,0 g de cisteína por 100 g de proteína.

[0055] Según la presente invención, la fórmula comprende una composición proteínica tal y como se define aquí arriba.

[0056] La fórmula puede comprender uno o varios de los siguientes aminoácidos para cada 100 mL de fórmula:

- treonina en una cantidad de 45-52 mg, adecuadamente en una cantidad de 45-50 mg, más adecuadamente en una cantidad de 45-47 mg; y/o
- triptófano en una cantidad de 10-12 mg, adecuadamente en una cantidad de 10-11 mg, más adecuadamente en una cantidad de 10 mg.

[0057] Adecuadamente, la fórmula comprende treonina en una cantidad de 45-52 mg/100 mL de fórmula, más adecuadamente en una cantidad de 45-50 mg/100 mL de fórmula, más adecuadamente en una cantidad de 45-47 mg / 100 mL de fórmula.

[0058] Adecuadamente, la fórmula comprende triptófano en una cantidad de 10-12 mg/100 mL de fórmula, más adecuadamente en una cantidad de 10-11 mg/100 mL de fórmula, más adecuadamente en una cantidad de 10 mg/100 mL de fórmula.

[0059] En algunas formas de realización ejemplares, la fórmula comprende 45-52 mg de treonina por 100 mL de fórmula, adecuadamente 45-50 mg de treonina por 100 mL de fórmula, más adecuadamente 45-47 mg de treonina por 100 mL de fórmula y la fórmula comprende además 10-12 mg de triptófano por 100 mL de fórmula, adecuadamente 10-11 mg por 100 mL de fórmula, más adecuadamente 10 mg por 100 mL de fórmula.

[0060] En algunas formas de realización adecuadas (b), la fórmula comprende uno o más, adecuadamente al menos dos, más adecuadamente al menos tres, aún más adecuadamente al menos cuatro, más adecuadamente todos los siguientes aminoácidos por cada 100 mililitros de fórmula:

- isoleucina en una cantidad de 70-81 mg, adecuadamente en una cantidad de 70-77 mg, más adecuadamente en una cantidad de 70-74 mg;
- leucina en una cantidad de 93-107 mg, adecuadamente en una cantidad de 93-102 mg, más adecuadamente en una cantidad de 93-98 mg;
- lisina en una cantidad de 87-100 mg, adecuadamente en una cantidad de 87-96 mg, más adecuadamente en una cantidad de 87-91 mg;
- metionina en una cantidad de 25-29 mg, adecuadamente en una cantidad de 25-28 mg, más adecuadamente en una cantidad de 25-26 mg; y/o
- valina en una cantidad de 73-84 mg, adecuadamente en una cantidad de 73-80 mg, más adecuadamente en una cantidad de 73-77 mg.

[0061] En una forma de realización ejemplar, la fórmula cumple con ambos (a) y (b).

[0062] La fórmula puede proporcionar o está formulada para proporcionar uno o varios de los siguientes aminoácidos por cada kilogramo de peso corporal del infante cada día:

- treonina en una cantidad de 68-78 mg, adecuadamente en una cantidad de 68-75 mg; y/o
- triptófano en una cantidad de 15-17 mg, adecuadamente en una cantidad de 15-16 mg.

[0063] Adecuadamente, la fórmula proporciona o está formulada para proporcionar treonina por cada kilogramo de peso corporal del infante cada día en una cantidad de 68-78 mg, más adecuadamente en una cantidad de 68-75 mg.

[0064] Adecuadamente, la fórmula proporciona o está formulada para proporcionar triptófano por cada kilogramo de peso corporal del infante cada día en una cantidad de 15-17 mg, más adecuadamente en una cantidad de 15-16 mg.

[0065] En algunas formas de realización ejemplares, la fórmula proporciona o está formulada para proporcionar treonina por cada kilogramo de peso corporal del infante cada día en una cantidad de 68-78 mg, adecuadamente en una cantidad de 68-75 mg y la fórmula proporciona o está formulada para proporcionar triptófano por cada kilogramo de peso corporal del infante cada día en una cantidad de 15-17 mg, adecuadamente en una cantidad de 15-16 mg.

[0066] En algunas formas de realización adecuadas, la fórmula proporciona o está formulada para proporcionar adicionalmente uno o más, adecuadamente al menos dos, más adecuadamente al menos tres, aún más adecuadamente al menos cuatro, más adecuadamente todos los siguientes aminoácidos para cada kilogramo de peso corporal del infante cada día:

- isoleucina en una cantidad de 105-121 mg, adecuadamente en una cantidad de 105-116 mg;
- leucina en una cantidad de 140-161 mg, adecuadamente en una cantidad de 140-154 mg;
- lisina en una cantidad de 130-150 mg, adecuadamente en una cantidad de 130-143 mg;
- metionina en una cantidad de 38-44 mg, adecuadamente en una cantidad de 38-42 mg; y/o
- valina en una cantidad de 110-127 mg, adecuadamente en una cantidad de 110-121 mg.



[0067] Adecuadamente, la fórmula según cualquier aspecto de la presente invención está destinada a un bebé nacido a término. Adecuadamente, la fórmula según cualquier aspecto de la presente invención está destinada a un bebé humano. Más adecuadamente, la fórmula según cualquier aspecto de la presente invención está destinada a un bebé humano nacido a término.

5

[0068] Adecuadamente, la composición proteínica o fórmula según cualquier aspecto de la presente invención no comprende o consiste en leche materna.

[0069] Composiciones proteínicas adecuadas y fórmulas se describen además aquí.

10

Composición proteínica: fuentes

[0070] Las composiciones proteínicas de la presente invención pueden comprender una proteína intacta, una proteína hidrolizada, una fracción de proteína, un aminoácido libre y/o una combinación de los mismos, de manera que la composición proteínica comprende el perfil de aminoácido según cualquier aspecto de la presente invención.

15

[0071] El término "una proteína intacta" como se utiliza en este caso se refiere a cualquier forma de proteína intacta, que incluye pero no está limitada a un concentrado de proteína y/o un aislado de proteína, al igual que otras formas de proteínas intactas.

20

[0072] El término "proteína hidrolizada" como se utiliza en este caso se refiere a proteínas hidrolizadas parcialmente y/o extensivamente. Adecuadamente la composición proteínica de la presente invención comprende una proteína hidrolizada con un grado de hidrólisis de entre 5% e 25%, más adecuadamente entre 7.5% y 21%, más adecuadamente entre 10% y 20%. El grado de hidrólisis se define como el porcentaje de enlaces peptídicos que se han roto por hidrólisis enzimática, con un 100% estando presentes los enlaces de péptido potenciales totales. Un método adecuado para preparar un hidrolizado de proteínas está descrito en la WO 2001/041581, todo el contenido de la cual se incorpora aquí por referencia. El uso de estas proteínas puede reducir las reacciones alérgicas de un bebé.

25

30

[0073] La composición proteínica puede comprender cualquier proteína intacta adecuada, proteína hidrolizada, fracción de proteína, aminoácido libre y/o una combinación de las mismas, que es seleccionada de manera que se reúnen los requisitos para el perfil de aminoácido de la composición proteínica tal y como se define en este documento. Por ejemplo, como se ha expuesto en otra parte, los presentes inventores han demostrado la conveniencia de reducción de los niveles de triptófano y treonina con respecto a aquellos descubiertos en leche materna y/o fórmulas disponibles comercialmente, y/o para proporcionar una proporción entre triptófano y los aminoácidos neutrales que sea diferente a la descubierta en leche materna y/o fórmulas disponibles comercialmente. Otras consideraciones conocidas por los expertos en la técnica deberían tenerse en cuenta al seleccionar una composición proteínica adecuada. Por ejemplo, algunas fuentes de proteína muestran un nivel alto de variación entre lotes de la proteína, que puede ser debido al contexto genético de la fuente de la proteína y variación también estacional. Además, una composición proteínica producida por fermentación con algunos microorganismos puede no ser adecuada si los microorganismos fermentadores todavía están presentes en la composición y se cree que son indeseables para el fin de la composición. Tales consideraciones de selección serán bien conocidas para los expertos en la técnica.

35

40

45

[0074] En algunas formas de realización, la composición proteínica comprende una proteína intacta y un aminoácido libre. En algunas formas de realización, la composición proteínica comprende una proteína hidrolizada y/o una fracción de proteína, y un aminoácido libre. En algunas formas de realización, la composición proteínica comprende aminoácidos libres. En algunas formas de realización, la composición proteínica consiste esencialmente en o consiste en aminoácidos libres.

50

[0075] La composición proteínica puede comprender una proteína de animal no humano (tal como proteínas de leche, incluyendo caseínas y proteínas de suero de leche, proteínas de carne y proteínas de huevos), una proteína no animal, una proteína de productos lácteos, una proteína de productos lácteos que no sea de vaca, una proteína no láctea, una proteína vegetal, una proteína de algas, un hidrolizado según cualquiera de estas proteínas, una fracción según cualquiera de estas proteínas, un aminoácido libre y/o una combinación según cualquiera de estas fuentes de aminoácido.

55

[0076] En algunas formas de realización, la composición proteínica comprende una proteína animal y una proteína no-animal, y opcionalmente un aminoácido libre. La proteína animal y/o la proteína no-animal puede comprender una proteína intacta, un hidrolizado de proteínas o una fracción de proteína. Adecuadamente, la composición proteínica comprende una proteína de productos lácteos y una proteína no-animal, y opcionalmente un aminoácido libre. La composición proteínica puede comprender una proteína de productos lácteos y una proteína vegetal, y opcionalmente un aminoácido libre. La proteína de productos lácteos y/o la proteína vegetal puede comprender una proteína intacta, un hidrolizado de proteínas o una fracción de proteína. La composición proteínica puede comprender una proteína de productos lácteos y una proteína de algas, y

65

opcionalmente un aminoácido libre. La proteína de productos lácteos y/o la proteína de algas puede comprender una proteína intacta, un hidrolizado de proteínas o una fracción de proteína. La composición proteínica puede comprender una proteína de productos lácteos que no sea de vaca y una proteína vegetal, y opcionalmente un aminoácido libre. La proteína de productos lácteos que no sea de vaca y/o la proteína vegetal puede comprender una proteína intacta, un hidrolizado de proteínas o una fracción de proteína. La composición proteínica puede comprender una proteína de productos lácteos que no sea de vaca y una proteína de algas, y opcionalmente un aminoácido libre. La proteína de productos lácteos que no sea de vaca y/o la proteína de algas puede comprender una proteína intacta, un hidrolizado de proteínas o una fracción de proteína.

[0077] En algunas formas de realización, la composición proteínica no comprende una proteína derivada de leche animal (por ejemplo; láctea). Más adecuadamente, la composición proteínica no comprende una proteína derivada de vaca (por ejemplo, proteína de leche de vaca) y/o no comprende una proteína derivada de cabra (por ejemplo, proteína de leche de cabra). En algunas formas de realización, la composición proteínica no comprende solo (por ejemplo, consiste en) suero de leche ácido. Más adecuadamente, la composición proteínica no comprende suero de leche ácido. En algunas formas de realización, la composición proteínica no comprende solo (por ejemplo, consiste en) alfa-lactalbúmina. Más adecuadamente, la composición proteínica no comprende alfa-lactalbúmina.

[0078] En algunas formas de realización, la composición proteínica no comprende una proteína de soja.

[0079] Adecuadamente, la composición proteínica comprende al menos un 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 95% (o cualquier número entero intermedio) de fuentes de aminoácido que incluyen una proteína intacta, una proteína hidrolizada, una fracción de proteína, de manera que la composición proteínica comprende menos de 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% o 60% (o cualquier número entero intermedio) de un aminoácido libre. Más adecuadamente, la composición proteínica comprende al menos un 60% de fuentes de aminoácido que incluyen una proteína intacta, una proteína hidrolizada, una fracción de proteína, de manera que la composición proteínica comprende un 40% o menos de un aminoácido libre.

[0080] Se hace referencia en todo este documento (tanto especificaciones como reivindicaciones) a unidades de peso (miligramos o gramos) de aminoácidos. Donde se ha expresado por unidad en peso de proteína (por ejemplo, por 100 g de proteína), debe observarse que esta expresión se refiere al peso relativo de aminoácido(s) en cuanto al peso de proteína, donde el peso de proteína significa el peso de toda materia proteínica.

[0081] Además, donde se hace referencia en todo este documento (tanto especificaciones como reivindicaciones) a unidades de peso (miligramos o gramos) de aminoácidos, debe observarse que estas unidades son pesos equivalentes de proteína de aminoácidos (es decir, el peso de aminoácidos si están presentes en una proteína). Así, donde un aminoácido libre se emplea en la presente invención, se deben tener en cuenta las reacciones de síntesis de deshidratación que ocurran cuando una proteína se forma de aminoácidos libres. Por consiguiente, si un aminoácido libre se emplea en la presente invención, el peso del aminoácido libre que se requiera es un 17% superior al peso equivalente de proteína (como se expresa aquí). Para ilustrar, si una composición proteínica de la presente invención como se refiere en este caso requiere 15 mg de triptófano, esto se refiere a 15 mg de triptófano en caso de existir en una proteína y se descubrirá con 17.55 mg de triptófano en la forma de aminoácido libre. Tales cálculos y conversiones son conocidos por los expertos en la técnica.

[0082] Fuentes de aminoácido adecuadas para la composición proteínica incluyen, pero de forma no limitativa, proteína de la leche de la vaca, suero de leche (incluyendo suero de leche ácido, suero de leche dulce y suero de leche enriquecido con alfa-lactalbúmina), alfa-lactalbúmina, beta-lactoglobulina, glicomacropéptido, caseína (incluyendo beta-caseína), leche desnatada, lactoferrina, colostro, proteína de leche de cabra, pescado (incluyendo hidrolizado de bacalao y Krill Neptuno), proteína de pollo, proteína de cerdo, proteína de soja (incluyendo aislado de proteínas de soja), proteína de guisante (incluyendo aislado de proteína de guisante), proteína de trigo, proteína de arroz, salvado de arroz, proteína de patata (incluyendo aislado de proteína de patata), altramuces (incluyendo proteína de altramuces de semillas maduras y concentrado de altramuces dulces), algodón (incluyendo hidrolizado de semilla de algodón), canola, sésamo, maíz, avena, alubias (incluyendo fréjol), ferredoxina (derivada de varias fuentes de planta), fuentes de planta verde (incluyendo RuBisCO), fracciones de cualquiera de estas proteínas, hidrolizados de cualquiera de estas proteínas y aminoácidos libres (incluyendo aminoácidos aislados a partir de una fuente de aminoácidos y/o aminoácidos que han sido producidos químicamente o sintéticamente).

[0083] Las fuentes de aminoácidos pueden ser fuentes comercialmente disponibles (por ejemplo, Soja ProtYield).

[0084] El perfil de aminoácido de las composiciones proteínicas de la presente invención, como se describe en este caso, se refiere a uno o más aminoácidos esenciales (o aminoácidos condicionalmente esenciales en algunos casos). Será reconocido para aquellos expertos en la técnica que la composición proteínica también comprenderá aminoácidos no esenciales. Adecuadamente, la composición proteínica o fórmula de la presente invención comprende una proporción de aminoácidos esenciales: aminoácidos no esenciales de 40-60:40-60,

adecuadamente 45-55:45-55, aún más adecuadamente 48-52:48-52. Esto está en línea con la proporción típica de aminoácidos esenciales en leche materna humana y fórmulas disponibles comercialmente, así se aprecia que en estas formas de realización adecuadas y, en particular, donde la disminución de aminoácidos esenciales específicos (por ejemplo, treonina y triptófano) se ha mostrado que es deseable, la presente invención no contempla una disminución de los aminoácidos esenciales relativamente a los aminoácidos no esenciales.

#### Fórmula

[0085] La fórmula de la presente invención puede comprender una fórmula infantil o una fórmula de continuación. Una fórmula infantil está destinada típicamente a bebés de una edad de 0 a 6 meses, aunque puede también ser usada para describir una fórmula infantil destinada a bebés de edad de 0 a 12 meses. Una fórmula de continuación se destina típicamente a bebés de 6 a 12 meses de edad. Por consiguiente, el término "fórmula" y "fórmula infantil" como se utiliza en este caso se refiere a una fórmula destinada a un infante de 0 a 12 meses, más adecuadamente de 0 a 6 meses. Adecuadamente, el bebé es un bebé humano. Adecuadamente, la fórmula no comprende o consiste en leche materna humana.

[0086] La fórmula de la presente invención puede comprender una composición enteral, es decir, cualquier composición que sea enteralmente administrada, tal como por vía oral. Como se usa en este documento, el término "enteral" está destinado a referirse al suministro directamente en el tracto gastrointestinal de un sujeto (por ejemplo, por vía oral o por medio de un tubo, catéter o estoma).

[0087] La fórmula se puede formular para la administración en una forma líquida. En algunas formas de realización, la fórmula puede comprender un polvo adecuado para hacer una composición líquida después de la reconstitución con una solución acuosa, tal como con agua. La fórmula se puede preparar como una composición en polvo envasada donde el paquete proporciona instrucciones para mezclar el polvo con una cantidad adecuada de solución acuosa, así dando como resultado una composición líquida. En algunas otras formas de realización, la fórmula puede comprender un alimento líquido listo para usar (por ejemplo, está en una forma líquida lista para tomar). Un alimento de líquido listo para usar envasado puede implicar menores pasos para la preparación que un polvo en ser reconstituido y, por lo tanto, puede implicar una oportunidad reducida en contaminación por microorganismos nocivos.

[0088] La fórmula puede estar destinada como una nutrición completa para bebés. Adecuadamente, el bebé es un bebé humano. Adecuadamente, la fórmula según cualquier aspecto de la presente invención está destinada a un bebé a término. Más adecuadamente, la fórmula según cualquier aspecto de la presente invención está destinada a un bebé a término humano. Un "un bebé humano a término" es un bebé humano nacido con 37-42 semanas de gestación.

[0089] La fórmula puede comprender además un lípido, un carbohidrato, una vitamina y/o un mineral. En algunas formas de realización, la fórmula puede comprender entre 5 y 50 en % de lípidos, entre 5 y 50 en % de proteínas, entre 15 y 90 en % de carbohidratos. Adecuadamente, la fórmula puede comprender entre 35 y 50 % en de lípidos, entre 7,5 y 12,5 % en de proteínas y entre 35 y 80 % en energía de carbohidratos (% en es la forma abreviada de porcentaje en energía y representa la cantidad relativa que cada constituyente contribuye al valor calórico total de la preparación).

[0090] La fórmula comprende un nivel bajo en proteína, donde un "nivel bajo" se refiere a un nivel de ingesta de proteína de 0,9 a 1,2 g de proteína por 100 mL de fórmula infantil. Un nivel de ingesta de proteína de 0,9 a 1,4 g de proteína por 100 mL de fórmula infantil está correlacionado con 1,4 a 2,1 g de proteína por 100 kcal de fórmula infantil, basado en un nivel de energía de 66 kcal por 100 mL. La fórmula puede por lo tanto comprender 0,9 a 1,2 g de proteína por 100 mL de fórmula infantil, adecuadamente 1,0-1,2 g de proteína por 100 mL de fórmula infantil. La fórmula puede comprender 1,4 a 1,8 g de proteína por 100 kcal de fórmula infantil, adecuadamente 1,5-1,8 g de proteína por 100 kcal de fórmula infantil.

[0091] La fórmula puede comprender además un oligosacárido no digerible. Adecuadamente, el oligosacárido no digerible se puede seleccionar del grupo que consiste en galacto-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y oligosacáridos ácidos. Tales oligosacáridos son conocidos para los expertos en la técnica.

[0092] La fórmula puede comprender además un ácido graso poliinsaturado (PUFA). Adecuadamente, el PUFA se puede seleccionar del grupo que consiste en ácido alfa-linolénico (ALA), ácido linoleico (LA), ácido eicosapentanoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), ácido araquidónico (ARA) y ácido docosapentanoico (DPA). Adecuadamente, el PUFA puede ser un ácido graso poliinsaturado de cadena larga (LCPUFA) (por ejemplo, EPA, DHA, ARA, DPA). Tales PUFA son conocidos por los expertos en la técnica.

[0093] La fórmula puede comprender además un probiótico. Probióticos adecuados son conocidos para los expertos en la técnica. El probiótico puede comprender una bacteria de producción de ácido láctico. El probiótico puede comprender una especie de *Lactobacillus*. El probiótico puede comprender una cepa de *Lactobacillus rhamnosus* (con *L. rhamnosus* GG, referido también como "LGG"), una cepa *Lactobacillus salivarius*, una cepa

*Lactobacillus casei*, una cepa de *Lactobacillus paracasei* (incluida *L. Paracasei* F19), una cepa de *Lactobacillus acidophilus*, una cepa *Lactobacillus reuteri* y/o una cepa *Lactobacillus helveticus*. El probiótico puede comprender una especie de *Bifidobacterium*. El probiótico puede comprender una cepa *Bifidobacterium longum*, una cepa *Bifidobacterium infantis*, una cepa de *Bifidobacterium breve* (incluyendo *B. Breve* M-16V y *B. Breve* BbC50), una cepa de *Bifidobacterium animalis* (incluyendo *B. Animalis* subesp. *lactis*, incluyendo subesp. *lactis* BB-12 y subesp. *lactis* Bi-07) y/o una cepa de *Bifidobacterium bifidum*. En algunas formas de realización, el probiótico puede ser viable o no viable. Como se utiliza en este caso, el término "viable", se refiere a microorganismos vivos. El término "no viable" o "probiótico no viable" significa microorganismos probióticos no vivos, sus componentes celulares y metabolitos de los mismos. Tales probióticos no viables se pueden haber muerto por calor o de otro modo ser inactivados pero retienen la capacidad de influir favorablemente a la salud de la huésped. Los probióticos pueden ser naturales, sintéticos o desarrollados a través de la manipulación genética de organismos, si tal nueva fuente es ahora conocida o se desarrolla posteriormente. Adecuadamente, la fórmula no comprende *Saccharomyces cerevisiae*.

[0094] La fórmula puede comprender un fermentado o una composición no fermentada. La fermentación por resultados de microorganismos en una disminución del pH. Como una composición no fermentada, la fórmula puede tener un pH por encima de 5,5, tal como 6,0, tal como 6,5 (por ejemplo, para reducir el daño a los dientes). El pH puede adecuadamente estar entre 6 y 8.

[0095] La fórmula se puede formular para reducir irregularidades intestinales (por ejemplo, heces duras, volumen de deposición insuficiente, diarrea), que es un gran problema en muchos bebés. La fórmula se puede administrar en forma de una fórmula líquida que tiene una osmolalidad entre 50 y 500 mOsm/kg, tal como entre 100 y 400 mOsm/kg.

[0096] La fórmula se puede administrar en forma de una fórmula líquida con una viscosidad entre 1 y 60 mPa.s, tal como entre 1 y 20 mPa.s, tal como entre 1 y 10 mPa.s, tal como entre 1 y 6 mPa.s. La viscosidad baja asegura una administración apropiada del líquido, por ejemplo, un pasaje apropiado a través del agujero de una boquilla en un biberón. También, esta viscosidad se parece mucho a la viscosidad de leche humana. Además, una viscosidad baja resulta en un vaciado gástrico normal y una mejor ingesta de energía, que es esencial para bebés que necesitan la energía para crecimiento y desarrollo óptimos. La viscosidad del líquido se puede determinar usando un reómetro Physica Rheometer MCR 300 (Physica Messtechnik GmbH, Ostfilden, Alemania) a una velocidad de cizalladura de  $95 \text{ s}^{-1}$  a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

[0097] La fórmula se puede formular de modo que no tenga una densidad calórica excesiva. Por lo tanto, la fórmula (en la forma líquida) puede tener una densidad calórica entre 0.1 y 2.5 kcal/mL, tal como una densidad calórica de entre 0.4 y 1.2 kcal/mL, tal como entre 0.55 y 0.75 kcal/mL.

[0098] La fórmula puede tener un tiempo de conservación largo. Por ejemplo, puede ser estable a temperatura ambiente durante al menos 6 meses, tal como al menos 12 meses, donde este está en una forma líquida, lista para tomar o donde este está en una forma de polvo.

#### Crecimiento y/o desarrollo equilibrados

[0099] Como se describe en este caso, los presentes inventores han desarrollado perfiles de aminoácido optimizados y formulaciones adecuadas para conseguir estos perfiles. Las formulaciones se proponen para promover el crecimiento y/o desarrollo equilibrados en un bebé.

[0100] El término "equilibrado" como se usa en la frase "crecimiento y/o desarrollo equilibrados" está destinado a referirse a un crecimiento sano o normal y/o desarrollo de un bebé. Por ejemplo, el crecimiento y/o desarrollo no es demasiado bajo/pequeño o demasiado/muy alto ("crecimiento y/o desarrollo no equilibrados). Esto puede ser con referencia a las figuras publicadas que definen el crecimiento sano o normal y/o desarrollo de un bebé con referencia a una población, (geográfico, demográfico, étnico, etc) dentro del cual pertenece el infante o con referencia al crecimiento y/o desarrollo de un bebé no sano o grupo de bebés no sanos. Ejemplos de referencias publicadas incluyen la curva de crecimiento de la OMS (WHO) (WHO, 2006).

[0101] El término "crecimiento y/o desarrollo" como se utiliza en este caso puede referirse al crecimiento y/o desarrollo del cerebro de un bebé y/o la función cognitiva del bebé, como se define adicionalmente más abajo y/o al crecimiento y/o desarrollo del cuerpo de un bebé y/o la composición del cuerpo del bebé, también como se define adicionalmente más abajo.

[0102] En algunas formas de realización (a), la composición proteínica de la fórmula (i) comprende treonina en una cantidad de 3,2-4,5 g/100 g de proteína, más adecuadamente en una cantidad de 3,5-4,0 g/100 g de proteína y/o la composición proteínica de la fórmula (i) comprende triptófano en una cantidad de 0,7-1,0 g/100 g de proteína, más adecuadamente en una cantidad de 0,8-0,9 g/100 g de proteína. Adecuadamente, la composición proteínica de la fórmula (i) comprende 3,2-4,5 g de treonina por 100 g de proteína, más

adecuadamente 3,5-4,0 g de treonina por 100 g de proteína y la composición proteínica de la fórmula (i) comprende además 0,7-1,0 g por 100 g de proteína, más adecuadamente 0,8-0,9 g por 100 g de proteína.

5 [0103] En algunas formas de realización (b), la composición proteínica de la fórmula (i) comprende una proporción de triptófano a aminoácidos neutrales (isoleucina, leucina, valina, fenilalanina, tirosina y metionina) de 1:34.1 (0,029) a 1:40.1 (0,025), aún más adecuadamente, la composición proteínica de la fórmula (i) comprende una proporción de 1:35.1 (0,028) a 1:39.1 (0,026), más adecuadamente la composición proteínica de la fórmula (i) comprende una proporción de 1:36.1 (0,028) a 1:38.1 (0,026).

10 [0104] En una forma de realización ejemplar, la composición proteínica de la fórmula (i) cumple con ambas (a) y (b).

#### Cerebro y función cognitiva

15 [0105] Crecimiento y/o desarrollo equilibrados puede referirse al crecimiento y/o desarrollo equilibrados del cerebro de un bebé y/o la función cognitiva del bebé. Esto puede referirse al desarrollo físico del cerebro, incluyendo la actividad neurotransmisora y también circunferencia cerebral o de la cabeza. Esto también puede referirse a cualquier función cerebral o comportamiento observado en el bebé o posterior en la vida del bebé, tal como humor, apetito, sueño, memoria, aprendizaje y algunos comportamientos sociales del bebé. Esto también  
20 puede referirse a la prevención o reducción del riesgo del bebé para desarrollar una enfermedad psiquiátrica en la vida posterior (por ejemplo, un trastorno afectivo, depresión, esquizofrenia).

[0106] Como se describe en este caso, las ingestas recomendadas determinadas para los aminoácidos esenciales que se asocian con la función cerebral, tal como triptófano y treonina, se descubrió que eran  
25 diferentes a las descubiertas en fórmulas disponibles comercialmente y en leche materna. Además, la proporción entre los aminoácidos neutrales (valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, tirosina y metionina) y triptófano también se descubrió que era significativamente diferente a la proporción recomendada, donde se ha afirmado que una proporción alterada puede tener posibles implicaciones en el desarrollo cerebral. Por lo tanto, se cree que las fórmulas que comprenden el perfil de aminoácido óptimo como se ha definido en este documento promueven,  
30 ayudan o consiguen ventajosamente crecimiento o desarrollo equilibrados del cerebro y la función cognitiva en bebés.

#### Crecimiento del cuerpo, desarrollo y composición

35 [0107] El crecimiento y/o desarrollo equilibrados pueden referirse al crecimiento y/o desarrollo equilibrados del cuerpo de un bebé y/o la composición corporal del bebé. Esto puede referirse a la altura, peso, distribución de grasa (por ejemplo, grasa visceral contra grasa subcutánea) u otro parámetro del bebé, tales parámetros son bien conocidos para los expertos en la técnica.

40 [0108] En los estudios realizados en bebés humanos descritos aquí, las ingestas recomendadas determinadas para los aminoácidos esenciales que se asocian con el crecimiento corporal y la función del cuerpo (incluyendo sensibilidad a la insulina), tal como leucina y triptófano, se descubrió que eran diferentes a las descubiertas en fórmulas disponibles comercialmente y en leche materna. Además, en los estudios de crecimiento de lechón  
45 realizados, el índice de crecimiento de los lechones que ingieren el perfil de aminoácido optimizado fue similar a aquellos que ingieren el perfil de aminoácido no ajustado pero con un nivel de proteína más alto y también sin detectar efectos de desarrollo adversos. Estos resultados sugieren que la composición de aminoácidos esenciales optimizada permita el aumento de peso similar en comparación con una composición que contiene una cantidad más alta de proteína total y una composición de aminoácido esencial no ajustada.

50 [0109] Por lo tanto, se cree que las fórmulas que comprenden el perfil de aminoácido óptimo como se ha definido en este documento ventajosamente promueven, ayudan o consiguen el crecimiento equilibrado o desarrollo de cuerpo y composición corporal en bebés.

55 [0110] Por consiguiente, la presente invención proporciona también un método de promoción, crecimiento de asistencia o realización o desarrollo de un cuerpo del bebé y/o una composición del cuerpo del bebé, donde el método comprende la administración al infante de una fórmula de la presente invención.

#### Reducción del riesgo de obesidad más tarde en la vida

60 [0111] En los estudios de crecimiento descritos en este documento, se observó que que el índice de crecimiento de los lechones que ingieren las dos fórmulas que contienen el perfil de aminoácido no ajustado (uno con 80% proteína de la fórmula de control) difirió. En particular, los lechones que ingirieron la fórmula isocalórica con un 20% de proteína inferior mostraron un índice de crecimiento significativamente inferior. Cabe destacar que el volumen de ingesta de estos lechones fue controlado de manera que los lechones no podían ingerir más de la  
65 fórmula, aunque lo desearan.

[0112] Se sabe que la reducción de los niveles de proteína por debajo de las necesidades mínimas para el crecimiento pueden llevar a compensar la ingesta de la fórmula para cumplir con las necesidades de la proteína y así plantean un riesgo de sobreconsumo de energía de grasas y carbohidratos (Formon, 1999). Por lo tanto, aunque se ha propuesto previamente que las fórmulas para lactantes que contienen menos proteína pueden reducir el riesgo de desarrollo de obesidad en el bebé en una fase posterior de la vida (Koletzko; 2009), ahora es aparente que también es la calidad de la proteína y no solo la cantidad de proteína, la que necesita ser optimizada para reducir de manera satisfactoria el riesgo de obesidad en el bebé en una fase posterior de la vida.

[0113] En los estudios de crecimiento descritos aquí, también se observó que el índice de crecimiento de los lechones que ingieren el perfil de aminoácido optimizado fue mayor en comparación con aquellos que ingieren el perfil de aminoácido no ajustado del mismo nivel de proteína y que el índice de crecimiento fue similar a aquellos que ingieren el perfil de aminoácido no ajustado pero con un nivel de proteína más alto.

[0114] Además, hay una evidencia consistente de que el crecimiento durante el primer año(s) de vida se asocia al sobrepeso más tarde en la infancia, adolescencia o edad adulta (Baird, 2005; Dennison, 2006; Silverwood, 2009; Ong, 2009; Taveras, 2009; y Tzoulaki, 2010).

[0115] Por lo tanto, se propone que se pueden producir formulaciones con niveles más bajos de proteína total pero con perfiles de aminoácido óptimos tal y como se define aquí, reuniendo así las necesidades de bebés y por lo tanto promoviendo el crecimiento y/o desarrollo equilibrados en bebés mientras se previene o reduce el riesgo de obesidad en el bebé en una fase posterior de la vida, y también para evitar o reducir el riesgo de enfermedades relacionadas con la obesidad y condiciones tales como enfermedades metabólicas (por ejemplo, síndrome metabólico, diabetes) y enfermedad cardiovascular.

#### Administración

[0116] Se describe también un método para proporcionar nutrición a un bebé, el método comprende la administración al infante de una composición proteínica o una fórmula de la presente invención. Adecuadamente, el bebé es un bebé humano.

[0117] Revelamos también un método para proporcionar nutrición a un bebé, el método que incluye las etapas a) mezclar i) un líquido nutricional o farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua); e ii) una composición seca, donde la composición seca comprende la composición proteínica o fórmula de la presente invención, y la etapa b) administración de la composición líquida obtenida en la etapa a) a un bebé.

#### Ejemplos

**Ejemplo 1:** lisina, metionina, treonina, triptófano, valina, isoleucina y necesidades de leucina en bebés

[0118] El ejemplo 1 describe la determinación de las necesidades de aminoácido esenciales en bebés por medio del método indicador de la oxidación de aminoácidos (IAAO) y la definición posterior de los rangos recomendados de necesidades dietéticas para cada aminoácido esencial. Los bebés tenían todos una edad de gestación de 37-43 semanas, un peso de nacimiento además de 2500 gramos y una edad posnatal de <28 días, y han mostrado una tasa de aumento de peso de  $> 5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  en los 5 días precedentes (esta tasa de aumento de peso es una indicación de buena salud).

#### Método IAAO

[0119] En el método IAAO, cada bebé fue alimentado con una fórmula a base de aminoácido donde cada aminoácido esencial estaba presente en exceso excepto el aminoácido esencial que se fuera a evaluar. El bebé fue asignado de forma aleatoria para recibir el aminoácido de prueba en una cantidad que varía de deficitario a excesivo (es decir, a cada bebé se le dio un nivel específico del aminoácido de prueba). Fenilalanina, marcado con un isótopo estable, se usó como el aminoácido indicador.

[0120] El método IAAO (Zello, 1993) se basa en el concepto de que cuando la ingesta de aminoácido de prueba es insuficiente para cumplir con las necesidades del bebé, la síntesis de proteína será limitada y todos los aminoácidos serán oxidados, incluyendo el aminoácido indicador. La oxidación del aminoácido indicador se puede medir en el aire expirado como  $^{13}\text{CO}_2$ .

[0121] La Figura 1 muestra un ejemplo del gráfico marcado por el método IAAO para un aminoácido de prueba. Como se puede observar en la figura 1, a medida que la ingesta dietética del aminoácido de prueba (mostrado en el eje x) aumenta, la síntesis de proteína aumenta y la tasa de oxidación del aminoácido indicador (mostrado en el eje y) se reduce hasta que se reúne el requisito del aminoácido de prueba (indicado como el punto de interrupción). Una vez se reúne el requisito del aminoácido de prueba, un aumento adicional en su ingesta no

tendrá más influencia en la tasa de oxidación del aminoácido indicador. Así el punto de interrupción determina el requisito dietético del aminoácido de prueba en este ajuste.

Método IAAO: protocolo

5

[0122] 24 horas antes del día de estudio, los bebés consumieron su fórmula de prueba (incluyendo el nivel específico del aminoácido de prueba que se da a cada bebé particular) para adaptación, con el régimen de alimentación que conforma a aquel del hospital. Durante el día de estudio, el régimen de alimentación se cambió a alimentación por bolo cada hora de la fórmula de prueba del bebé para asegurar un estado metabólico estable en condiciones de alimentación. Para cuantificar la producción de CO<sub>2</sub> individual, los bebés recibieron una infusión cebada (14 μmol/kg) continua (9 μmol/kg/h) de bicarbonato [<sup>13</sup>C] (pirógeno estéril libre, 99% <sup>13</sup>C APE; Cambridge Isotopes, Woburn, MA) durante 3 horas (Riedijk, 2005). Directamente después de la infusión de bicarbonato de 3 horas, una infusión enteral cebada (34 μmol/kg) continua (27 μmol/kg/h) de fenilalanina L-[1-<sup>13</sup>C] (99% <sup>13</sup>C APE; Cambridge Isotopes) se dio durante 4 horas. Para minimizar la invasividad los trazadores se dieron enteralmente por medio de un tubo gástrico.

10

15

[0123] Muestras de aliento se recogieron por medio del método de muestreo directo descrito por van der Schoor (2004). Al inicio del estudio, se recogieron dos muestras de aliento duplicadas antes de la infusión del marcador. Durante los últimos 45 minutos de infusión de bicarbonato [<sup>13</sup>C] y durante la hora última de infusión de fenilalanina L-[1-<sup>13</sup>C], se recogieron muestras duplicadas cada diez y quince minutos, respectivamente. Se almacenaron muestras a temperatura ambiente hasta mensual envío a los Países Bajos para el análisis en el laboratorio de espectrometría de masas del Erasmus Medical Center, Rotterdam. El enriquecimiento de <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> expirado se midió por espectrometría de masas de isótopo (ABCA; Europe Scientific, van Loenen Instruments, Leiden, the Netherlands) y se proporcionó en unidades de exceso de porcentaje de átomo (APE).

20

25

[0124] Para cada participante, la producción de CO<sub>2</sub> corporal estimada se calculó, como se ha descrito previamente (Riedijk, 2005). La tasa de oxidación de fenilalanina [1-<sup>13</sup>C] fraccional se calculó usando esta ecuación:

$$\text{Oxidación de fenilalanina fraccional (\%)} = \left[ \frac{IE_{PHE} \times i_B}{i_{PHE} \times IE_B} \right] \times 100\%$$

30

[0125] Donde IE<sub>PHE</sub> es el exceso de enriquecimiento isotópico <sup>13</sup>C en el aire expirado durante la infusión de fenilalanina [1-<sup>13</sup>C] (APE), i<sub>B</sub> es la tasa de infusión de bicarbonato [<sup>13</sup>C] (μmol/kg/h), i<sub>PHE</sub> es la tasa de infusión de fenilalanina [1-<sup>13</sup>C] (μmol/kg/h) y IE<sub>B</sub> es el exceso de enriquecimiento isotópico <sup>13</sup>C en el aire expirado durante la infusión de bicarbonato [<sup>13</sup>C] (van Goudoever, 1993).

35

[0126] Los resultados de los estudios IAAO para aminoácidos: lisina, metionina, treonina, triptófano, valina, isoleucina y leucina, se describen en los ejemplos 1a-1g y con los resultados también ilustrados gráficamente en las Figuras 2-8. Como fenilalanina se usó como el aminoácido indicador, cada una de las figuras 2-8 marca los índices de oxidación de la fenilalanina (F<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>) frente a la ingesta dietética del aminoácido de prueba. Cada punto representa un bebé individual que fue alimentado con una fórmula a base de aminoácido donde cada aminoácido esencial estaba presente en exceso excepto el aminoácido esencial que se fuera a evaluar, donde el aminoácido de prueba estaba presente en una cantidad que varía del déficit al exceso.

40

Rangos de ingesta dietética recomendada

45

[0127] Después, el rango de ingesta dietética recomendada a los aminoácidos esenciales en cada uno de los ejemplos 1a-1g se determinó usando la siguiente estrategia.

[0128] Primero, el requisito dietético (punto de interrupción) de los resultados IAAO se estimó usando un modelo cruzado de regresión lineal bifásico y fue tomado como el parámetro primario.

50

[0129] Para asegurar que casi todos los individuos reúnan los requisitos de aminoácido, se definió un nivel seguro de ingesta. Se usó el nivel seguro de ingesta de proteína propuesta por la OMS (WHO/FAO/UNU; 2007) definiendo el nivel seguro de ingesta de proteína hasta el 125% del requisito de proteína media. En este caso, el nivel seguro de ingesta de aminoácido fue por lo tanto calculado para ser > 125% del parámetro primario (valor de punto de interrupción) obtenido como se ha descrito anteriormente, para alcanzar el valor de requisito seguro de población.

55

[0130] Se hizo una suposición de que este parámetro primario (valor de punto de interrupción) es superior a la necesidad de proteína unida a aminoácidos basados en el estudio por Metges (2000) que mostró > 20% mayor de tasa de oxidación de primer paso cuando los aminoácidos libres son ingeridos en comparación con proteína ligada a aminoácidos. Por lo tanto un 20% del requisito estimado fue sustraído del valor de requisito seguro de población, que se cree que es conservador (es decir, sobreestimar antes que subestimar).

60

[0131] El efecto neto de los dos cálculos anterior es por lo tanto que el punto de interrupción es igual a la ingesta recomendada (medida en  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ).

5 [0132] La ingesta recomendada medida en  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  fue convertida luego a unidades de mg (de aminoácido)/100 mL (de fórmula de bebé). Este cálculo se hizo dividiendo la ingesta recomendada ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) por la ingesta en volumen por un bebé de  $150\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  (Shaw; 2001) y multiplicando por 100. Esto está descrito debajo como la ingesta dietética recomendada para cada aminoácido, expresado en mg (aminoácido)/100 mL (fórmula infantil).

10 [0133] Este rango de ingesta dietética recomendada fue convertida también en unidades de g (aminoácido)/100 g de proteína de la siguiente manera. Los cálculos se basaron en un nivel de ingesta de proteína de 0,9 - 1,4 g de (proteína)/100 mL (fórmula para lactantes) o 900 - 1,400 mg de (proteína)/100 mL (fórmula para lactantes) (Koletzko, 2009). Este nivel de ingesta de proteína correlaciona a 1,4 a 2,1 g de proteína/100 kcal a base de fórmula infantil en un nivel de energía de 66 kcal por 100 mL. La ingesta dietética recomendada para el aminoácido expresada en mg/100 mL fue por lo tanto dividida por el límite superior de nivel de ingesta de proteína (1,400 mg/100 mL) y multiplicada por 100 para alcanzar el límite inferior del intervalo propuesto. La ingesta dietética recomendada para el aminoácido expresada en mg/100 mL fue dividida también por el límite inferior de nivel de ingesta de proteína (900 mg/100 mL) y multiplicada por 100 para llegar al límite superior del intervalo propuesto.

20 Ejemplo 1a: lisina

25 [0134] Usando el método anteriormente descrito, el punto de interrupción para lisina por un grupo de 21 bebés se estimó que fue  $130\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  (esto se muestra luego también en la figura 2) y la ingesta dietética recomendada para lisina se determinó luego que sería 87 mg/100 mL (de la fórmula de bebé). Convertida en g/100 g de proteína como se ha descrito anteriormente, el resultado para lisina es 6,2 – 9,7 g/100 g de proteína.

Ejemplo 1b: metionina

30 [0135] Usando el método anteriormente descrito, el medio de punto de interrupción para metionina por un grupo de 33 bebés se estimó que fue  $38\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  (esto se muestra también en la figura 3). Cabe señalar que esta estimación se hizo en base a una dieta que contenía un exceso de cisteína

35 [0136] ( $91\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ). La ingesta dietética recomendada para metionina se determinó luego que sería 25 mg/100 mL (de fórmula de bebé). Convertida en g/100 g de proteína como se ha descrito anteriormente, el resultado de metionina es 1,8 – 2,8 g/100 g de proteína.

Ejemplo 1c: treonina

40 [0137] Usando el método anteriormente descrito, el punto de interrupción para treonina por un grupo de 32 bebés se estimó que fue  $68\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  (esta se muestra también en la figura 4) y la ingesta dietética recomendada para treonina se determinó luego que sería 45 mg/100 mL (de fórmula de bebé). Convertida en g/100 g de proteína como se ha descrito anteriormente, el resultado para treonina es 3,2 – 5,0 g/100 g de proteína.

45 Ejemplo 1d: triptófano

50 [0138] Usando el método anteriormente descrito, el punto de interrupción para triptófano por un grupo de 30 bebés se estimó que sería  $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  (esto se muestra también en la figura 5) y la ingesta dietética recomendada para triptófano se determinó luego que sería 10 mg/100 mL (de fórmula de bebé). Convertido en g/100 g de proteína como se ha descrito anteriormente, el resultado para triptófano es 0,7 – 1,1 g/100 g de proteína.

**Ejemplo 1e: valina**

55 [0139] Usando el método anteriormente descrito, el punto de interrupción para valina por un grupo de 28 bebés se estimó que sería  $110\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  (esto se muestra también en la figura 6) y la ingesta dietética recomendada para valina se determinó luego que sería 73 mg/100 mL (de fórmula de bebé). Convertido en g/100 g de proteína como se ha descrito anteriormente, el resultado de valina es 5,2 – 8,1 g/100 g de proteína.

60 **Ejemplo 1f: isoleucina**

65 [0140] Usando el método anteriormente descrito, el punto de interrupción para isoleucina por un grupo de 22 bebés se estimó que sería  $105\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  (esto se muestra también en la figura 7) y la ingesta dietética recomendada para isoleucina se determinó luego que sería 70 mg/100 mL (de fórmula de bebé). Convertido en g/100 g de proteína como se ha descrito anteriormente, el resultado para isoleucina es 5,0 – 7,8 g/100 g de proteína.



**Ejemplo 1g: leucina**

[0141] Usando el método anteriormente descrito, el punto de interrupción para leucina por un grupo de 33 bebés se estimó que sería  $140 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  (esto se muestra también en la figura 8) y la ingesta dietética recomendada para leucina se determinó luego que sería  $93 \text{ mg}/100 \text{ mL}$  (de fórmula de bebé). Convertida en  $\text{g}/100 \text{ g}$  de proteína como se ha descrito anteriormente, el resultado para leucina es  $6,6 - 10,3 \text{ g}/100 \text{ g}$  de proteína.

**Ejemplo 2: necesidades de histidina, fenilalanina, cisteína y tirosina en bebés**

[0142] La metodología IAAO no se realizó para los aminoácidos esenciales: histidina y fenilalanina. Además, la metodología IAAO fue (no pudo ser) usada para los aminoácidos condicionalmente esenciales: cisteína y tirosina. Así, los niveles de estos aminoácidos fueron determinados como se explica a continuación.

**Ejemplo 2a: histidina**

[0143] La ingesta dietética recomendada de histidina se propone que es  $41 \text{ mg}/100 \text{ kcal}$ , basada en el nivel de la proteína de referencia de leche humana (Koletzko, 2005). Con una fórmula infantil que proporciona  $66 \text{ kcal}/100 \text{ mL}$ , esta resulta en  $27 \text{ mg}$  de histidina/100 mL. Este nivel ( $\text{mg}/100 \text{ mL}$ ) fue convertido en  $\text{g}/100 \text{ g}$  de proteína como se ha descrito en el ejemplo 1 de arriba, que sería  $1,9 - 3,0 \text{ g}/100 \text{ g}$  de proteína.

**Ejemplo 2b: fenilalanina**

[0144] La ingesta dietética recomendada para fenilalanina se propone que sea  $81 \text{ mg}/100 \text{ kcal}$ , basados en el nivel en la proteína de referencia de leche humana (Koletzko, 2005). Con una fórmula infantil que proporciona de  $66 \text{ kcal}/100 \text{ mL}$ , esta resulta en  $54 \text{ mg}$  de fenilalanina/100 mL. Este nivel ( $\text{mg}/100 \text{ mL}$ ) se convirtió en  $\text{g}/100 \text{ g}$  de proteína como se ha descrito en el ejemplo 1 de arriba, que sería  $3,8 - 5,9 \text{ g}/100 \text{ g}$  de proteína.

**Ejemplo 2c: cisteína**

[0145] ESPGHAN propone una proporción de metionina:cisteína en el rango de  $0,7-1,5$  a  $1$  (Koletzko, 2005). La ingesta dietética recomendada de metionina se determinó que sería  $25 \text{ mg}/100 \text{ mL}$  (como anteriormente se ha descrito, véase ejemplo 1b). Por lo tanto, la proporción de metionina:cisteína de  $0,7$  a  $1$  da un nivel de cisteína de  $36 \text{ mg}/100 \text{ mL}$  y la proporción de metionina: cisteína de  $1,5$  a  $1$  da un nivel de cisteína de  $17 \text{ mg}/100 \text{ mL}$ . Por lo tanto, el rango de ingesta dietética recomendada de cisteína es  $17 - 36 \text{ mg}/100 \text{ mL}$  (de fórmula de bebé).

[0146] Porque la ingesta dietética recomendada (en  $\text{mg}/100 \text{ mL}$ ) es un rango y no una única figura, el rango fue convertido en  $\text{g}/100 \text{ g}$  de proteína en una manera similar a los cálculos descritos en el ejemplo 1 de arriba, pero donde el límite inferior del rango de cisteína expresado en  $\text{mg}/100 \text{ mL}$  se dividió por el límite superior de nivel de ingesta de proteína ( $1,400 \text{ mg}/100 \text{ mL}$ ) y se multiplicó por  $100$  para alcanzar el límite inferior del intervalo propuesto. El límite superior del rango de cisteína expresado en  $\text{mg}/100 \text{ mL}$  se dividió por el límite inferior de nivel de ingesta de proteína ( $900 \text{ mg}/100 \text{ mL}$ ) y se multiplicó por  $100$  para llegar al límite superior del intervalo propuesto. Esto llevó a un resultado para cisteína de  $1,2 - 4,0 \text{ g}/100 \text{ g}$  de proteína.

**Ejemplo 2d: tirosina**

[0147] ESPGHAN propone una proporción de fenilalanina:tirosina en el rango de  $0,7-1,5$  a  $1$  (Koletzko, 2005). La ingesta dietética recomendada ESPGAN de fenilalanina es  $54 \text{ mg}/100 \text{ mL}$  (como arriba, Ejemplo 2b). Por lo tanto, la proporción de fenilalanina: tirosina de  $0,7$  a  $1$  da un nivel de tirosina de  $76 \text{ mg}/100 \text{ mL}$  y la proporción de fenilalanina: tirosina de  $1,5$  a  $1$  da un nivel de tirosina de  $36 \text{ mg}/100 \text{ mL}$ . Por lo tanto, el rango de ingesta dietética recomendada para tirosina es  $36 - 76 \text{ mg}/100 \text{ mL}$  (de fórmula de bebé).

[0148] Porque la ingesta dietética recomendada (en  $\text{mg}/100 \text{ mL}$ ) es un rango y no una única figura, el rango fue convertido en  $\text{g}/100 \text{ g}$  de proteína en una manera similar a los cálculos descritos en el ejemplo 1 de arriba, pero donde el límite inferior del rango de tirosina expresado en  $\text{mg}/100 \text{ mL}$  se dividió por el límite superior de nivel de ingesta de proteína ( $1,400 \text{ mg}/100 \text{ mL}$ ) y se multiplicó por  $100$  para alcanzar el límite inferior del intervalo propuesto. El límite superior del rango de tirosina expresado en  $\text{mg}/100 \text{ mL}$  se dividió por el límite inferior de nivel de ingesta de proteína ( $900 \text{ mg}/100 \text{ mL}$ ) y se multiplicó por  $100$  para llegar al límite superior del intervalo propuesto. Esto lleva a un resultado de tirosina de  $2,6 - 8,4 \text{ g}/100 \text{ g}$  de proteína.

**Ejemplo 3: perfiles de aminoácido**

[0149] Juntando los resultados de los ejemplos 1 y 2, la tabla 1 debajo enumera el rango de ingesta dietética recomendada para cada aminoácido esencial ambos en  $\text{mg}$  (aminoácido)/100 mL (de fórmula para lactantes) y en  $\text{g}$  (aminoácido)/100 g de proteína, como se describe anteriormente. En la tabla incluida también 1 es la proporción de triptófano a los aminoácidos neutrales (valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, tirosina y metionina)

calculada en base a los resultados en mg/100 mL. Esta proporción es un rango calculado usando el nivel medio de niveles de tirosina (56 mg/100 mL) y luego con un 10% de variación de la proporción permitida (por ejemplo para compensar la variación permitida de producto). Así se determinó que la proporción sería de 1:33.4 (0,030) a 1:40.8 (0,025).

5

Tabla 1: rango de ingesta dietética recomendada para cada aminoácido esencial como se determina en los ejemplos 1 y 2.

| Aminoácido esencial<br>[unidades] | Valor                      |                                 |          |
|-----------------------------------|----------------------------|---------------------------------|----------|
|                                   | mg/kg de peso corporal/día | mg/100 mL                       | g/100 g  |
| Cisteína                          | s/d                        | 17- 36                          | 1,2-4,0  |
| Histidina                         | s/d                        | 27                              | 1,9-3,0  |
| Isoleucina                        | 105                        | 70                              | 5,0-7,8  |
| Leucina                           | 140                        | 93                              | 6,6-10,3 |
| Lisina                            | 130                        | 87                              | 6,2-9,7  |
| Metionina                         | 38                         | 25                              | 1,8-2,8  |
| Fenilalanina                      | s/d                        | 54                              | 3,8-5,9  |
| Treonina                          | 68                         | 45                              | 3,2-5,0  |
| Triptófano                        | 15                         | 10                              | 0,7-1,1  |
| Tirosina                          | s/d                        | 36- 76                          | 2,6-8,4  |
| Valina                            | 110                        | 73                              | 5,2-8,1  |
| Triptófano: aminoácidos neutrales |                            | 1:33,4 (0,028) a 1:40,8 (0,025) |          |
| Proteína (g/100 mL)               |                            |                                 | 0,9-1,4  |
| Proteína (g/100 kcal)             |                            |                                 | 1,4-2,1  |

10 [0150] En general, el contenido de aminoácido esencial de leche materna ha sido considerado como una estimación de necesidad apropiada (WHO, 2007). Sin embargo, se reconoce que tales ingestas pueden ser diferentes (por ejemplo; generosas) en comparación con peticiones reales. En ausencia de valores seguros, métodos para mejorar las estimaciones de necesidad, tales como un método factorial basado en componentes de crecimiento y mantenimiento de necesidades de proteína, resultan en valores calculados que están todavía basados en leche humana como referencia.

15 [0151] En los cálculos descritos en el ejemplo 1 para determinar los valores de ingesta dietética recomendada para lisina, metionina, treonina, triptófano, valina, isoleucina y leucina, leche humana no era el valor de referencia. En cambio, estos valores de ingesta dietética recomendada se basan en los niveles de necesidad medidos actualmente en bebés, es decir, los valores de punto de interrupción. Además, estos cálculos han permitido una determinación de las recomendaciones de aminoácidos esenciales expresados en unidades que se pueden usar cuando en fórmulas para lactantes y son por lo tanto útiles para la industria de fabricación de fórmulas infantiles.

20 [0152] La composición de aminoácido de leche se postula para ser un factor crítico en la nutrición de neonatos, ya que estos crecen rápidamente y experimentan una serie de procesos madurativos importantes. La escasez o exceso de un aminoácido esencial específico limitará el uso eficaz de los otros aminoácidos esenciales en estos procesos de crecimiento del cuerpo y maduración. Además, a parte de la necesidad de reunir el nivel de necesidad de un aminoácido esencial individual, un equilibrio óptimo entre aquellos aminoácidos esenciales en la composición total es (se anticipa que será) crucial para sostener crecimiento y/o desarrollo óptimos.

25 [0153] Comparando los puntos de interrupción y valores de ingesta dietética recomendada calculados como se describe en este caso para fórmulas disponibles comercialmente (que para una gran parte se basan en leche bovina o componentes de leche bovina tales como caseína bovina o suero de leche bovino), se puede observar que se ha determinado un perfil completamente reequilibrado de aminoácidos esenciales. Se ha propuesto que el uso de una composición que se basa en este perfil en la formulación de una fórmula infantil optimizará el crecimiento y/o desarrollo en un bebé.

30 [0154] Curiosamente, cabe señalar que algunos de estos rangos se desvían de los niveles proporcionados en leche materna humana o se usan en fórmulas para lactantes disponibles comercialmente. Así, a través de estos experimentos se ha descubierto sorprendentemente que los niveles de aminoácidos esenciales requeridos para síntesis de proteína (y por lo tanto para crecimiento y/o desarrollo) en bebés a término se encuentran en niveles de ingesta donde los niveles de ingesta difieren claramente de los descubiertos en leche materna humana y en fórmulas disponibles comercialmente para aminoácidos esenciales específicos, donde el perfil combinado de dos o más de aquellos niveles de ingesta difieren claramente de los descubiertos en leche materna humana y en fórmulas disponibles comercialmente para aminoácidos esenciales específicos, y donde las proporciones entre

varios aminoácidos difieren claramente de las descubiertas en leche materna humana y en fórmulas disponibles comercialmente.

5 [0155] Por ejemplo, los puntos de interrupción individuales para los aminoácidos esenciales que hacen de  
 precursores para neurotransmisores en el cerebro, tales como triptófano y treonina son inferiores a los niveles  
 descubiertos en leche materna humana y/o fórmulas disponibles comercialmente. Además, la proporción entre  
 triptófano y los aminoácidos neutrales (valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, tirosina y metionina) puede afectar  
 10 a la biodisponibilidad de triptófano, un precursor para la producción de serotonina en el cerebro y se calculó que  
 sería de 1:33,4 (0,030) a 1:40,8 (0,025) y es por lo tanto diferente a la descubierta en leche materna humana y/o  
 fórmulas disponibles comercialmente. Esto es de interés particular ya que se ha sugerido que la exposición a  
 altos niveles de serotonina durante el desarrollo temprano puede afectar a la velocidad de desarrollo del córtex,  
 aumentando así el riesgo de enfermedad psiquiátrica en su vida posteriormente (Riccio, 2011).

**Ejemplo 4:** fuentes de aminoácido

15 [0156] Combinaciones de diferentes fuentes de aminoácidos fueron investigadas para determinar si su perfil de  
 aminoácido cumpliría con el perfil de aminoácido recomendado (es decir, el rango de ingesta dietética  
 recomendada para cada amino esencial como se muestra en los ejemplos anteriores y en particular la tabla 1).

20 [0157] Las fuentes se enumeran en la tabla 2, junto con su perfil de aminoácido (g/100 g de proteína) y las  
 referencias de donde se obtuvieron estos perfiles.

Tabla 2: fuentes de aminoácido (expresadas como g/100 g de proteína)

| Aminoácido   | Fuentes de aminoácido           |                               |                              |                             |                                |         |                       |
|--------------|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|---------|-----------------------|
|              | Aislado de proteína de guisante | Aislado de proteína de patata | Aislado de proteína de arroz | Aislado de proteína de soja | Espirulina de proteína de alga | Caseína | Suero(dulce) de queso |
| Cisteína     | 1,1                             | 0,95                          | 1,75                         | 1,2                         | 0,7                            | 0,4     | 2,6                   |
| Histidina    | 2,7                             | 2,28                          | 2,37                         | 2,5                         | 1,1                            | 3,1     | 1,6                   |
| Isoleucina   | 4,7                             | 5,20                          | 4,31                         | 5,1                         | 3,2                            | 5,8     | 7,2                   |
| Leucina      | 8,7                             | 10,69                         | 8,49                         | 8,35                        | 4,9                            | 10,1    | 11,8                  |
| Lisina       | 7,7                             | 7,87                          | 3,60                         | 5,6                         | 3,0                            | 8,4     | 10,7                  |
| Metionina    | 1,2                             | 2,68                          | 3,70                         | 1,35                        | 1,1                            | 2,9     | 2,4                   |
| Fenilalanina | 5,6                             | 6,47                          | 5,47                         | 5,45                        | 2,8                            | 5,4     | 3,8                   |
| Treonina     | 3,9                             | 7,11                          | 3,70                         | 3,9                         | 3,0                            | 4,6     | 8,6                   |
| Triptófano   | 1,0                             | 1,47                          | 0,92                         | 1,25                        | 0,9                            | 1,4     | 1,7                   |
| Tirosina     | 3,9                             | 6,37                          | 5,35                         | 3,9                         | 2,6                            | 5,8     | 3,4                   |
| Valina       | 5,2                             | 5,62                          | 6,14                         | 5,1                         | 3,5                            | 7,5     | 6,8                   |
| Referencia   | a                               | b                             | c                            | d                           | e                              |         |                       |

25 [0158] Las referencias en la tabla 2 son de la siguiente manera:  
 a: fuente de proteínas disponible comercialmente, Pisane C9  
 b: fuente de proteínas disponible comercialmente, Solanic 206P  
 30 c: fuente de proteínas disponible comercialmente, Remypro N80+  
 d: fuente de proteínas disponible comercialmente, Supro 772 LN  
 e: [http://en.wikipedia.org/wiki/Spirulina\\_\(dietary\\_supplement\)#Protein\\_and\\_amino\\_acid\\_content](http://en.wikipedia.org/wiki/Spirulina_(dietary_supplement)#Protein_and_amino_acid_content) [accessed on September 3, 2012].

35 [0159] Las combinaciones adecuadas de fuentes de aminoácido se perfilan en las tablas 3-9 y su adaptabilidad  
 con el rango de aminoácido recomendado y se indica la proporción de triptófano: aminoácidos neutrales  
 (trp:NAA) de la tabla 1. Los expertos en la técnica podrán apreciar que cualquier insuficiencia de aminoácido (por  
 ejemplo, donde la cantidad es <100% de la cantidad recomendada), como se indica en las tablas 3-9 por "rango  
 de abajo", esto se puede remediar por la adición de un aminoácido libre.

40 Tabla 3: perfil de aminoácido (g/100 g de proteína) para la combinación de aislado de proteína de guisante y  
 aislado de proteína de arroz (proporción de 35:65) y adaptabilidad con los niveles de la tabla 1.

| Aminoácido | Tabla 1 niveles (g/100 g) | Niveles de combinación (g/100 g) | Adaptabilidad con niveles de la tabla 1 |
|------------|---------------------------|----------------------------------|---|
| Cisteína   | 1,2-4,0                   | 1,5                              | Dentro de rango                         |
| Histidina  | 1,9-3,0                   | 2,5                              | Dentro de rango                         |
| Isoleucina | 5,0-7,8                   | 4,4                              | Por debajo del rango                    |
| Leucina    | 6,6-10,3                  | 8,6                              | Dentro de rango                         |
| Lisina     | 6,2-9,7                   | 5,0                              | Por debajo del rango                    |

|              |         |     |                  |
|--------------|---------|-----|------------------|
| Metionina    | 1,8-2,8 | 2,8 | Dentro de rango  |
| Fenilalanina | 3,8-5,9 | 5,5 | Dentro del rango |
| Treonina     | 3,2-5,0 | 3,8 | Dentro de rango  |
| Triptófano   | 0,7-1,1 | 0,9 | Dentro del rango |
| Tirosina     | 2,6-8,4 | 4,8 | Dentro del rango |
| Valina       | 5,2-8,1 | 5,8 | Dentro del rango |

5 [0160] Cabe señalar que la adición de isoleucina y lisina (por ejemplo, por medio de aminoácido libre) se necesita para que la composición se encuentre en los rangos de la tabla 1 para cada aminoácido. Isoleucina es un aminoácido neutral. Por lo tanto, la adición de isoleucina como aminoácido libre ajustará la proporción de triptófano a aminoácidos neutrales. También cabe destacar que si el nivel de isoleucina se aumenta a los niveles mínimos de la tabla 1 (5,0 g/100 g), luego la proporción de triptófano:aminoácidos neutrales será 1:36,1 y por lo tanto en el rango de la proporción de la tabla 1.

10 [0161] Por consiguiente, la combinación de aislado de proteína de guisante y aislado de proteína de arroz (en una proporción de 35:65), con isoleucina adicional y lisina añadida por medio de aminoácido libre, reúne los niveles en subrayados en la tabla 1.

**Tabla 4:** perfil de aminoácido (g/100 g de proteína) para la combinación de aislado de proteína de arroz y caseína (proporción de 75:25) y adaptabilidad con los niveles de la tabla 1

15

| Aminoácido   | Niveles de la tabla 1 (g/100 g) | Niveles de combinación (g/100 g) | Adaptabilidad con los niveles de la tabla 1 |
|--------------|---------------------------------|----------------------------------|---|
| Cisteína     | 1,2-4,0                         | 1,1                              | Por debajo del rango                        |
| Histidina    | 1,9-3,0                         | 2,0                              | Dentro del rango                            |
| Isoleucina   | 5,0-7,8                         | 3,7                              | Por debajo del rango                        |
| Leucina      | 6,6-10,3                        | 7,1                              | Dentro del rango                            |
| Lisina       | 6,2-9,7                         | 4,3                              | Por debajo del rango                        |
| Metionina    | 1,8-2,8                         | 2,8                              | Dentro del rango                            |
| Fenilalanina | 3,8-5,9                         | 4,4                              | Dentro del rango                            |
| Treonina     | 3,2-5,0                         | 3,1                              | Por debajo del rango                        |
| Triptófano   | 0,7-1,1                         | 0,8                              | Dentro del rango                            |
| Tirosina     | 2,6-8,4                         | 4,4                              | Dentro del rango                            |
| Valina       | 5,2-8,1                         | 5,2                              | Dentro del rango                            |

20 [0162] Cabe señalar que la adición de cisteína, isoleucina, lisina y treonina (por ejemplo, por medio de aminoácido libre) se necesita para que la composición forme parte de los rangos de la tabla 1 para cada aminoácido. Isoleucina es un aminoácido neutral. Por lo tanto, la adición de isoleucina como aminoácido libre ajustará la proporción de triptófano a aminoácidos neutrales. También cabe destacar que si el nivel de isoleucina se aumenta a los niveles mínimos de la tabla 1 (5,0 g/100 g), luego la proporción de triptófano:aminoácidos neutrales será 1:36,1 y por lo tanto estará en el rango de la proporción de la tabla 1.

25 [0163] Por consiguiente, la combinación de aislado de proteína de arroz y caseína (en una proporción de 75:25), con cisteína adicional, isoleucina, lisina y treonina añadida por medio de aminoácido libre, reúne los niveles subrayados en la tabla 1.

**Tabla 5:** perfil de aminoácido (g/100 g de proteína) para la combinación de aislado proteína de arroz y aislado de proteína de patata (proporción de 75:25) y adaptabilidad con los niveles de la tabla 1

30

| Aminoácido   | Tabla 1 niveles (g/100 g) | Niveles de combinación (g/100 g) | Adaptabilidad con los niveles de tabla 1 |
|--------------|---------------------------|----------------------------------|--|
| Cisteína     | 1,2-4,0                   | 1,2                              | Dentro del rango                         |
| Histidina    | 1,9-3,0                   | 1,9                              | Dentro del rango                         |
| Isoleucina   | 5,0-7,8                   | 3,6                              | Por debajo del rango                     |
| Leucina      | 6,6-10,3                  | 7,2                              | Dentro del rango                         |
| Lisina       | 6,2-9,7                   | 3,7                              | Por debajo del rango                     |
| Metionina    | 1,8-2,8                   | 2,8                              | Dentro del rango                         |
| Fenilalanina | 3,8-5,9                   | 4,6                              | Dentro del rango                         |
| Treonina     | 3,2-5,0                   | 3,6                              | Dentro del rango                         |
| Triptófano   | 0,7-1,1                   | 0,8                              | Dentro del rango                         |
| Tirosina     | 2,6-8,4                   | 4,5                              | Dentro del rango                         |
| Valina       | 5,2-8,1                   | 4,8                              | Por debajo del rango                     |

[0164] Cabe señalar que la adición de isoleucina, lisina y valina (por ejemplo, por medio de aminoácido libre) se necesita para la que composición forme parte de los rangos para cada aminoácido de la tabla 1. Isoleucina y valina son aminoácidos neutrales. Por lo tanto, la adición de isoleucina y valina como aminoácidos libres ajustará la proporción de triptófano a aminoácidos neutrales. También cabe notar que si los niveles de isoleucina y valina se aumentan a los niveles mínimos de la tabla 1 (5,0 g/100 g y 5,2 g/100 g respectivamente), luego la proporción de triptófano:aminoácidos neutrales será 1:36,6 y por lo tanto estará en el rango de la proporción de la tabla 1.

[0165] Por consiguiente, la combinación de aislado de proteína de arroz y aislado de proteína de patata (en una proporción de 75:25), con isoleucina adicional, lisina y valina añadidas por medio de aminoácido libre, reúne los niveles subrayados en la tabla 1.

Tabla 6: perfil de aminoácido (g/100 g de proteína) para la combinación de aislado de proteína de arroz y espirulina (proporción de 82:18) y adaptabilidad con los niveles de la tabla 1

| Aminoácido   | Tabla 1 niveles (g/100 g) | Niveles de combinación (g/100 g) | Adaptabilidad con los niveles de la tabla 1 |
|--------------|---------------------------|----------------------------------|---|
| Cisteína     | 1,2-4,0                   | 1,3                              | Dentro del rango                            |
| Histidina    | 1,9-3,0                   | 1,8                              | Por debajo del rango                        |
| Isoleucina   | 5,0-7,8                   | 3,5                              | Por debajo del rango                        |
| Leucina      | 6,6-10,3                  | 6,7                              | Dentro del rango                            |
| Lisina       | 6,2-9,7                   | 3,0                              | Por debajo del rango                        |
| Metionina    | 1,8-2,8                   | 2,8                              | Dentro del rango                            |
| Fenilalanina | 3,8-5,9                   | 4,2                              | Dentro del rango                            |
| Treonina     | 3,2-5,0                   | 3,0                              | Por debajo del rango                        |
| Triptófano   | 0,7-1,1                   | 0,8                              | Dentro del rango                            |
| Tirosina     | 2,6-8,4                   | 4,1                              | Dentro del rango                            |
| Valina       | 5,2-8,1                   | 4,8                              | Por debajo del rango                        |

[0166] Cabe señalar que la adición de histidina, isoleucina, lisina, treonina y valina (por ejemplo, por medio de aminoácido libre) se necesita para que la composición se encuentre en los rangos para cada aminoácido en la tabla 1. Isoleucina y valina son aminoácidos neutrales. Por lo tanto, la adición de isoleucina y valina como aminoácidos libres se ajustará a la proporción de triptófano a aminoácidos neutrales. También cabe destacar que si los niveles de isoleucina y valina se aumentan a los niveles mínimos de la tabla 1 (5,0 g/100 g y 5,2 g/100 g respectivamente), luego la proporción de triptófano:aminoácidos neutrales será 1:35 y por lo tanto estará en el rango de la proporción de la tabla 1.

[0167] Por consiguiente, la combinación de aislado de proteína de arroz y espirulina (en una proporción de 82:18), con histidina adicional, isoleucina, lisina, treonina y valina añadida por medio de aminoácidos libres, reúne los niveles subrayados en la tabla 1.

Tabla 7: el perfil de aminoácido (g/100 g de proteína) para la combinación de aislado de proteína de guisante y aislado de proteína de arroz (proporción de 37:63) y adaptabilidad con los niveles de la tabla 1

| Aminoácido   | Niveles de la tabla 1 (g/100 g) | Niveles de combinación (g/100 g) | Adaptabilidad con los niveles de la tabla 1 |
|--------------|---------------------------------|----------------------------------|---|
| Cisteína     | 1,2-4,0                         | 1,4                              | Dentro del rango                            |
| Histidina    | 1,9-3,0                         | 2,4                              | Dentro del rango                            |
| Isoleucina   | 5,0-7,8                         | 4,2                              | Por debajo del rango                        |
| Leucina      | 6,6-10,3                        | 8,1                              | Dentro del rango                            |
| Lisina       | 6,2-9,7                         | 4,9                              | Por debajo del rango                        |
| Metionina    | 1,8-2,8                         | 2,6                              | Dentro del rango                            |
| Fenilalanina | 3,8-5,9                         | 5,2                              | Dentro del rango                            |
| Treonina     | 3,2-5,0                         | 3,6                              | Dentro del rango                            |
| Triptófano   | 0,7-1,1                         | 0,9                              | Dentro del rango                            |
| Tirosina     | 2,6-8,4                         | 4,6                              | Dentro del rango                            |
| Valina       | 5,2-8,1                         | 5,5                              | Dentro del rango                            |

[0168] Cabe señalar que la adición de isoleucina y lisina (por ejemplo, por medio de aminoácido libre) se necesita para que la composición se encuentre en el rango de cada aminoácido de la tabla 1. Isoleucina es un aminoácido neutral. Por lo tanto, la adición de isoleucina como aminoácido libre ajustará la proporción de triptófano a aminoácidos neutrales. También cabe destacar que si el nivel de isoleucina aumenta a los niveles mínimos de la tabla 1 (5,0 g/100 g), luego la proporción de triptófano:aminoácidos neutral será 1:34,4 y por lo tanto está en el rango de proporción de la tabla 1.

[0169] Por consiguiente, la combinación de aislado de proteína de guisante y aislado de proteína de arroz (en una proporción de 37:63), con isoleucina adicional y leucina añadida por medio de aminoácido libre, cumplirá con los niveles subrayados en la tabla 1.

5 Tabla 8: perfil de aminoácido (g/100 g de proteína) para la combinación de aislado de proteína de guisante y suero (dulce) de queso (proporción de 75:25) y adaptabilidad con los niveles de la tabla 1

| Aminoácido   | Niveles de la tabla 1 (g/100 g) | Niveles de combinación (g/100 g) | Adaptabilidad con los niveles de la tabla 1 |
|--------------|---------------------------------|----------------------------------|---|
| Cisteína     | 1,2-4,0                         | 1,2                              | Dentro del rango                            |
| Histidina    | 1,9-3,0                         | 1,9                              | Dentro del rango                            |
| Isoleucina   | 5,0-7,8                         | 4,3                              | Por debajo del rango                        |
| Leucina      | 6,6-10,3                        | 7,6                              | Dentro del rango                            |
| Lisina       | 6,2-9,7                         | 6,8                              | Dentro del rango                            |
| Metionina    | 1,8-2,8                         | 1,2                              | Por debajo del rango                        |
| Fenilalanina | 3,8-5,9                         | 4,1                              | Dentro del rango                            |
| Treonina     | 3,2-5,0                         | 4,1                              | Dentro del rango                            |
| Triptófano   | 0,7-1,1                         | 0,9                              | Dentro del rango                            |
| Tirosina     | 2,6-8,4                         | 3,0                              | Dentro del rango                            |
| Valina       | 5,2-8,1                         | 4,5                              | Por debajo del rango                        |

10 [0170] Cabe señalar que la adición de isoleucina, metionina y valina (por ejemplo, por medio de aminoácido libre) se necesita para que la composición se encuentre en los rangos para cada aminoácido de la tabla 1. Isoleucina, metionina y valina son todos aminoácidos neutrales. Por lo tanto, la adición de isoleucina, metionina y valina como aminoácidos libres se ajustará a la proporción de triptófano a aminoácidos neutrales. También cabe destacar que si los niveles de isoleucina, metionina y valina aumentan a los niveles mínimos de la tabla 1 (5,0 g/100 g, 1,8 g/100 g y 5,2 g/100 g respectivamente), luego la proporción de triptófano: aminoácidos neutrales será 1:29,7, que está por debajo del rango de proporción de la tabla 1. Sin embargo, la adición de aminoácidos neutrales adicionales (además de isoleucina, metionina y/o valina, y/o cualquier leucina, fenilalanina o tirosina) es posible llevar la proporción en el rango de la tabla 1. Por ejemplo, si los niveles de isoleucina, metionina y valina aumentan en 7,8 g/100 g, 2,8 g/100 g y 8,1 g/100 g respectivamente, luego la proporción de triptófano:aminoácidos neutrales será 1:37,1, que está en el rango de la proporción de la tabla 1.

20 [0171] Por consiguiente, la combinación del aislado de proteína de guisante y suero (dulce) de queso (en una proporción de 75:25), con isoleucina, metionina y valina adicionales, y posiblemente también con leucina, fenilalanina o tirosina adicionales, añadidas por medio de aminoácidos libres, cumplirá con los niveles subrayados en la tabla 1.

25 Tabla 9: perfil de aminoácido (g/100 g de proteína) para la combinación de aislado de proteína de soja y aislado de proteína de arroz (proporción de 56:44) y adaptabilidad con los niveles de la tabla 1

| Aminoácido   | Niveles de la tabla 1 (g/100 g) | Niveles de combinación (g/100 g) | Adaptabilidad con los niveles de la tabla 1 |
|--------------|---------------------------------|----------------------------------|---|
| Cisteína     | 1,2-4,0                         | 1,3                              | Dentro del rango                            |
| Histidina    | 1,9-3,0                         | 2,2                              | Dentro del rango                            |
| Isoleucina   | 5,0-7,8                         | 4,3                              | Por debajo del rango                        |
| Leucina      | 6,6-10,3                        | 7,6                              | Dentro del rango                            |
| Lisina       | 6,2-9,7                         | 4,2                              | Por debajo del rango                        |
| Metionina    | 1,8-2,8                         | 2,2                              | Dentro del rango                            |
| Fenilalanina | 3,8-5,9                         | 4,9                              | Dentro del rango                            |
| Treonina     | 3,2-5,0                         | 3,4                              | Dentro del rango                            |
| Triptófano   | 0,7-1,1                         | 1,0                              | Dentro del rango                            |
| Tirosina     | 2,6-8,4                         | 4,1                              | Dentro del rango                            |
| Valina       | 5,2-8,1                         | 5,0                              | Por debajo del rango                        |

30 [0172] Cabe señalar que la adición de isoleucina, lisina y valina (por ejemplo, por medio de aminoácido libre) se necesita para que la composición se encuentre en los rangos de la tabla 1. Isoleucina y valina son aminoácidos neutrales. Por lo tanto, isoleucina y valina adicionales como aminoácidos libres ajustarán la proporción de triptófano a aminoácidos neutrales. También cabe destacar que si los niveles de isoleucina y valina se aumentan a los niveles mínimos de la tabla 1 (5,0 g/100 g y 5,2 g/100 g respectivamente), luego la proporción de triptófano: aminoácidos neutrales será 1:29, que está por debajo del rango de proporción de la tabla 1. Sin embargo, la adición de aminoácidos neutrales adicionales (isoleucina adicional y/o valina, y/o cualquier leucina, metionina, fenilalanina o tirosina) es posible llevar la proporción en el rango de la tabla 1. Por ejemplo, si los niveles de isoleucina y valina se aumentan a 7,8 g/100 g y 8,1 g/100 g respectivamente y el nivel

de leucina se aumenta a 10 g/100 g, luego la proporción de triptófano: aminoácidos neutrales será 1:37.1, que está en el rango de la proporción de la tabla 1.

5 [0173] Por consiguiente, la combinación de aislado de proteína de soja y aislado de proteína de arroz (en una proporción de 56:44), con isoleucina adicional, lisina y valina, y posiblemente también con la adición de cualquier leucina, metionina, fenilalanina, o tirosina, añadida por medio de aminoácido libre, cumplirá con los niveles subrayados en la tabla 1.

10 [0174] Así, se demuestra que hay muchas varias opciones para realizar el perfil de aminoácido deseado.

#### **Ejemplo 5:** fuentes de aminoácido adicionales

15 [0175] Un ejercicio adicional en profundidad fue conducido para determinar fuentes adicionales de aminoácidos, que son adecuadas para incluir en combinaciones de fuentes de aminoácido que se pueden usar para cumplir con el perfil de aminoácido recomendado (es decir, el rango de ingesta dietética recomendada para cada amino esencial como se muestra en los ejemplos anteriores y, en particular, en la tabla 1).

20 [0176] Este ejercicio se hizo recogiendo datos en proteínas de la base de datos de UniProt, que contiene más de 500,000 entradas y determinando el perfil de aminoácido de cada proteína.

25 [0177] Estas fuentes de aminoácido se analizaron luego para ver si eran adecuadas (en combinación con otras fuentes de aminoácido) para encontrar el perfil de aminoácido recomendado, pero fueron también marcadas/priorizadas en base a un número de otros factores con su fuente, origen y disponibilidad, y cualquier propiedad indeseable (por ejemplo, cualquier proteína con propiedades alergénicas como gluten).

[0178] Se llegó las siguientes conclusiones clave:

(1) parece que no es posible identificar una fuente de proteínas intacta que por sí sola corresponda con el perfil de aminoácido recomendado.

30 (2) no parece posible encontrar el perfil de aminoácido recomendado usando dos fuentes de aminoácido, donde la primera fuente es proteína de leche de vaca y la segunda se incluye para asegurar que la combinación se corresponda con el perfil de aminoácido recomendado.

(3) aparece posible alcanzar el perfil de aminoácido recomendado usando una combinación de tres o más fuentes de aminoácido.

35 [0179] Para elaborarse en el punto (3), cabe señalar que fuentes adecuadas que se pueden usar en combinaciones parecen incluir suero de leche (incluyendo suero de leche ácido, suero de leche dulce, suero de leche enriquecido de alfa-lactalbúmina e hidrolizado de suero de leche), caseína (incluyendo beta-caseína e hidrolizado de caseína), leche desnatada, lactoferrina, colostro, proteína de leche de cabra, pescado (incluyendo hidrolizado de bacalao y krill de Neptuno), proteína de pollo (incluyendo hidrolizado de proteínas de pollo),  
40 proteína de cerdo (incluyendo hidrolizado de proteínas de cerdo), proteína de soja (incluyendo aislado de proteína de soja e hidrolizado de soja), proteína de guisante (incluyendo aislado de proteína de guisante e hidrolizado de proteínas de guisante), proteína de trigo (incluyendo hidrolizado de proteína de trigo), proteína de arroz (incluyendo hidrolizado de proteínas de arroz), salvado de arroz, proteína de patata (incluyendo aislado de proteína de patata), altramuces (incluyendo proteína de altramuces de semillas maduras y concentrado de altramuces dulces), algodón (incluyendo hidrolizado de semilla de algodón), canola, sésamo, maíz, avena,  
45 alubias (incluyendo fréjol), ferredoxina (derivada de varias fuentes de planta), fuentes de planta verde (incluyendo RuBisCO).

[0180] Algunas posibles combinaciones de fuentes de aminoácido incluyen combinaciones de:

50 a) proteína de suero de leche (enriquecida con alfa-lactalbúmina), proteína de guisante y proteína de arroz blanco (en cantidades relativas de 60:15:25 respectivamente con aminoácidos libres añadidos también para asegurar la adaptabilidad con los resultados de la tabla 1);

b) proteína de suero de leche (enriquecida con alfa-lactalbúmina), proteína de guisante y leche desnatada (en cantidades relativas de 25:8:67 respectivamente con aminoácidos libres añadidos también para asegurar su adaptabilidad con los resultados de la tabla 1);

55 c) proteína de suero de leche (enriquecida con alfa-lactalbúmina), proteína de guisante y proteína de leche de cabra (en cantidades relativas de 21:14:65 respectivamente con aminoácidos libres añadidos también para asegurar la adaptabilidad con los resultados de la tabla 1);

d) suero de leche dulce, suero de leche ácido y proteína de avena (en cantidades relativas de 54:21:25 respectivamente con aminoácidos libres añadidos también para asegurar la adaptabilidad de los resultados con la tabla 1);

60 e) suero de leche dulce, beta-caseína (bovina) y proteína de guisante (en cantidades relativas de 39:46:15 respectivamente con aminoácidos libres añadidos también para asegurar la adaptabilidad con los resultados de la tabla 1); y

f) proteína de suero de leche (enriquecida con alfa-lactalbúmina), proteína de guisante y proteína de patata (en cantidades relativas de 55:32:13 respectivamente con aminoácidos libres añadidos también para asegurar la adaptabilidad con los resultados de la tabla 1).

5 **Ejemplo 6:** estudios de crecimiento

[0181] Un modelo de lechón para evaluar el crecimiento plantea una vía beneficiosa de detección de efectos de composiciones de aminoácido alteradas en crecimiento, ya que el crecimiento de los cerdos es más rápido que el de los bebés. Por lo tanto, el modelo proporciona un modelo excelente para estudiar los efectos de cantidad de proteína y calidad en el crecimiento.

[0182] El objetivo del estudio de lechón fue determinar si una composición de aminoácido optimizada, dieta de fórmula de proteína baja se asocia con índices de crecimiento en lechones similares a los observados en lechones alimentados con una dieta de proteína normal con una composición de aminoácido no ajustada.

[0183] Setenta y nueve lechones (edad: 7 días) fueron separados de sus madres y alojados individualmente en jaulas durante 17 días y criados con un sistema de suministro de leche controlado automatizado. Los lechones fueron asignados de forma aleatoria a uno de los tres grupos, alimentados con las dietas siguientes: 1)

- 1) Fórmula infantil de control con niveles normales de proteína y una composición de aminoácido no ajustada a bebés (n=26);
- 2) fórmula de control con un 20% menos de proteína total sin ajuste de aminoácido (n= 27);
- 3) una fórmula con una composición de aminoácido optimizada basada en los resultados descritos en los ejemplos anteriores y con un 20% de proteína total inferior en comparación con el nivel de proteína de la dieta 1 (n=26).

[0184] La composición de cada dieta se muestra en la tabla 10. Todas las dietas fueron isocalóricas, proporcionando aproximadamente 3835 kJ/L. Durante el periodo de estudio la ingesta de leche fue ajustada cada segundo día según el peso corporal de los lechones. La cantidad de leche dada a cada lechón se basó en una ingesta de proteínas de 8 g/kg/día en el grupo de fórmula estándar que contenía 44 g de proteína/L. La proporción triptófano:aminoácidos neutrales grandes fue 1:16,5 (0,061); 1:16,1(0,062) y 1:33,5 (0,030) para dietas 1, 2 y 3, respectivamente.

Tabla 10: composición de macronutrientes y de aminoácidos esenciales de las dietas de lechón

| Cantidad por litro                | Dieta 1 | Dieta 2 | Dieta 3 |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|
| Carbohidrato (g)                  | 70      | 74      | 74      |
| Proteína (g)                      | 44      | 35      | 35      |
| Grasa (g)                         | 50      | 52      | 52      |
| Materia seca (g)                  | 169     | 166     | 166     |
| Energía (kJ)                      | 3838    | 3832    | 3832    |
| Aminoácidos esenciales (g)        |         |         |         |
| Cisteína                          | 1,4     | 1,1     | 1,0     |
| Histidina                         | 2,1     | 1,7     | 0,9     |
| Isoleucina                        | 3,2     | 2,6     | 2,6     |
| Leucina                           | 5,5     | 4,4     | 3,4     |
| Lisina                            | 3,7     | 3,0     | 3,2     |
| Metionina                         | 0,9     | 0,7     | 0,9     |
| Fenilalanina                      | 2,5     | 2,0     | 1,9     |
| Treonina                          | 2,7     | 2,2     | 1,6     |
| Triptófano                        | 1,1     | 0,9     | 0,4     |
| Tirosina                          | 2,5     | 2,0     | 1,9     |
| Valina                            | 3,5     | 2,8     | 2,7     |
| Triptófano: aminoácidos neutrales | 0,061   | 0,062   | 0,030   |

[0185] Los resultados de aumento de peso se presentan en la figura 9, donde se puede ver que el índice de crecimiento para las dietas de alimentación de lechones 1 y 3 fueron comparables entre sí, mientras el índice de crecimiento para la dieta de alimentación de lechones 2 fue menor. Se ha llegado a dos conclusiones claves: primero, el aumento de peso de los lechones en la dieta de aminoácido esencial optimizado (dieta 3) fue comparable a los lechones en la fórmula infantil de control de la dieta 1 y a este respecto cabe destacar que los niveles de proteína de las dos dietas fueron significativamente diferentes; y segundo, el aumento de peso de los lechones en la dieta de aminoácido esencial optimizada (dieta 3) fue superior en comparación con los lechones en la fórmula infantil de control de la dieta 2, y cabe destacar que los niveles de proteína de las dos dietas fueron iguales.



[0186] También debe observarse que la proporción de aminoácidos esenciales a aminoácidos no esenciales en la dieta 3 fue aproximadamente 50:50 que es similar a las dietas 1 y 2, y también en línea con la proporción típica de aminoácidos esenciales en leche materna humana y fórmulas disponibles comercialmente. Por lo tanto, se enfatiza que la dieta 3 sencillamente no implicó una disminución de los niveles de aminoácido esenciales totales relativamente a los niveles de aminoácido no esenciales para reducir el nivel total de proteína.

[0187] Estos resultados por lo tanto sugieren que la composición de aminoácido esencial optimizada nueva permite el aumento de peso superior en comparación con una composición que contiene la misma cantidad de proteína total y una composición de aminoácido esencial no ajustada. Los resultados sugieren también que la composición de aminoácido esencial optimizada nueva permite el aumento de peso similar en comparación con una composición que contiene una cantidad más alta de proteína total y una composición de aminoácido esencial no ajustada. Además, estas conclusiones no se pueden explicar por un aumento relativo o los aminoácidos esenciales (porque la proporción de aminoácidos esenciales a aminoácidos no esenciales en las tres dietas fue aproximadamente 50:50) pero por un cambio en la proporción de todos los aminoácidos esenciales.

[0188] Además, el desarrollo de órgano en los lechones de este estudio fue investigado. Ningún efecto de desarrollo adverso fue detectado en los lechones en la dieta de aminoácido esencial optimizado (dieta 3) relativamente a la fórmula infantil de control (dieta 1). Esto sugiere que el 20% de reducción de la carga de proteína con una composición de aminoácido optimizado no induce ningún déficit de crecimiento agudo o efecto de crecimiento desproporcional en los lechones.

[0189] Como tal, usando la nueva composición de aminoácido optimizado puede permitir la disminución eficaz de niveles de proteína en la fórmula infantil.

#### Referencias

[0190]

1. Baird J., Fisher D., Lucas P., Kleijnen J., Roberts H., Law C., "Being big or growing fast: Systematic review of size and growth in infancy and later obesity." *Br Med J* 2005; 331(7522); 929-931.
2. Benevenga N.J., and Steele R.D., "Adverse effects of excessive consumption of amino acids." *Annu Rev Nutr* 1984; 4; 157-81.
3. Boehm G., Cervantes H., Georgi G., Jelinek J., Sawatzki G., Wermuth B., Colombo J.P., "Effect of increasing dietary threonine intakes on amino acid metabolism of the central nervous system and peripheral tissues in growing rats." *Pediatr Res* 1998 Dec; 44(6); 900-6.
4. Castagné V., Moënoz D., Finot P.A., Maire J.C., "Effects of diet-induced hyperthreoninemia. I). Amino acid levels in the central nervous system and peripheral tissues." *Life Sci* 1993; 53(24); 1803-10.
5. Crill, C.M. and Helms, R.A., "The use of carnitine in pediatric nutrition." *Nutr Clin Pract* 2007; 22(2); 204-13.
6. Darling, P.B. et al., "Threonine kinetics in preterm infants fed their mothers' milk or formula with various ratios of whey to casein" *Am J Clin Nutr* 1999 Jan; 69(1); 105-114.
7. Dennison B.A., Edmunds L.S., Stratton H.H., Pruzek R.M., "Rapid infant weight gain predicts childhood overweight." *Obesity* 2006; 14(3); 491-499.
8. Dewey et al., "Growth of breastfed and formula-fed infants from 0 to 18 months." *Pediatrics* 1992; 89; 1035-1041.
9. Dewey, K.G., "Growth characteristics of breast-fed compared to formula-fed infants." *Biol Neonate* 1998; 74(2); 94-105.
10. Dörner G., Bewer G., Lubs H., "Changes of the plasma tryptophan to neutral amino acids ratio in formula-fed infants: possible effects on brain development" *Exp Clin Endocrinol* 1983 Nov; 82(3); 368-71.
11. Fomon S.J., et al., "Infant formula with protein-energy ratio of 1.7 g/100 kcal is adequate but may not be safe." *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 28(5); 495-501.
12. Gale, C. et al., "Effect of breastfeeding compared with formula feeding on infant body composition: a systematic review and meta-analysis." *Am J Clin Nutr* 2012; 95(3); 656-69.
13. Günther A.L., Buyken A.E., Kroke A., "Protein intake during the period of complementary feeding and early childhood and the association with body mass index and percentage body fat at 7 y of age." *Am J Clin Nutr* 2007 Jun; 85(6); 1626-33.
14. Harper A.E., Benevenga N.J., and Wohlhueter R.M., "Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids." *Physiol Rev* 1970; 50(3); 428-558.
15. Harvey M.S., et al., "Infantile hypermethioninemia and hyperhomocysteinemia due to high methionine intake: a diagnostic trap." *Mol Genet Metab* 2003; 79(1); 6-16.
16. Hayasaka S., Hara S., Mizuno K., Narisawa K., Tada K., "Leber's congenital amaurosis associated with hyperthreoninemia" *Am J Ophthalmol* 1986; 101; 475-479.
17. Heine W., Radke M., Wutzke K. D., Peters E., Kundt G., "a-Lactalbumin-enriched low-protein infant formulas: a comparison to breast milk feeding" *Acta Paediatr* 1996; 85; 1024-1028.
18. Heine W.E., "The significance of tryptophan in infant nutrition" *Adv Exp Med Biol* 1999; 467; 705-10.
19. Heinig, M.J. et al., "Energy and protein intakes of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life and their association with growth velocity: the DARLING Study." *Am J Clin Nutr* 1993; 58(2); 152-61.

20. Hogeveen M., et al., "Hyperhomocysteinemia as risk factor for ischemic and hemorrhagic stroke in newborn infants." *J Pediatr* 2002 141(3); 429-31.
21. Iiboshi, Y., et al., "Total parenteral nutrition decreases luminal mucous gel and increases permeability of small intestine." *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1994; 18(4); 346-50.
- 5 22. Koletzko, B. et al., "Global Standards for the Composition of Infant Formula: Recommendations of an ESPGHAN Coordinated International Expert Group" *JPGN* 2005 Nov; 41; 584-599.
23. Koletzko, B. et al., "Lower protein in infant formula is associated with lower weight up to age 2 y: a randomized clinical trial" *Am J Clin Nutr* 2009; 89; 1-10.
- 10 24. Koopmans S.J., Ruis M., Dekker R., Korte M., "Surplus dietary tryptophan inhibits stress hormone kinetics and induces insulin resistance in pigs." *Physiol Behav* 2009 Oct 19; 98(4); 402-410.
25. Kötting W.F., Bubenzer S., Helmbold K., Eisert A., Gaber T.J., Zepf F.D., "Effects of tryptophan depletion on reactive aggression and aggressive decision-making in young people with ADHD." *Acta Psychiatr Scand* 2012 Aug 22. doi: 10.1111/acps.12001.
- 15 26. Law, G.K., et al., "Adequate oral threonine is critical for mucin production and gut function in neonatal piglets." *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292(5); G1293-301.
27. Lien E.L., "Infant formulas with increased concentrations of alpha-lactalbumin." *Am J Clin Nutr* 2003 Jun; 77(6); 1555S-1558S.
28. Mato, J.M., et al., "S-Adenosylmethionine: a control switch that regulates liver function." *FASEB J* 2002; 16(1); 15-26.
- 20 29. Melnik, B.C., "Excessive Leucine-mTORC1-Signalling of Cow Milk-Based Infant Formula: The Missing Link to Understand Early Childhood Obesity" *Journal of Obesity* 2012. doi: 10.1155/2012/197653.
30. Metges, C.C. et al., "Kinetics of L-[1-(13)C]leucine when ingested with free amino acids, unlabeled or intrinsically labeled casein" *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278(6); E1000-9.
- 25 31. Ong K.K., Emmett P., Northstone K., Golding J., Rogers I., Ness A.R., et al. "Infancy weight gain predicts childhood body fat and age at menarche in girls." *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(5); 1527-1532.
32. Reddi O.S., "Threoninemia. A new metabolic defect" *J. Pediatr* 1978; 93; 814-816.
33. Rzehak P., Sausenthaler S., Koletzko S., Reinhardt D., von Berg A., Krämer U., Berdel D., Bollrath C., Grübl A., Bauer C.P., Wichmann H.E., Heinrich J., "Short- and long-term effects of feeding hydrolyzed protein infant formulas on growth at < or = 6 y of age: results from the German Infant Nutritional Intervention Study." *Am J Clin Nutr* 2009 Jun; 89(6); 1846-56.
- 30 34. Riccio, O., Jacobshagen M., Golding B., Vutskits L., Jabaudon D., Hornung J.P., Dayer A.G., "Excess of serotonin affects neocortical pyramidal neuron migration." *Transl Psychiatry* 2011 Oct 11; 1; e47, doi: 10.1038/tp.2011.49.
- 35 35. Rieber N., Mischler D., Schumacher V., Muth E., Bischoff S., Klosterhalfen S., Zipfel S., Enck P., "Acute tryptophan depletion increases experimental nausea but also induces hunger in healthy female subjects" *Neurogastroenterol Motil* 2010 Jul; 22(7); 752-7.
36. Riedijk M.A., Voortman G., van Goudoever J.B., "Use of [13C]bicarbonate for metabolic studies in preterm infants: intragastric versus intravenous administration." *Pediatr Res* 2005; 58; 861-4.
- 40 37. Rigo J., Boehm G., Georgi G., Jelinek J., Nyambugabo K., Sawatzki G., Studzinski F., "An Infant Formula Free of Glycomacropeptide Prevents Hyperthreoninemia in Formula-Fed Preterm Infants" *JPGN* 2001; 32; 127-130.
38. Taveras E.M., Rifas-Shiman S.L., Belfort M.B., Kleinman K.P., Oken E., Gillman M.W., "Weight status in the first 6 months of life and obesity at 3 years of age." *Pediatrics* 2009; 123(4); 1177-1183.
- 45 39. Trabulsi J., Capeding R., Lebumfacil J., Ramanujam K., Feng P., McSweeney S., Harris B., DeRusso P., "Effect of an  $\alpha$ -lactalbumin-enriched infant formula with lower protein on growth." *Eur J Clin Nutr* 2011 Feb; 65(2); 167-74.
40. Tzoulaki I., Sovio U., Pillas D., Hartikainen A., Pouta A., Laitinen J., et al. "Relation of immediate postnatal growth with obesity and related metabolic risk factors in adulthood." *Am J Epidemiol* 2010; 171(9); 989-998
- 50 41. Sandström O., Lönnerdal B., Graverholt G., Hernell O., "Effects of alpha-lactalbumin-enriched formula containing different concentrations of glycomacropeptide on infant nutrition." *Am J Clin Nutr* 2008 Apr; 87(4); 921-8.
42. Shaw, V. and Lawson, M. *Paediatric Dietetics* 2001, 2nd ed. Oxford: Blackwell Science.
- 55 43. Silverwood R.J., De Stavola B.L., Cole T.J., Leon D.A., "BMI peak in infancy as a predictor for later BMI in the Uppsala Family Study." *Int J Obes* 2009; 33(8); 929-937.
44. Snyderman S.E., et al., "The plasma aminogram. I. Influence of the level of protein intake and a comparison of whole protein and amino acid diets." *Pediatr Res* 1968; 2(2); 131-44.
- 60 45. Socha P., Grote V., Gruszfeld D., Janas R., Demmelmair H., Closa-Monasterolo R., Subías J.E., Scaglioni S., Verduci E., Dain E., Langhendries J.P., Perrin E., Koletzko B., "Milk protein intake, the metabolic-endocrine response, and growth in infancy: data from a randomized clinical trial." *Am J Clin Nutr* 2011 Dec; 94(6 Suppl); 1776S-1784S.
46. Suryawan A., Davis T.A., "Regulation of protein synthesis by amino acids in muscle of neonates" *Front Biosci* 2011; 16; 1445-1460.
- 65 47. Tome, D. and Bos, C., "Lysine requirement through the human life cycle." *J Nutr* 2007; 137(6 Suppl 2); 1642S-1645S.

48. van der Schoor, S.R. et al., "Validation of the direct nasopharyngeal sampling method for collection of expired air in preterm neonates." *Pediatr Res* 2004; 55(1); 50-54.

49. van der Schoor, S.R., et al., "The gut takes nearly all: threonine kinetics in infants." *Am J Clin Nutr* 2007; 86(4); 1132-8.

5 50. van Goudoever J.B., Sulkers E.J., Chapman T.E., et al. "Glucose kinetics and gluco regulatory hormone levels in ventilated preterm infants on the first day of life." *Pediatr Res* 1993; 33; 583-9.

51. van Loon L.J., et al., "Ingestion of protein hydrolysate and amino acid-carbohydrate mixtures increases post exercise plasma insulin responses in men." *J Nutr* 2000; 130(10); 2508 - 13.

10 52. Vergnes M., Kempf E., "Tryptophan deprivation: effects on mouse-killing and reactivity in the rat." *Pharmacol Biochem Behav* 1981; 14 Suppl 1; 19-23.

53. Viadel, B., et al., "Amino acid profile of milk-based infant formulas." *Int J Food Sci Nutr* 2000; 51(5); 367-72. 54. WHO MULTICENTRE GROWTH REFERENCE STUDY GROUP "WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age" *Acta Paediatrica* 2006; Suppl 450; 76-85.

15 55. WHO/FAO/UNU, Protein and amino acid requirements in human nutrition. WHO Technical Report Series, 2007(935): p. 1-265.

56. Zello, G.A. et al., "Dietary lysine requirement of young adult males determined by oxidation of 1-[1-13C]phenylalanine" *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1993; 264; E677-E685.

20 [0191] En este documento y en sus reivindicaciones, el verbo "comprimir" y sus conjugaciones se usa en un sentido no limitativo para significar que esos aspectos después de la palabra se incluyen, pero artículos no específicamente mencionados no se excluyen. Además, en referencia a un elemento por el artículo indefinido "un" o "una" no excluye la posibilidad de que más de uno de los elementos esté presente, a menos que el contexto requiera claramente que haya uno y solo uno de los elementos. El artículo indefinido "un" o "una" significa así normalmente "al menos uno".

25

**REIVINDICACIONES**

1. Fórmula infantil o de continuación que comprende una composición proteínica que comprende:
- a) 3,2-5,0 g de treonina por 100 g de proteína;
  - b) 0,7-1,1 g de triptófano por 100 g de proteína;
  - c) una proporción de triptófano para la suma de todos los aminoácidos neutrales isoleucina, leucina, valina, fenilalanina, tirosina y metionina de 0,030 a 0,025; y
  - d) 5,0-7,8 g de isoleucina por 100 g de proteína, 6,6-10,3 g de leucina por 100 g de proteína, 6,2-9,7 g de lisina por 100 g de proteína, 1,8-2,8 g de metionina por 100 g de proteína y 5,2-8,1 g de valina por 100 g de proteína,
- donde la fórmula comprende un nivel de ingesta de proteína de:
- 1,4 a 1,8 g de proteína por 100 kcal de la fórmula; o
  - 0,9 a 1,2 g de proteína por 100 ml de la fórmula.
2. Fórmula según la reivindicación 1, que comprende además 1,9 – 3,0 g de histidina, 3,8 – 5,9 g de fenilalanina, 1,2 – 4,0 g de cisteína y 2,6 – 8,4 g de tirosina, por 100 g de proteína.
3. Fórmula según la reivindicación 1 o 2, donde la fórmula:
- a. comprende 45-52 mg de treonina por 100 mL de fórmula y/o
  - b. comprende 10-12 mg de triptófano por 100 mL de fórmula y/o
  - c. proporciona o está formulada para proporcionar treonina en una cantidad de 68-78 mg/kg de peso corporal/día; y/o
  - d. proporciona o está formulada para proporcionar triptófano en una cantidad de 15-17 mg/kg de peso corporal/día.
4. Fórmula según la reivindicación 3, que comprende 45-52 mg de treonina por 100 mL de fórmula y 10-12 mg de triptófano por 100 mL de fórmula.
5. Fórmula según la reivindicación 4, donde la fórmula proporciona o está formulada para proporcionar treonina en una cantidad de 68-78 mg/kg de peso corporal/día y la fórmula proporciona o está formulada para proporcionar triptófano en una cantidad de 15-17 mg/kg de/día de peso corporal.
6. Método no terapéutico para promover, ayudar o conseguir el crecimiento o desarrollo del cuerpo de un bebé, que comprende la administración a dicho infante de la fórmula según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 5.

Fig. 1

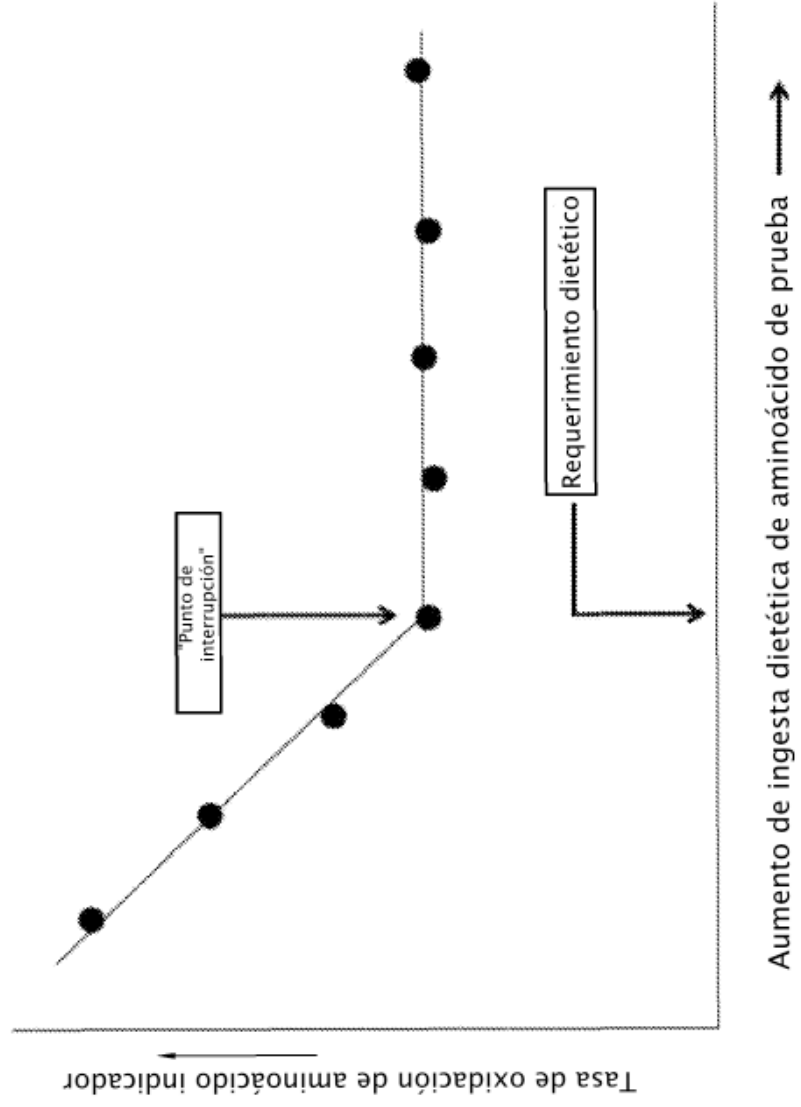


Fig. 2

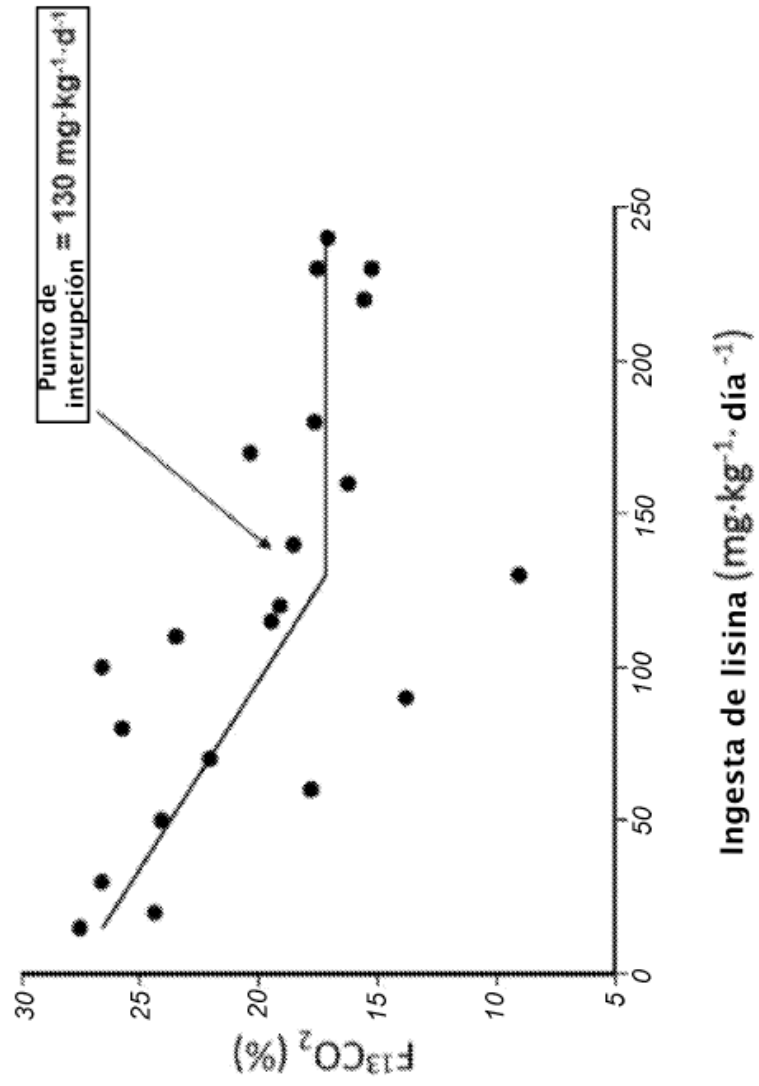


Fig. 3

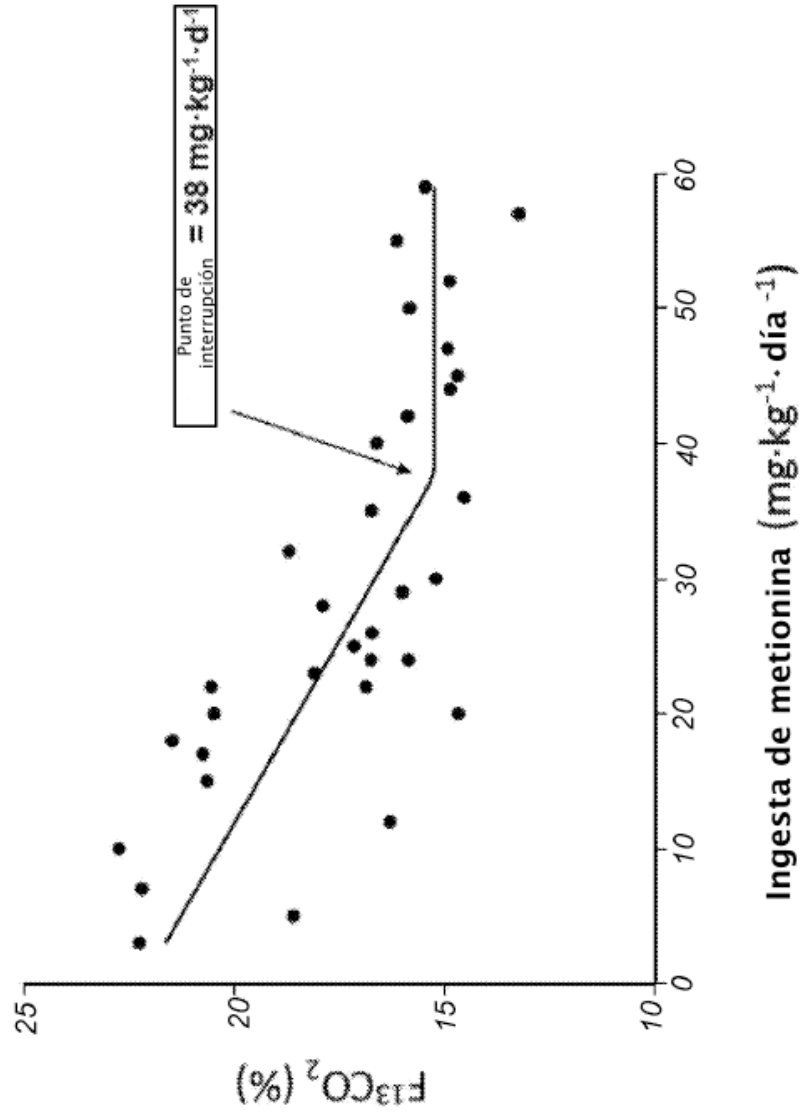


Fig. 4

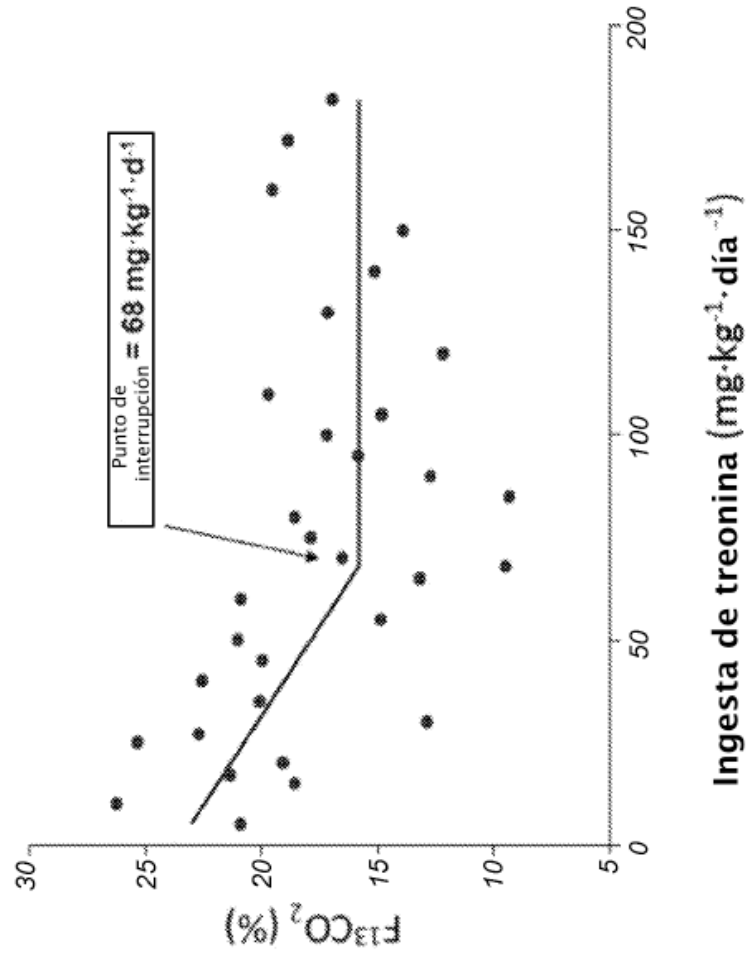
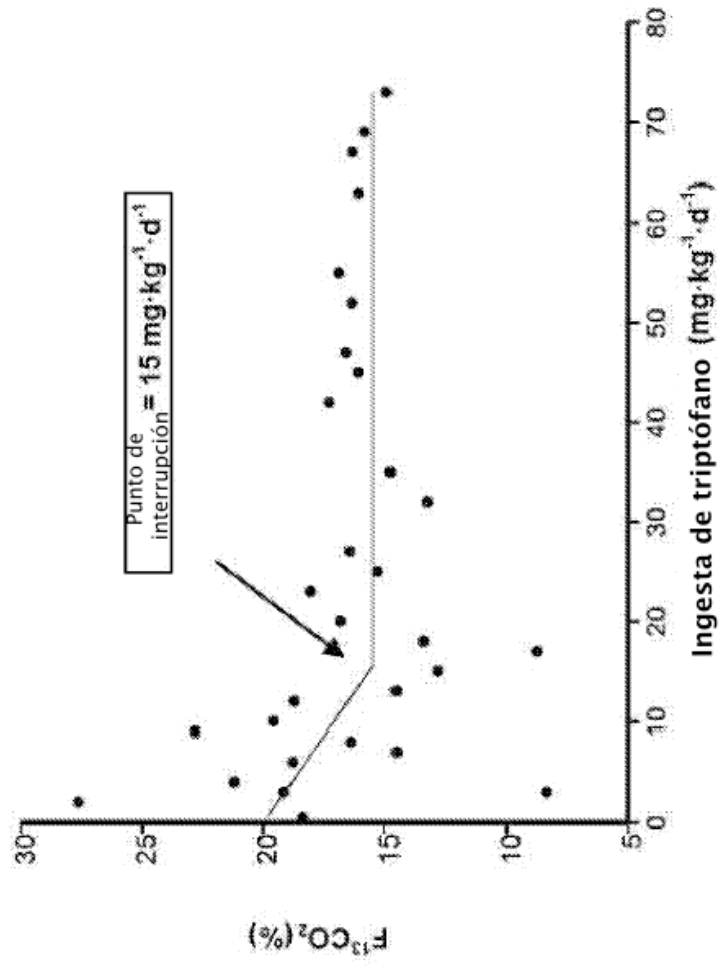




Fig. 5



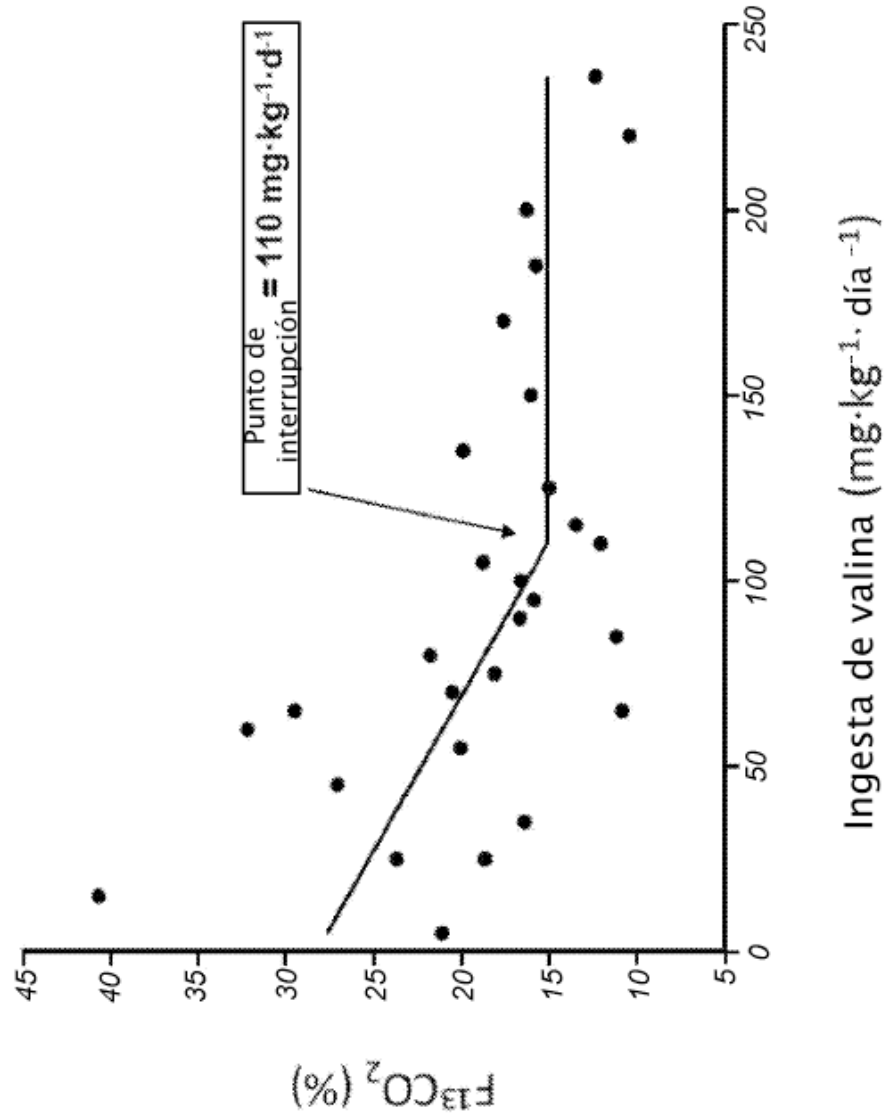


Fig. 6

Fig. 7

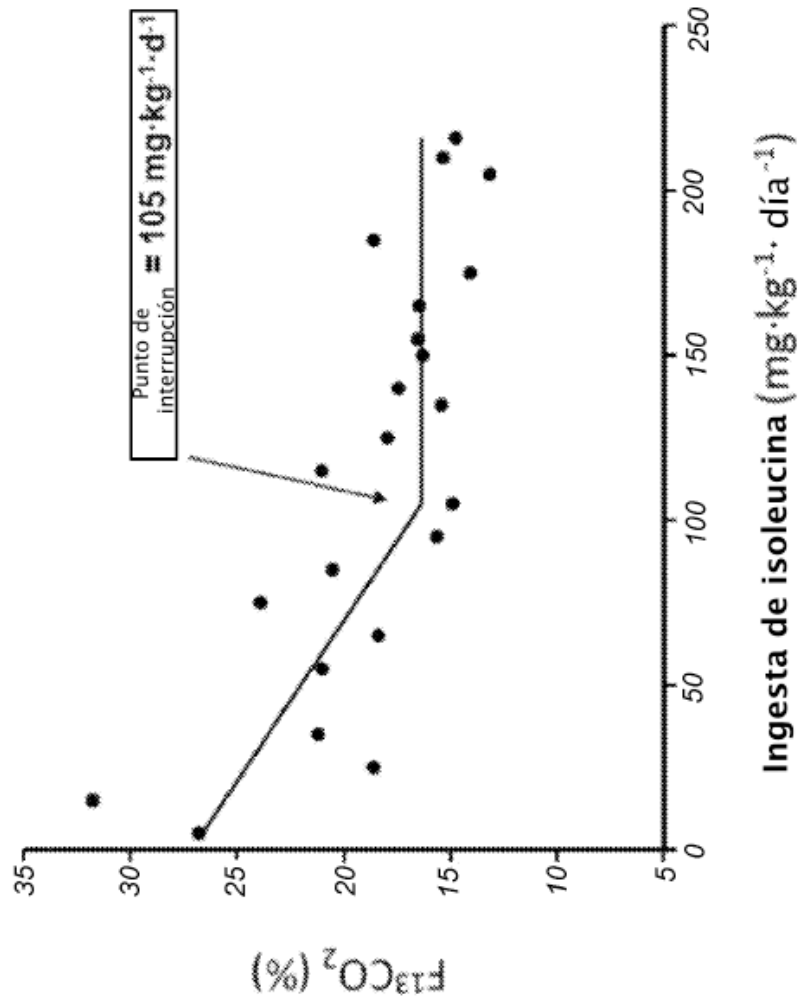
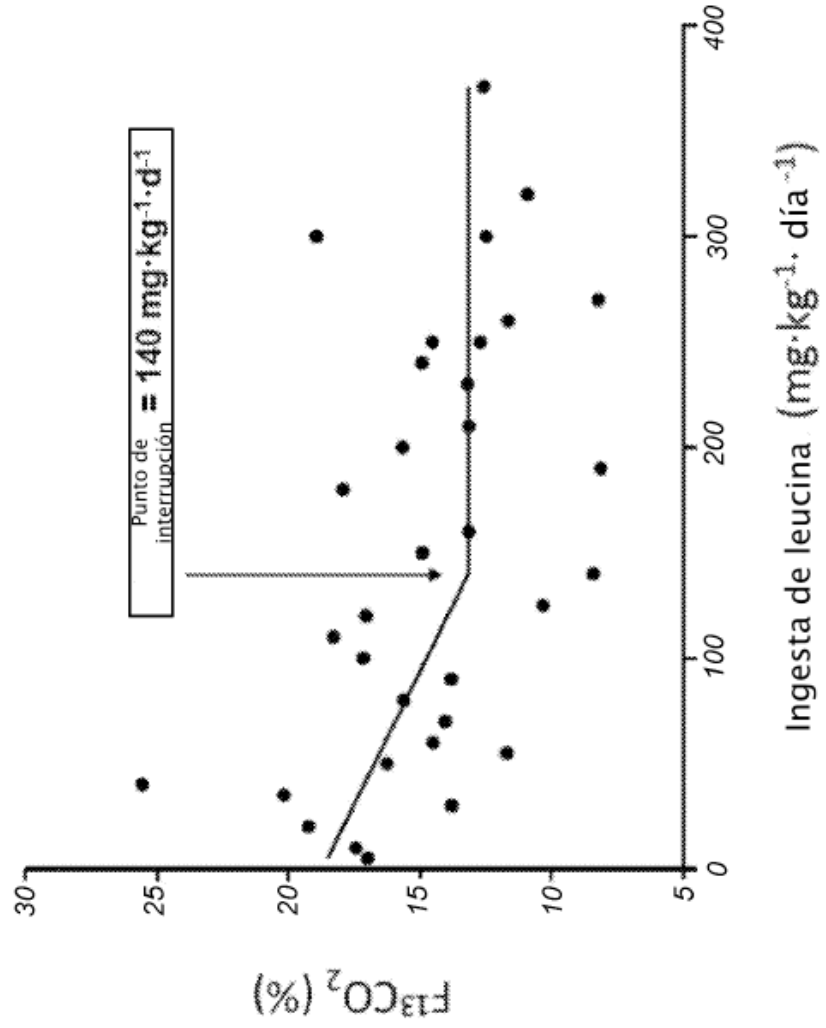


Fig. 8



*Fig. 9*

