

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 773 670**

(51) Int. Cl.:

**A61K 31/201** (2006.01)  
**A61K 35/60** (2006.01)  
**A61K 36/02** (2006.01)  
**A61K 31/575** (2006.01)  
**A61K 31/683** (2006.01)  
**A61K 31/7028** (2006.01)  
**A23L 33/00** (2006.01)  
**A23L 33/115** (2006.01)  
**A23L 33/21** (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.09.2009 PCT/NL2009/050525**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **11.03.2010 WO10027258**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.09.2009 E 09811749 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 2346355**

(54) Título: **Composiciones nutricionales con glóbulos lipídicos de diámetro grande con un recubrimiento que comprende lípidos polares**

(30) Prioridad:

**02.09.2008 EP 08163478**  
**02.09.2008 US 93548 P**

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

**14.07.2020**

(73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

**VAN BAALEN, ANTONIE;**  
**VAN DER BEEK, ELINE MARLEEN;**  
**BEERMANN, CHRISTOPHER y**  
**BOEHM, GÜNTHER**

(74) Agente/Representante:

**TOMAS GIL, Tesifonte Enrique**

### Observaciones:

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

**ES 2 773 670 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

Composiciones nutricionales con glóbulos lipídicos de diámetro grande con un recubrimiento que comprende lípidos polares

5

### CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0001] La invención está relacionada con el campo de las fórmulas de leche infantil y las leches de crecimiento para la prevención de la obesidad más adelante en la vida.

10

### ANTECEDENTES

[0002] La lactancia materna es el método preferido para alimentar a los bebés. Sin embargo, hay circunstancias que hacen que la lactancia sea imposible o menos deseable. En esos casos, las fórmulas infantiles son una buena alternativa. La composición de las fórmulas infantiles modernas está adaptada de tal manera que cumple con muchas de las necesidades nutricionales especiales del bebé en rápido crecimiento y desarrollo.

[0003] Aún así, parece que se pueden hacer mejoras en cuanto a la constitución de las fórmulas de leche infantil. Los bebés alimentados con leche materna tienen una menor probabilidad de padecer obesidad más adelante en la vida, en comparación con los bebés alimentados con fórmula, pero se sabe poco sobre los efectos de los ingredientes de las fórmulas infantiles sobre la obesidad más adelante en la vida. Hasta ahora, la mayoría de las investigaciones se dedican al papel de la concentración de proteínas o de la composición de ácidos grasos. La obesidad es un problema de salud importante en el mundo occidental. Es una afección médica en la que el exceso se acumula de tal manera que puede tener un efecto adverso sobre la salud, lo que reduce la esperanza de vida y se asocia con muchas enfermedades, particularmente enfermedades cardíacas y diabetes de tipo 2. La obesidad es una de las principales causas de muerte evitables en todo el mundo, con una prevalencia cada vez mayor en adultos y niños, y las autoridades lo consideran uno de los problemas de salud pública más graves del siglo XXI.

[0004] La presente invención está relacionada con dicha futura composición corporal sana.

30

[0005] La patente WO 2007/073194 se refiere a fórmulas infantiles que comprenden fosfolípidos, esfingolípidos y colesterol para la prevención de la obesidad. WO 2007/073193 se refiere a fórmulas infantiles con una relación específica de ácido linoleico a ácido alfa-linolénico, bajo contenido de ácido linoleico y que comprende fosfolípidos, esfingolípidos, colesterol y/o colina más uridina para la prevención de la obesidad más adelante en la vida. La patente EP1800675 se refiere a una composición con ácidos grasos poliinsaturados, proteínas y manganeso y/o molibdeno para mejorar la composición de la membrana para el tratamiento de una amplia variedad de trastornos.

[0006] Michalski et al, 2005, J Dairy Sci 88: 1927-1940 revela la distribución del tamaño de los glóbulos lipídicos en la leche humana y la fórmula infantil. La patente WO 2005/051091 se refiere a una combinación de lípidos que, al dispersarse o emulsionarse en un medio esencialmente acuoso con otros ingredientes de fórmula infantil, forma una dispersión o emulsión sustancialmente homogénea que tiene una microestructura que contiene glóbulos lipídicos que es esencialmente mimética de la microestructura globular correspondiente de los HMF naturales. La patente SU 1084006 revela alimentos para niños y personas inválidas con un tamaño de glóbulo lipídico de 4 µM de diámetro, similar a la leche humana.

45

### RESUMEN DE LA INVENCIÓN

[0007] Los inventores han descubierto sorprendentemente que el tamaño del glóbulo lipídico en las fórmulas infantiles afecta a la composición corporal más adelante en la vida. La selección específica del tamaño del glóbulo lipídico en las fórmulas infantiles da como resultado una disminución de la masa grasa y/o una disminución de la obesidad más adelante en la vida. La selección específica del tamaño del glóbulo lipídico en las fórmulas infantiles también resultó en un aumento de la masa corporal magra más adelante en la vida. Cuando se administró temprano en la vida una fórmula infantil de la presente invención que comprendía lípidos con un tamaño de glóbulo lipídico mayor que el presente en las fórmulas infantiles convencionales, se observó que más adelante en la vida la composición corporal cambiaba, lo que resultó en menos masa grasa y menos masa grasa en relación con el peso corporal total y un aumento de la masa corporal magra en comparación con la composición corporal al administrar fórmula infantil convencional. En particular, se redujo la obesidad visceral, que está más asociada con problemas de salud. En particular, se redujo la hipertrofia adipocitaria. Se cree que la obesidad causada por la hipertrofia de los adipocitos es indicativa de la aparición de obesidad más adelante en la vida y está más asociada con problemas de salud como la resistencia a la insulina que la obesidad causada por la hiperplasia adipocitaria.

[0008] La diferencia considerable entre las fórmulas investigadas fue el tamaño de los glóbulos lipídicos, mientras que el perfil de ácidos grasos fue similar en las fórmulas.

65

[0009] Las fórmulas investigadas permitieron además un buen crecimiento y desarrollo similar temprano en la vida y, más particularmente, no tuvieron ningún efecto sobre la masa grasa al principio de la vida. Por lo tanto, no hubo

un efecto directo, es decir, un efecto preventivo de la obesidad, de la dieta. Esto es ventajoso, ya que para los bebés y los niños pequeños la masa grasa tiene un papel importante en el almacenamiento de energía, el aislamiento, el almacenamiento de vitaminas liposolubles y el desarrollo hormonal, como el desarrollo de la sensibilidad a la leptina y a la insulina y, por lo tanto, es deseable disminuir la masa grasa en los bebés y niños pequeños.

[0010] Un efecto incluso mejorado en la masa grasa, y en la masa grasa con respecto a la masa corporal total más adelante en la vida, se observó cuando los glóbulos lipídicos grandes estaban recubiertos por una capa externa de lípidos polares. Esta mejora no podría explicarse por la presencia de los propios lípidos polares, ya que la mera adición de lípidos polares sin recubrimiento de los glóbulos lipídicos no mostró estos efectos mejorados.

[0011] Las fórmulas de leche infantil estándar tienen grasa vegetal como componente lipídico. El lípido se homogeneiza para crear una emulsión estable y los glóbulos lipídicos son pequeños, con un diámetro modal ponderado en volumen de aproximadamente 0,3 - 0,6 µm. Menos del 55 % en volumen sobre los lípidos totales, típicamente menos del 35 % en volumen, tiene un tamaño entre 2 y 12 µm. Los glóbulos lipídicos están cubiertos en gran parte con proteínas de la leche, en particular caseína.

[0012] La presente invención se refiere a fórmulas infantiles o leches de crecimiento para niños pequeños que comprenden grasas vegetales con un tamaño de glóbulo lipídico mayor que el de las fórmulas infantiles estándar.

La presente composición comprende glóbulos lipídicos con un diámetro modal ponderado por volumen de los lípidos por encima de 1,0 µm, preferiblemente entre 1,0 y 10 µm, y/o con al menos 45, más preferiblemente al menos 55 % en volumen con un diámetro de 2 a 12 µm sobre los lípidos totales. Esto se puede lograr al homogeneizar el componente lipídico que comprende grasa vegetal a presiones más bajas, preferiblemente en presencia de lípidos polares, para recubrir los glóbulos lipídicos agrandados y hacerlos más estables. Se ha descubierto que la emulsión de aceite en agua obtenida de este modo es estable durante al menos 48 h. En especial, cuando las fórmulas se secan hasta convertirlas en polvo y posteriormente se reconstituyen con agua para obtener una fórmula lista para beber poco antes de su uso, no se observan efectos desventajosos con respecto a la estabilidad.

[0013] Sorprendentemente, ahora se ha descubierto que el tamaño del glóbulo lipídico administrado temprano en la vida es uno de los factores determinantes que afectan a la composición corporal, en particular a la masa grasa, más en particular a la masa grasa visceral y a la masa corporal magra, más adelante en la vida. Este efecto sobre la masa grasa fue aún más pronunciado cuando los glóbulos lipídicos grandes se recubrieron con lípidos polares como los fosfolípidos. Dado que ventajosamente no se observaron efectos agudos de la dieta sobre la composición corporal, se concluye que la dieta programó el cuerpo o dejó una impronta en él de tal manera que resultó en el desarrollo de una composición corporal mejorada más adelante en la vida después de un posterior crecimiento en condiciones similares.

[0014] Por lo tanto, la presente invención se puede usar para composiciones alimenticias destinadas a bebés y/o niños pequeños con el fin de prevenir la obesidad, la obesidad visceral, aumentar la masa corporal magra y/o disminuir la masa grasa más adelante en la vida.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0015] La presente invención se refiere, por lo tanto, a una composición nutricional que comprende

- a) de 10 a 50 % en peso de lípidos vegetales sobre el peso en seco de la composición, y
- b) glóbulos lipídicos

i) con un diámetro modal ponderado por volumen superior a 1,0 µm, preferiblemente entre 1,0 y 10 µm, y/o  
ii) con un diámetro de 2 a 12 µm en una cantidad de al menos 45, más preferiblemente al menos 55 % en volumen sobre los lípidos totales.

y en donde la composición comprende de 0,3 a 25 % en peso de lípidos polares sobre los lípidos totales, en donde los lípidos polares son la suma de fosfolípidos, glucoesfingolípidos y colesterol,

y en donde la distribución de volumen y tamaño de los glóbulos lipídicos se determina por el método descrito en Michalski et al, 2001, Lait 81: 787-796, utilizando un Mastersizer, Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido, como analizador de tamaño de partícula, y en donde los glóbulos lipídicos están recubiertos con una capa de lípidos polares, y en donde la composición comprende una relación en peso de ácido linoleico a ácido alfa-linolénico de entre 2 y 15,

para usar en la prevención de la obesidad y/o para reducir el riesgo de obesidad, en donde la composición nutricional es para alimentar a un sujeto humano con una edad de entre 0 y 36 meses y para prevenir la obesidad más adelante en la vida y/o reducir el riesgo de obesidad más adelante en la vida, cuando dicho sujeto humano tiene una edad superior a los 18 años.

[0016] En aras de la claridad, se observa que los glóbulos lipídicos como se definen en b) comprenden lípidos vegetales como se definen en a) o, en otras palabras, que a) y b) se superponen.

[0017] Además, la invención se refiere a una composición nutricional que comprende

- 5      a) del 10 al 50 % en peso de lípidos vegetales sobre el peso en seco de la composición, y
- 10     b) glóbulos lipídicos
  - i) con un diámetro modal ponderado por volumen superior a 1,0 µm, preferiblemente entre 1,0 y 10 µm, y/o
  - ii) con un diámetro de 2 a 12 µm en una cantidad de al menos 45 % en volumen, más preferiblemente al menos 55 % en volumen sobre los lípidos totales, y
- 15     c) del 0,6 al 25 % en peso de lípidos polares sobre los lípidos totales, en donde los lípidos polares incluyen fosfolípidos, glucoesfingolípidos y colesterol, y en donde los lípidos polares son la suma de fosfolípidos, glucoesfingolípidos y colesterol sobre los lípidos totales, y en donde la distribución de volumen y tamaño de los glóbulos lipídicos se determina por el método descrito en Michalski et al, 2001, Lait 81: 787-796, usando un Mastersizer, Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido, como analizador de tamaño de partícula, y en donde los glóbulos lipídicos están recubiertos con una capa de lípidos polares, y en donde la composición comprende una relación en peso de ácido linoleico a ácido alfa-linolénico de entre 2 y 15.

#### Obesidad

25 [0018] La presente composición se administra preferiblemente a un sujeto humano con una edad inferior a 36 meses, preferiblemente inferior a 18 meses, más preferiblemente inferior a 12 meses, incluso más preferiblemente inferior a 6 meses. Preferiblemente, el sujeto humano no está obeso y/o no padece sobrepeso.

30 [0019] La obesidad en la presente invención se refiere a un exceso de masa grasa corporal. La masa grasa también se conoce como tejido adiposo o tejido graso. Una persona humana adulta padece obesidad si más del 25 % en peso (para los hombres) o más del 30 % en peso (para las mujeres) del peso corporal es masa grasa. La obesidad a veces se conoce como adiposidad.

35 [0020] Las formas adecuadas para determinar el % de masa grasa corporal son el pesaje hidrostático, la medición de los pliegues cutáneos, el análisis de impedancia bioeléctrica, la tomografía computarizada (TC/TAC), la resonancia magnética (RM/RMN), la ecografía y la absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA). Un método preferido es la medición por DEXA. En el contexto de esta invención, la masa grasa corporal se determina por DEXA.

40 [0021] El aumento del riesgo de problemas de salud más adelante en la vida, como diabetes y enfermedades cardiovasculares, está relacionado con la aparición de adiposidad visceral y no con la obesidad general. El término "obesidad visceral" se refiere a una afección con aumento del tejido adiposo visceral. La adiposidad visceral generalmente es causada por (acumulación de) tejido graso visceral excesivo. La grasa visceral, también conocida como grasa de los órganos, grasa intraabdominal, grasa peritoneal o grasa central, normalmente se encuentra dentro de la cavidad peritoneal, por oposición a la grasa subcutánea que se encuentra debajo de la piel y la grasa intramuscular que se encuentra intercalada en los músculos esqueléticos. La grasa visceral incluye la grasa abdominal que rodea los órganos vitales e incluye la grasa mesentérica, la grasa perirrenal, la grasa retroperitoneal y la grasa preperitoneal (grasa que rodea el hígado). Una circunferencia de cintura superior a 102 cm en el hombre adulto o superior a 88 cm en la mujer adulta indica la presencia de adiposidad visceral. Una relación cadera-cintura superior a 0,9 en el hombre y a 0,85 en la mujer indica adiposidad visceral. Para niños de 3 a 19 años, se pueden encontrar límites apropiados para las circunferencias de cintura dependientes de la edad y el sexo en Taylor et al, 2000 Am J Clin Nutr 72: 490-495. Un sujeto padece adiposidad visceral cuando cumple con uno o más de los criterios anteriores (con respecto al TAV, los umbrales de circunferencia de la cintura o de la relación cintura-cadera).

#### Componente lipídico

55 [0022] La presente composición comprende lípidos. Los lípidos proporcionan preferiblemente del 30 al 60 % de las calorías totales de la composición. Más preferiblemente, la presente composición comprende lípidos que proporcionan del 35 al 55 % de las calorías totales, incluso más preferiblemente la presente composición comprende lípidos que proporcionan del 40 al 50 % de las calorías totales. Cuando está en forma líquida, por ejemplo como un líquido listo para consumir, la composición comprende preferiblemente de 2,1 a 6,5 g de lípidos por 100 ml, más preferiblemente de 3,0 a 4,0 g por 100 ml. En función del peso en seco, la presente composición comprende preferiblemente del 10 al 50 % en peso, más preferiblemente del 12,5 al 40 % en peso de lípidos, incluso más preferiblemente del 19 al 30 % en peso de lípidos.

[0023] Los lípidos incluyen lípidos polares (como fosfolípidos, glucolípidos, esfingomielina y colesterol), monoglicéridos, diglicéridos, triglicéridos y ácidos grasos libres. Preferiblemente, la composición comprende al menos 75 % en peso, más preferiblemente al menos 85 % en peso de triglicéridos sobre los lípidos totales.

5 [0024] Los lípidos de la presente invención comprenden lípidos vegetales. La presencia de lípidos vegetales permite ventajosamente un perfil óptimo de ácidos grasos, alto en ácidos grasos (poli)insaturados y/o que recuerda más a la grasa de la leche humana. El uso de lípidos de la leche de vaca únicamente, o de otros mamíferos domésticos, no proporciona un perfil óptimo de ácidos grasos. Se sabe que este perfil de ácidos grasos menos óptimo, como una gran cantidad de ácidos grasos saturados, aumenta la obesidad. Preferiblemente, la presente composición comprende al menos una, preferiblemente al menos dos fuentes de lípidos seleccionadas del grupo que consiste en aceite de linaza (aceite de semilla de lino), aceite de semilla de colza (tal como aceite de colza, aceite de semilla de colza con bajo contenido de ácido erúcico y aceite de canola), aceite de salvia, aceite de perilla, aceite de verdolaga, aceite de arándano rojo, aceite de espino amarillo, aceite de cáñamo, aceite de girasol, aceite de girasol alto oleico, aceite de cártamo, aceite de cártamo alto oleico, aceite de oliva, aceite de semilla de grosella negra, aceite de vivera, aceite de coco, aceite de palma y aceite de semilla de palma. Preferiblemente, la presente composición comprende al menos una, preferiblemente al menos dos fuentes de lípidos seleccionadas del grupo que consiste en aceite de linaza, aceite de canola, aceite de coco, aceite de girasol y aceite de girasol alto oleico. Los lípidos vegetales disponibles en el mercado se ofrecen típicamente en forma de una fase oleosa continua. Cuando está en forma líquida, por ejemplo como un líquido listo para consumir, la composición comprende preferiblemente de 2,1 a 6,5 g de lípidos vegetales por 100 ml, más preferiblemente de 3,0 a 4,0 g por 100 ml. Sobre el peso en seco, la presente composición comprende preferiblemente del 10 al 50 % en peso, más preferiblemente del 12,5 al 40 % en peso de lípidos vegetales, incluso más preferiblemente del 19 al 30 % en peso. Preferiblemente, la composición comprende del 50 al 100 % en peso de lípidos vegetales sobre los lípidos totales, más preferiblemente del 70 al 100 % en peso, incluso más preferiblemente del 75 al 97 % en peso. Se observa, por lo tanto, que la presente composición también puede comprender lípidos no vegetales. Los lípidos no vegetales adecuados y preferidos se especifican adicionalmente a continuación.

#### Tamaño de los glóbulos lipídicos

30 [0025] Según la presente invención, los lípidos están presentes en la composición en forma de glóbulos lipídicos, emulsionados en la fase acuosa. Los glóbulos lipídicos de la presente invención tienen

35 1. un diámetro modal ponderado por volumen superior a 1,0 µm, preferiblemente superior a 3,0 µm, más preferiblemente 4,0 µm o superior, preferiblemente entre 1,0 y 10 µm, más preferiblemente entre 2,0 y 8,0 µm, incluso más preferiblemente entre 3,0 y 8,0 µm, de la manera más preferible entre 4,0 y 8,0 µm y/o  
 2. una distribución de tamaño de tal manera que al menos 45 % en volumen, preferiblemente al menos 55 % en volumen, incluso más preferiblemente al menos 65 % en volumen, incluso más preferiblemente al menos 75 % en volumen tiene un diámetro entre 2 y 12 µm. Más preferiblemente, al menos 45 % en volumen, preferiblemente al menos 55 % en volumen, incluso más preferiblemente al menos 65 % en volumen, incluso más preferiblemente al menos 75 % en volumen tiene un diámetro entre 2 y 10 µm. Incluso más preferiblemente, al menos 45 % en volumen, preferiblemente al menos 55 % en volumen, incluso más preferiblemente al menos 65 % en volumen, incluso más preferiblemente al menos 75 % en volumen tiene un diámetro entre 4 y 10 µm.

40 45 [0026] El porcentaje de glóbulos lipídicos se basa en el volumen de lípidos totales. El diámetro modal se refiere al diámetro que está más presente en función del volumen de lípidos totales, o el valor máximo en una representación gráfica, con el diámetro en el eje X y el volumen (%) en el eje Y. El volumen del glóbulo lipídico y su distribución de tamaño se pueden determinar adecuadamente utilizando un analizador de tamaño de partículas como un Mastersizer (Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido), por ejemplo, mediante el método descrito en Michalski et al, 2001, Lait 81: 787-796.

#### Lípidos polares

50 [0027] La presente invención comprende lípidos polares. Los lípidos polares son de naturaleza anfipática e incluyen glicerofosfolípidos, glucoesfingolípidos, esfingomielina y colesterol. En particular, la composición comprende fosfolípidos (la suma de glicerofosfolípidos y esfingomielina). Los lípidos polares de la presente invención se refieren a la suma de glicerofosfolípidos, glucoesfingolípidos, esfingomielina y colesterol. Los lípidos polares están presentes como un recubrimiento o capa externa del glóbulo lipídico. Se ha descubierto que la presencia de lípidos polares como recubrimiento o capa externa del glóbulo lipídico disminuye ventajosamente la masa grasa y la masa grasa relativa, es decir, la obesidad. La presencia de lípidos polares ayuda a mantener los glóbulos lipídicos emulsionados en la composición acuosa. Esto es especialmente importante cuando el tamaño del glóbulo lipídico es grande. Así, de acuerdo con la presente invención, los glóbulos lipídicos están recubiertos con una capa de fosfolípidos o lípidos polares. Por lo tanto, los glóbulos lipídicos comprenden un núcleo y un recubrimiento. El núcleo comprende grasa vegetal y preferiblemente comprende al menos 90 % en peso de triglicéridos y más preferiblemente consiste esencialmente en triglicéridos. El recubrimiento comprende fosfolípidos y/o lípidos polares. No todos los fosfolípidos y/o lípidos polares que están presentes en la composición tienen que estar

comprendidos necesariamente en el recubrimiento, pero preferiblemente una gran parte de ellos lo está. Preferiblemente más del 50 % en peso, más preferiblemente más del 70 % en peso, incluso más preferiblemente más del 85 % en peso, de la manera más preferible más del 95 % en peso de los fosfolípidos y/o lípidos polares que están presentes en la composición están comprendidos en el recubrimiento de glóbulos lipídicos. No todos los lípidos vegetales que están presentes en la composición tienen que estar comprendidos necesariamente en el núcleo de los glóbulos lipídicos, pero preferiblemente una gran parte de ellos lo está, preferiblemente más del 50 % en peso, más preferiblemente más del 70 % en peso, incluso más preferiblemente más del 85 % en peso, incluso más preferiblemente más del 95 % en peso, de la manera más preferible más del 98 % en peso de los lípidos vegetales que están presentes en la composición están comprendidos en el núcleo de los glóbulos lipídicos.

[0028] La presente composición comprende preferiblemente glicerofosfolípidos. Los glicerofosfolípidos son una clase de lípidos formados a partir de ácidos grasos esterificados en los grupos hidroxilo en el carbono 1 y el carbono 2 del resto de la cadena principal de glicerol y un grupo fosfato cargado negativamente unido al carbono 3 del glicerol a través de un enlace éster, y opcionalmente un grupo colina (en caso de fosfatidilcolina, PC), un grupo serina (en caso de fosfatidilsérina, PS), un grupo etanolamina (en caso de fosfatidiletanolamina, PE), un grupo inositol (en caso de fosfatidilinositol, PI) o un grupo glicerol (en caso de fosfatidilglicerol, PG) unido al grupo fosfato. Los lisofosfolípidos son una clase de fosfolípidos con una cadena de acilo graso. Preferiblemente, la presente composición contiene PC, PS, PI y/o PE, más preferiblemente al menos PC. Preferiblemente, los glicerofosfolípidos comprenden fosfolípidos cargados negativamente, en particular PS y/o PI. Los glicerofosfolípidos cargados negativamente mejoran ventajosamente la estabilidad de la emulsión de aceite en agua.

[0029] La presente composición comprende glucoesfingolípidos. El término glucoesfingolípidos como se usa en la presente invención se refiere particularmente a glucolípidos con un aminoalcohol, la esfingosina. La columna vertebral de la esfingosina está unida por O a un grupo principal cargado como la cadena principal de etanolamina, serina o colina. La cadena principal también está unida por un enlace amida a un grupo acilo graso. Los glucoesfingolípidos son ceramidas con uno o más residuos de azúcar unidos en un enlace  $\beta$ -glucosídico en la posición 1-hidroxilo. Preferiblemente, la presente composición contiene gangliósidos, más preferiblemente al menos un gangliósido seleccionado del grupo que consiste en GM3 y GD3.

[0030] La presente composición comprende preferiblemente esfingomielina. Las esfingomielinas tienen una molécula de fosforilcolina o fosforietanolamina esterificada en el grupo 1-hidroxi de una ceramida. Se clasifican como fosfolípidos y esfingolípidos, pero no se clasifican como glicerofosfolípidos ni como glucoesfingolípidos.

[0031] Los esfingolípidos se definen en la presente invención como la suma de esfingomielina y glucoesfingolípidos. Los fosfolípidos se definen en la presente invención como la suma de esfingomielina y glicerofosfolípidos. Preferiblemente, los fosfolípidos se derivan de los lípidos de la leche. Preferiblemente, la relación en peso de fosfolípidos:glucoesfingolípidos es de 2:1 a 10:1, más preferiblemente de 2:1 a 5:1.

[0032] La presente composición comprende fosfolípidos. Preferiblemente, la presente composición comprende del 0,2 al 20 % en peso de fosfolípidos sobre los lípidos totales, más preferiblemente del 0,5 al 20 % en peso de fosfolípidos sobre los lípidos totales, más preferiblemente del 0,5 al 10 % en peso, más preferiblemente del 1 al 10 % en peso, incluso más preferiblemente del 3 al 8 % en peso. Preferiblemente, la presente composición comprende del 0,1 al 10 % en peso de glucoesfingolípidos sobre los lípidos totales, más preferiblemente del 0,5 al 5 % en peso, incluso más preferiblemente del 2 al 4 % en peso. Preferiblemente, la presente composición comprende del 0,3 al 20 % en peso (glucoesfingolípidos más fosfolípidos) sobre los lípidos totales, más preferiblemente del 0,5 al 20 % en peso (glucoesfingolípidos más fosfolípidos) sobre los lípidos totales, más preferiblemente del 1 al 10 % en peso.

[0033] La presente composición comprende colesterol. La presente composición comprende preferiblemente al menos 0,005 % en peso de colesterol sobre los lípidos totales, más preferiblemente al menos 0,02 % en peso, más preferiblemente al menos 0,05 % en peso, incluso más preferiblemente al menos 0,1 % en peso. Preferiblemente, la cantidad de colesterol no excede el 10 % en peso sobre los lípidos totales, más preferiblemente no excede el 5 % en peso, incluso más preferiblemente no excede el 1 % en peso de los lípidos totales.

[0034] La presente composición comprende del 0,3 al 25 % en peso de lípidos polares sobre los lípidos totales, en donde los lípidos polares son la suma de fosfolípidos, glucoesfingolípidos y colesterol, más preferiblemente del 0,6 al 25 % en peso de lípidos polares sobre lípidos totales, más preferiblemente del 0,6 al 12 % en peso, más preferiblemente del 1 al 10 % en peso, incluso más preferiblemente del 3 al 10 % en peso.

[0035] Las fuentes preferidas para proporcionar los fosfolípidos, glucoesfingolípidos y/o colesterol son los lípidos del huevo, la grasa de la leche, la grasa de mazada y la grasa de suero de mantequilla (como la grasa de suero beta). Una fuente preferida de fosfolípidos, particularmente de PC, es la lecitina de soja y/o la lecitina de girasol. La presente composición comprende preferiblemente fosfolípidos derivados de la leche. Preferiblemente, la presente composición comprende fosfolípidos y glucoesfingolípidos derivados de la leche. Preferiblemente, también se obtiene colesterol de la leche. Preferiblemente, los lípidos polares se derivan de la leche. Los lípidos polares derivados de la leche incluyen los lípidos polares aislados de los lípidos de la leche, los lípidos de crema,

- los lípidos de suero de mantequilla (lípidos de suero beta), los lípidos de lactosuero, los lípidos de queso y/o los lípidos de suero de leche. Los lípidos de suero de leche se obtienen típicamente durante la fabricación de suero de mantequilla. El lípido de suero de mantequilla o el lípido de suero beta se obtiene típicamente durante la fabricación de grasa de leche anhidra a partir de mantequilla. Preferiblemente, los fosfolípidos, glucoesfingolípidos y/o colesterol se obtienen de la crema de la leche. La composición comprende preferiblemente fosfolípidos, glucoesfingolípidos y/o colesterol de leche de vacas, yeguas, ovejas, cabras, búfalas, équidos y camellas. Lo más preferido es usar un extracto de lípidos aislado de la leche de vaca. Los lípidos polares derivados de la leche grasa disminuyen ventajosamente la masa grasa en mayor medida que los lípidos polares de otras fuentes.
- Preferiblemente, los lípidos polares están ubicados en la superficie del glóbulo lipídico, es decir, como un recubrimiento o capa externa. Una forma adecuada de determinar si los lípidos polares se encuentran en la superficie de los glóbulos lipídicos es la microscopía de barrido láser como se describe en el ejemplo 1. El uso concomitante de lípidos polares derivados de la leche de animales domésticos y triglicéridos derivados de lípidos vegetales, por lo tanto, permite fabricar glóbulos lipídicos con una arquitectura más similar a la leche humana, al mismo tiempo que proporcionan un perfil óptimo de ácidos grasos. Las fuentes adecuadas comercialmente disponibles para los lípidos polares de la leche son BAEF, SM2, SM3 y SM4 en polvo de Corman, Salibra de Glanbia y LacProdan MFGM-10 o PL20 de Arla. Preferiblemente, la fuente de lípidos polares de la leche comprende al menos un 4 % en peso de fosfolípidos sobre los lípidos totales, más preferiblemente del 7 al 75 % en peso, más preferiblemente del 20 al 70 % en peso de fosfolípidos sobre los lípidos totales.
- [0036] Preferiblemente, la relación en peso de fosfolípidos a proteína es superior a 0,10, más preferiblemente superior a 0,20, incluso más preferiblemente superior a 0,3. Preferiblemente al menos 25 % en peso, más preferiblemente al menos 40 % en peso, de la manera más preferible al menos 75 % en peso de los lípidos polares se deriva de lípidos polares de la leche.
- 25 Composición de ácidos grasos**
- [0037] En este documento, LA se refiere a una cadena de acilo y/o ácido linoleico (18:2 n6); ALA se refiere a una cadena de acilo y/o ácido α-linolénico (18:3 n3); LC-PUFA se refiere a cadenas de acilo y/o ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga que comprenden al menos 20 átomos de carbono en la cadena de acilo graso y con 2 o más enlaces insaturados; DHA se refiere a una cadena de acilo y/o ácido docosahexaenoico (22:6, n3); EPA se refiere a una cadena de acilo y/o ácido eicosapentaenoico (20:5 n3); ARA se refiere a una cadena de acilo y/o ácido araquidónico (20:4 n6); DPA se refiere a una cadena de acilo y/o ácido docosapentaenoico (22:5 n3). Los ácidos grasos de cadena media (MCFA) se refieren a cadenas de acilo y/o ácido graso con una longitud de cadena de 6, 8 o 10 átomos de carbono.
- [0038] El LA está presente preferiblemente en una cantidad suficiente para fomentar un crecimiento y un desarrollo saludables, pero en una cantidad lo más baja posible para prevenir la aparición de obesidad más adelante en la vida. Por lo tanto, la composición comprende preferiblemente menos del 15 % en peso de LA sobre los ácidos grasos totales, preferiblemente entre el 5 y el 14,5 % en peso, más preferiblemente entre el 6 y el 10 % en peso. Preferiblemente, la composición comprende más del 5 % en peso de LA sobre los ácidos grasos. Preferiblemente, el ALA está presente en una cantidad suficiente para favorecer un crecimiento y un desarrollo saludables del bebé. Por lo tanto, la presente composición comprende preferiblemente al menos 1,0 % en peso de ALA sobre los ácidos grasos totales. Preferiblemente, la composición comprende al menos 1,5 % en peso de ALA sobre los ácidos grasos totales, más preferiblemente al menos 2,0 % en peso. Preferiblemente, la composición comprende menos del 10 % en peso de ALA, más preferiblemente menos del 5,0 % en peso sobre los ácidos grasos totales. La relación en peso de LA/ALA debe estar bien equilibrada para prevenir la obesidad y al mismo tiempo garantizar un crecimiento y un desarrollo normales. Por lo tanto, la presente composición comprende una relación en peso de LA/ALA entre 2 y 15, más preferiblemente entre 2 y 7, más preferiblemente entre 4 y 7, más preferiblemente entre 3 y 6, incluso más preferiblemente entre 4 y 5,5, incluso más preferiblemente entre 4 y 5.
- [0039] Dado que los MCFA contribuyen a una masa grasa reducida más adelante en la vida cuando se administra a un bebé, la presente composición comprende preferiblemente al menos 3 % en peso de MCFA sobre los ácidos grasos totales, más preferiblemente al menos 10 % en peso, incluso más preferiblemente 15 % en peso. Dado que los MCFA reducen el depósito de grasa corporal sin preferencia por la masa grasa central, y dado que los MFCA no disminuyen el número de adipocitos, la presente composición comprende ventajosamente menos del 50 % en peso de MCFA sobre los ácidos grasos totales, más preferiblemente menos del 40 % en peso, incluso más preferiblemente menos del 25 % en peso.
- [0040] Preferiblemente, la presente composición comprende LC-PUFA n-3, ya que los LC-PUFA n-3 reducen la obesidad más adelante en la vida, más preferiblemente la obesidad central. Más preferiblemente, la presente composición comprende EPA, DPA y/o DHA, incluso más preferiblemente DHA. Dado que una baja concentración de DHA, DPA y/o EPA ya es efectiva y el crecimiento y desarrollo normales son importantes, el contenido de LC-PUFA n-3 de la presente composición preferiblemente no excede el 15 % en peso del contenido total de ácidos grasos, preferiblemente no excede el 10 % en peso, incluso más preferiblemente no excede el 5 % en peso. Preferiblemente, la presente composición comprende al menos 0,2 % en peso, preferiblemente al menos 0,5 % en

peso, más preferiblemente al menos 0,75 % en peso, de LC-PUFA n-3 respecto del contenido total de ácidos grasos.

[0041] Como el grupo de ácidos grasos n-6, especialmente el ácido araquidónico (AA) y LA como su precursor, contrarresta el grupo de ácidos grasos n-3, especialmente el DHA y el EPA y el ALA como sus precursores, la presente composición comprende cantidades relativamente bajas de AA. El contenido de LC-PUFA n-6 preferiblemente no excede el 5 % en peso, más preferiblemente no excede el 2,0 % en peso, más preferiblemente no excede el 0,75 % en peso, incluso más preferiblemente no excede el 0,5 % en peso, sobre los ácidos grasos totales. Dado que el AA es importante en los bebés para obtener membranas funcionales óptimas, especialmente membranas de tejidos neurológicos, la cantidad de LC-PUFA n-6 es preferiblemente de al menos 0,02 % en peso, más preferiblemente al menos 0,05 % en peso, más preferiblemente al menos 0,1 % en peso sobre los ácidos grasos totales, más preferiblemente al menos 0,2 % en peso. La presencia de AA es ventajosa en una composición baja en LA, ya que suple la deficiencia de LA. La presencia de cantidades, preferiblemente pequeñas, de AA es beneficiosa en los alimentos para administrar a bebés menores de 6 meses, ya que para estos bebés las fórmulas infantiles generalmente son la única fuente de alimento.

[0042] Preferiblemente, además del lípido vegetal, está presente un lípido seleccionado de entre aceite de pescado (preferiblemente aceite de atún) y aceite de organismos unicelulares (tales como algas, aceite microbiano y aceite fungico). Estas fuentes de aceite son adecuadas como fuentes de LC-PUFA. Preferiblemente, como fuente de LC-PUFA n-3 se usa aceite de organismos unicelulares, incluyendo aceite de algas y aceite microbiano, ya que estas fuentes de aceite tienen una relación de EPA/DHA baja, lo que da como resultado un mayor efecto antiobesidad. Más preferiblemente, el aceite de pescado (incluso más preferiblemente el aceite de atún) se usa como fuente de LC-PUFA n-3, ya que tiene una concentración de EPA más alta, lo cual es ventajoso ya que el EPA es precursor de eicosanoides que tienen un efecto adicional contra la obesidad. Así, en una forma de realización, la presente composición comprende además al menos un lípido seleccionado del grupo que consiste en aceite de pescado, aceite marino, aceite de algas, aceite de hongos y aceite microbiano.

#### Proceso para la obtención de glóbulos lipídicos

[0043] La presente composición comprende glóbulos lipídicos. El tamaño del glóbulo lipídico puede manipularse mediante el ajuste de los pasos del proceso mediante los cuales se fabrica la presente composición. Una forma adecuada y preferida de obtener tamaños de glóbulos lipídicos más grandes es adaptar el proceso de homogeneización. En la fórmula de leche infantil estándar, la fracción de lípidos (que generalmente comprende grasa vegetal, una pequeña cantidad de lípidos polares y vitaminas liposolubles) se mezcla en la fracción acuosa (que generalmente comprende agua, leche desnatada, lactosuero, carbohidratos digeribles como lactosa, vitaminas solubles en agua y minerales y opcionalmente carbohidratos no digeribles) por homogeneización. Si no se llevara a cabo una homogeneización, la parte lipídica se convertiría en crema muy rápidamente, es decir, se separaría de la parte acuosa y se recogería en la parte superior. La homogeneización es el proceso de dividir la fase grasa en tamaños más pequeños para que ya no se separe rápidamente de la fase acuosa, sino que se mantenga en una emulsión estable. Esto se logra haciendo pasar la leche a alta presión a través de pequeños orificios. Sin embargo, los presentes inventores han descubierto que la homogeneización a una presión menor que la aplicada habitualmente en la preparación de la fórmula infantil dio como resultado glóbulos lipídicos más grandes de la presente invención, a la vez que se mantenía una emulsión suficientemente estable.

[0044] El proceso comprende los siguientes pasos:

##### 1 Mezcla de ingredientes

[0045] Los ingredientes de la composición se mezclan, por ejemplo, preferiblemente se mezclan de manera homogénea. Básicamente, se añaden una fase lipídica, que comprende los lípidos vegetales, y una fase acuosa. Los ingredientes de la fase acuosa pueden comprender agua, leche desnatada (en polvo), lactosuero (en polvo), leche baja en grasa, lactosa, vitaminas y minerales solubles en agua. Preferiblemente, la fase acuosa comprende proteínas, carbohidratos digeribles y lípidos polares, más preferiblemente fosfolípidos. Preferiblemente, la fase acuosa comprende oligosacáridos no digeribles. Preferiblemente, la fase acuosa se establece a un pH entre 6,0 y 8,0, más preferiblemente pH 6,5 a 7,5. Preferiblemente, los lípidos polares, en particular los fosfolípidos, se derivan de la leche. La presencia de lípidos polares resulta ventajosamente en glóbulos lipídicos más estables. Esto es especialmente importante en el caso de glóbulos lipídicos más grandes. Ventajosamente, la presencia de lípidos polares presentes en la mezcla acuosa antes de la homogeneización da como resultado el recubrimiento de los glóbulos lipídicos, que consisten esencialmente en triglicéridos, con una capa de lípidos polares.

[0046] Preferiblemente, la fase lipídica comprende del 50 al 100 % en peso de lípidos vegetales sobre el peso total de la fase lipídica. En lugar de en la fase acuosa, los lípidos polares, más preferiblemente los fosfolípidos, también pueden estar presentes en la fase lipídica o en ambas fases. Alternativamente, los lípidos polares pueden añadirse por separado a una fase acuosa y lipídica. Preferiblemente, la relación en peso de fosfolípido a lípido total es del 0,2 al 20 % en peso, más preferiblemente del 0,5 al 10 % en peso, incluso más preferiblemente del 3 al 8 % en peso 0,2.

[0047] La fase acuosa y lipídica se calientan preferiblemente antes de añadirlas una a otra, preferiblemente a una temperatura de 40 °C a 80 °C, más preferiblemente de 55 °C a 70 °C, incluso más preferiblemente de 55 °C a 60 °C. La mezcla también se mantiene a esta temperatura y se mezcla uniformemente. Una forma adecuada de

5 realizar una mezcla homogénea es usar un Ultra-Turrax T50 durante aproximadamente 30-60 s a 5000-10000 rpm. Posteriormente se puede agregar agua desmineralizada a esta mezcla, para obtener el % de materia seca deseado. Un % de materia seca deseado es, por ejemplo, un 15 %. Alternativamente, la fase lipídica se inyecta en la fase acuosa inmediatamente antes de la homogeneización. Se prefiere que la inyección se realice inmediatamente antes de la homogeneización y a baja presión para obtener glóbulos lipídicos grandes estables.

10 [0048] Se puede agregar minerales, vitaminas y gomas estabilizadoras en varios puntos del proceso dependiendo de su sensibilidad al calor. La mezcla se puede realizar, por ejemplo, con un agitador de alto cizallamiento. En el proceso de la presente invención, la leche desnatada (caseína) preferiblemente no está presente en este paso y se agrega a la composición después de la homogeneización de la fracción grasa en la fracción acuosa (que comprende compuestos tales como lactosuero, proteína de lactosuero, lactosa).

## 2 Pasteurización

20 [0049] Preferiblemente, a continuación se pasteuriza la mezcla. La pasteurización implica un paso de calentamiento rápido en condiciones controladas al que los microorganismos no pueden sobrevivir. Una temperatura de 60 a 80 °C, más preferiblemente de 65 a 75 °C, mantenida durante al menos 15 s, generalmente reduce adecuadamente las células vegetativas de los microorganismos. Se conocen varios métodos de pasteurización que son comercialmente factibles. Alternativamente, este paso también se puede realizar antes de la mezcla como en el paso 1 y/o se puede reemplazar por el paso de calentamiento a 60 °C del paso 1.

## 25 3 Homogeneización

30 [0050] Posteriormente, la mezcla opcionalmente pasteurizada se homogeneiza. La homogeneización es un proceso que aumenta la uniformidad y la estabilidad de la emulsión al reducir el tamaño de los glóbulos lipídicos en la fórmula. Este paso del proceso se puede realizar con una variedad de equipos de mezcla, que aplican un alto cizallamiento al producto. Este tipo de mezcla rompe los glóbulos de lípidos en glóbulos más pequeños. La mezcla obtenida se homogeneiza preferiblemente en dos pasos a alta temperatura y presión, por ejemplo 60 °C a 30 a 100 y 5 a 50 bares respectivamente, con una presión total de 35 a 150 bares. Alternativamente, la mezcla obtenida se homogeneiza preferiblemente en dos pasos a una temperatura más baja, entre 15 y 40 °C, preferiblemente aproximadamente 20 °C a 5 a 50 y 5 a 50 bares respectivamente, con una presión total de 5 a 100 bares. En una forma de realización, la mezcla obtenida se homogeneiza a 30-100 bares en el primer paso. En otra forma de realización, la mezcla obtenida se homogeneiza a 5-50 bares en el primer paso.

35 [0051] Esto es notablemente más bajo que las presiones estándar, que típicamente son de 250 a 50 bares, respectivamente, por tanto una presión total de 300 bares.

40 [0052] Qué presión aplicar dependerá del homogeneizador específico utilizado. Una forma adecuada es usar una presión de 100 bares en el primer paso y de 50 bares en el segundo paso en un homogeneizador H 2006 Niro Suavi NS a una temperatura de 60 °C. Una forma adecuada es utilizar una presión de 5 bares en el primer paso y de 20 bares en el segundo paso en un homogeneizador Niro Suavi NS 2006 H a una temperatura de 20 °C. Posteriormente, opcionalmente, se pueden agregar otros ingredientes que no sean lípidos.

## 4 Esterilización

45 [0053] Posteriormente, la emulsión obtenida en el paso 3 se esteriliza preferiblemente. Preferiblemente, la esterilización tiene lugar en línea a temperatura ultra alta (UHT) y/o en recipientes apropiados para obtener una fórmula en forma de un líquido estéril. Una forma adecuada para el tratamiento UHT es un tratamiento a 120-130 °C durante al menos 20 s. Alternativamente, la emulsión obtenida en el paso 3 se concentra por evaporación, posteriormente se esteriliza a temperatura ultra alta y posteriormente se seca por pulverización para obtener un polvo secado por pulverización con el que se llenan recipientes apropiados.

50 [0054] Alternativamente, este paso de esterilización se realiza antes del paso de homogeneización. Preferiblemente, la composición obtenida por el proceso anterior se seca posteriormente por pulverización.

55 [0055] La diferencia en el recubrimiento de los glóbulos lipídicos puede derivarse aún más del potencial zeta. El potencial Zeta (potencial  $\zeta$ ) mide la diferencia en milivoltios (mV) en el potencial electrocinético entre la capa fuertemente unida alrededor de la superficie y la zona distante de electroneutralidad y es una medida de la magnitud de la repulsión o atracción entre las partículas de una dispersión. Su valor también está relacionado con la estabilidad de las dispersiones coloidales. Un potencial zeta absoluto alto conferirá estabilidad, es decir, la solución o dispersión resistirá la agregación.

Componente de carbohidrato digerible

[0056] La composición comprende preferiblemente carbohidratos digeribles. El carbohidrato digerible proporciona preferiblemente del 30 al 80 % de las calorías totales de la composición. Preferiblemente, el carbohidrato digerible proporciona del 40 al 60 % de las calorías totales. Cuando está en forma líquida, por ejemplo como un líquido listo para consumir, la composición comprende preferiblemente de 3,0 a 30 g de carbohidratos digeribles por 100 ml, más preferiblemente de 6,0 a 20, incluso más preferiblemente de 7,0 a 10,0 g por 100 ml. Sobre el peso en seco, la presente composición comprende preferiblemente del 20 al 80 % en peso, más preferiblemente del 40 al 65 % en peso de carbohidratos digeribles.

[0057] Las fuentes preferidas de carbohidratos digeribles son lactosa, glucosa, sacarosa, fructosa, galactosa, maltosa, almidón y maltodextrina. La lactosa es el principal carbohidrato digerible presente en la leche humana. La presente composición comprende preferiblemente lactosa. La presente composición comprende preferiblemente carbohidratos digeribles, en donde al menos 35 % en peso, más preferiblemente al menos 50 % en peso, más preferiblemente al menos 75 % en peso, incluso más preferiblemente al menos 90 % en peso, de la manera más preferible al menos 95 % en peso del carbohidrato digerible es lactosa. Sobre el peso en seco, la presente composición comprende preferiblemente al menos 25 % en peso de lactosa, preferiblemente al menos 40 % en peso.

Oligosacáridos no digeribles

[0058] Preferiblemente, la presente composición comprende oligosacáridos no digeribles con un grado de polimerización (GP) entre 2 y 250, más preferiblemente 3 y 60. Los oligosacáridos no digeribles evitan ventajosamente la aparición de resistencia a la insulina, lo que también tendrá como resultado una reducción de la obesidad y/o masa grasa más adelante en la vida. Además, la presencia de oligosacáridos no digeribles resulta ventajosamente en una microbiota intestinal baja en Firmicutes y alta en Bacteroidetes, lo que resulta en una reducción de la obesidad. Por lo tanto, se supone que los oligosacáridos no digeribles potencian los efectos antiobesidad de los glóbulos lipídicos más grandes de la composición según la presente invención.

[0059] El oligosacárido no digerible se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en fructo-oligosacáridos (como inulina), galacto-oligosacáridos (como transgalacto-oligosacáridos o beta-galacto-oligosacáridos), gluco-oligosacáridos (como gentio-, niger- y ciclodextrina-oligosacáridos), arabino-oligosacáridos, manano-oligosacáridos, xilo-oligosacáridos, fuco-oligosacáridos, arabinogalacto-oligosacáridos, glucomano-oligosacáridos, galactomano-oligosacáridos, ácido siálico que comprende oligosacáridos y oligosacáridos de ácido urónico. Preferiblemente, la composición comprende goma arábica en combinación con un oligosacárido no digerible.

[0060] Preferiblemente, la presente composición comprende fructo-oligosacáridos, galacto-oligosacáridos y/u oligosacáridos de ácido galacturónico, más preferiblemente galacto-oligosacáridos, de la manera más preferible transgalacto-oligosacáridos. En una forma de realización preferida, la composición comprende una mezcla de transgalacto-oligosacáridos y fructo-oligosacáridos. Preferiblemente, la presente composición comprende galacto-oligosacáridos con un GP de 2-10 y/o fructo-oligosacáridos con un GP de 2-60. El galacto-oligosacárido se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en transgalacto-oligosacáridos, lacto-N-tetraosa (LNT), lacto-N-neotetraosa (neo-LNT), fucosil-lactosa, LNT fucosilada y neo-LNT fucosilada. En una forma de realización particularmente preferida, el presente método comprende la administración de transgalacto-oligosacáridos ( $[\text{galactosa}]_n\text{-glucosa}$ ; en donde  $n$  es un número entero entre 1 y 60, es decir, 2, 3, 4, 5, 6, ..., 59, 60; preferiblemente  $n$  se selecciona de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10). Los transgalacto-oligosacáridos (TOS) se venden, por ejemplo, con la marca registrada Vivinal™ (Borculo Domo Ingredients, Países Bajos). Preferiblemente, los sacáridos de los transgalacto-oligosacáridos están unidos por enlaces  $\beta$ .

[0061] El fructo-oligosacárido es un oligosacárido no digerible que comprende una cadena de unidades de fructosa unidas por enlaces  $\beta$  con un GP o un GP medio de 2 a 250, más preferiblemente de 10 a 100. El fructo-oligosacárido incluye inulina, levano y/o un tipo mixto de polifructano. Un fructo-oligosacárido especialmente preferido es la inulina. El fructo-oligosacárido adecuado para su uso en las composiciones también ya está disponible comercialmente, por ejemplo Raftiline®HP (Orafti).

[0062] Los oligosacáridos de ácido urónico se obtienen preferiblemente de la degradación de pectina. Los oligosacáridos de ácido urónico son preferiblemente oligosacáridos de ácido galacturónico. Por lo tanto, la presente composición comprende preferiblemente un producto de degradación de pectina con un GP entre 2 y 100. Preferiblemente, el producto de degradación de pectina se prepara a partir de pectina de manzana, pectina de remolacha y/o pectina de cítricos. Preferiblemente, la composición comprende transgalacto-oligosacárido, fructo-oligosacárido y un producto de degradación de pectina. La relación en peso de producto de degradación de transgalacto-oligosacárido:fructo-oligosacárido:pectina es preferiblemente de (20 a 2):1:(1 a 3), más preferiblemente de (12 a 7):1:(1 a 2).

[0063] Preferiblemente, la composición comprende de 80 mg a 2 g de oligosacáridos no digeribles por 100 ml, más preferiblemente de 150 mg a 1,50 g, incluso más preferiblemente de 300 mg a 1 g por 100 ml. Sobre el peso en seco, la composición comprende preferiblemente de 0,25 % en peso a 20 % en peso, más preferiblemente de 0,5 % en peso a 10 % en peso, incluso más preferiblemente de 1,5 % en peso a 7,5 % en peso. Una cantidad menor de oligosacáridos no digeribles será menos efectiva para prevenir la obesidad, mientras que una cantidad demasiado alta dará como resultado efectos secundarios de hinchazón y malestar abdominal.

#### Componente proteico

[0064] La presente composición comprende preferiblemente proteínas. El componente proteico proporciona preferiblemente del 5 al 15 % del total de calorías. Preferiblemente, la presente composición comprende un componente proteico que proporciona del 6 al 12 % de las calorías totales. Más preferiblemente, la proteína está presente en la composición por debajo del 9 % de las calorías, más preferiblemente la composición comprende entre 7,2 y 8,0 % de proteína de las calorías totales, incluso más preferiblemente entre 7,3 y 7,7 % de las calorías totales. Una baja concentración de proteína asegura ventajosamente una menor respuesta de insulina, evitando así la proliferación de adipocitos en los bebés. La leche humana comprende una cantidad menor de proteína basada en las calorías totales que la leche de vaca. La concentración de proteínas en una composición nutricional está determinada por la suma de proteínas, péptidos y aminoácidos libres. Sobre el peso en seco, la composición comprende preferiblemente menos del 12 % en peso de proteína, más preferiblemente entre el 9,6 y el 12 % en peso, incluso más preferiblemente del 10 al 11 % en peso. Tomando como base un producto líquido listo para beber, la composición comprende preferiblemente menos de 1,5 g de proteína por 100 ml, más preferiblemente entre 1,2 y 1,5 g, incluso más preferiblemente entre 1,25 y 1,35 g.

[0065] La fuente de la proteína debe seleccionarse de tal manera que se cumplan los requisitos mínimos para el contenido de aminoácidos esenciales y se garantice un crecimiento satisfactorio. Por lo tanto, se prefieren las fuentes de proteínas basadas en proteínas de leche de vaca como lactosuero, caseína y mezclas de estos y proteínas basadas en soja, patata o guisante. En caso de que se usen proteínas de lactosuero, la fuente de proteína se basa preferiblemente en lactosuero ácido o lactosuero dulce, aislado de proteína de lactosuero o mezclas de los mismos y puede incluir  $\alpha$ -lactalbúmina y  $\beta$ -lactoglobulina. Más preferiblemente, la fuente de proteína se basa en lactosuero ácido o lactosuero dulce del que se ha eliminado el glucomacropéptido de caseína (CGMP). La eliminación del CGMP de la proteína de lactosuero dulce reduce ventajosamente el contenido de treonina de la proteína de lactosuero dulce. Un contenido reducido de treonina también se logra ventajosamente usando lactosuero ácido. Opcionalmente, la fuente de proteína puede complementarse con aminoácidos libres, tales como metionina, histidina, tirosina, arginina y/o triptófano para mejorar el perfil de aminoácidos. Preferiblemente, se usa proteína de lactosuero enriquecida con  $\alpha$ -lactalbúmina para optimizar el perfil de aminoácidos. El uso de fuentes de proteínas con un perfil de aminoácidos optimizado más cercano al de la leche materna humana permite que todos los aminoácidos esenciales se proporcionen a una concentración reducida de proteínas, por debajo del 9 % en función de las calorías, preferiblemente entre el 7,2 y el 8,0 % en función de las calorías y aún así asegurar un crecimiento satisfactorio. Si se utiliza lactosuero dulce del que se ha eliminado el CGMP como fuente de proteína, preferiblemente se complementa con arginina libre en una cantidad del 0,1 a 3 % en peso y/o histidina libre en una cantidad del 0,1 a 1,5 % en peso sobre la proteína total.

[0066] Preferiblemente, la composición comprende al menos 3 % en peso de caseína sobre el peso en seco. Preferiblemente, la caseína está intacta y/o no hidrolizada.

#### Composición nutricional

[0067] La presente composición es preferiblemente adecuada en particular para proporcionar los requerimientos nutricionales diarios a un ser humano con una edad inferior a 36 meses, particularmente un niño con una edad inferior a 24 meses, incluso más preferiblemente un niño con una edad inferior a 18 meses, de la manera más preferible inferior a 12 meses de edad. Por lo tanto, la composición nutricional es para alimentar o se usa para alimentar a un sujeto humano. La presente composición comprende un lípido, y preferiblemente una proteína y preferiblemente un componente de carbohidrato digerible, en la que el componente lipídico proporciona preferiblemente del 30 al 60 % de las calorías totales, el componente de proteína proporciona preferiblemente del 5 al 20 %, más preferiblemente del 5 al 15 % en peso, de las calorías totales y el componente de carbohidratos digeribles proporciona preferiblemente del 25 al 75 % de las calorías totales. Preferiblemente, la presente composición comprende un componente lipídico que proporciona del 35 al 50 % de las calorías totales, un componente de proteína proporciona del 6 al 12 % de las calorías totales y un componente de carbohidrato digerible proporciona del 40 al 60 % de las calorías totales. La cantidad de calorías totales está determinada por la suma de calorías derivadas de proteínas, lípidos y carbohidratos digeribles.

[0068] La presente composición no es leche materna humana. La presente composición comprende lípidos vegetales. Las composiciones de la invención comprenden preferiblemente otras fracciones, tales como vitaminas o minerales de acuerdo con directivas internacionales para fórmulas infantiles.

[0069] En una forma de realización, la composición es un polvo adecuado para preparar una composición líquida después de la reconstitución con una solución acuosa, preferiblemente con agua. Preferiblemente, la composición es un polvo para ser reconstituido con agua. Sorprendentemente, se ha descubierto que el tamaño y el recubrimiento con los lípidos polares de los glóbulos lipídicos permanecieron iguales después del paso de secado

5 y la posterior reconstitución. La presencia de glóbulos lipídicos más grandes puede tener un efecto ligeramente negativo sobre la estabilidad a largo plazo de la composición líquida. Sin embargo, la separación de las capas lipídicas y acuosas no se observó dentro de las 48 h, que es mucho más que el tiempo transcurrido entre la reconstitución del polvo en un líquido listo para beber y el consumo del mismo, que será inferior a 24 h y típicamente dentro de 1 h. La composición que está en forma de polvo tiene, por lo tanto, una ventaja adicional en la presente invención con glóbulos lipídicos grandes.

10 [0070] Para cumplir con las necesidades calóricas del bebé, la composición comprende preferiblemente de 50 a 200 kcal/100 ml de líquido, más preferiblemente de 60 a 90 kcal/100 ml de líquido, incluso más preferiblemente de 60 a 75 kcal/100 ml de líquido. Esta densidad calórica asegura una relación óptima entre el consumo de agua y calorías. La osmolaridad de la presente composición está preferiblemente entre 150 y 420 mOsmol/l, más preferiblemente 260 a 320 mOsmol/l. La baja osmolaridad tiene como objetivo reducir el estrés gastrointestinal. El estrés puede inducir la formación de adipocitos.

15 [0071] Preferiblemente, la composición está en forma líquida, con una viscosidad inferior a 35 mPa.s, más preferiblemente inferior a 6 mPa.s, medida en un viscosímetro Brookfield a 20 °C a una velocidad de cizallamiento de 100 s<sup>-1</sup>. Adecuadamente, la composición está en forma de polvo, que puede reconstituirse con agua para formar un líquido, o en forma de concentrado líquido, que debe diluirse con agua. Cuando la composición está en forma líquida, el volumen preferido administrado diariamente está en el intervalo de aproximadamente 80 a 2500 ml, más preferiblemente de aproximadamente 450 a 1000 ml por día.

#### Bebé

20 [0072] Los adipocitos proliferan durante los primeros 36 meses de vida y son más limitados en la pubertad. La cantidad de adipocitos es un determinante importante en el grado de masa grasa, tejido adiposo y/u obesidad en el futuro. Por lo tanto, la presente composición se administra preferiblemente al sujeto humano durante los primeros 3 años de vida. En el uso según la presente invención, la composición nutricional es para alimentar a un sujeto humano con una edad entre 0 y 36 meses. Se ha descubierto que hay un predominio de la proliferación de adipocitos en los primeros 12 meses de vida con una proliferación óptima de adipocitos perinatales. Por lo tanto, se prefiere particularmente que la presente composición se administre a un sujeto humano en este período de la vida. Por lo tanto, la presente composición se administra ventajosamente a un humano de 0-24 meses, más preferiblemente a un humano de 0-18 meses, de la manera más preferible a un humano de 0-12 meses. La presente invención tiene como objetivo particular prevenir la obesidad en el futuro y no es un tratamiento para la obesidad. Por lo tanto, la presente composición se administra preferiblemente a un bebé y/o niño pequeño que no padece obesidad o sobrepeso. En una forma de realización del uso según la presente invención, la composición nutricional es para alimentar a un sujeto humano no obeso. Preferiblemente, la composición debe usarse en bebés que tienen un peso apropiado para la edad gestacional.

25 [0073] Preferiblemente, la composición se debe usar en bebés que han nacido prematuramente o que son pequeños para la edad gestacional. Estos bebés experimentan un crecimiento progresivo después del nacimiento, lo cual es un riesgo adicional de desarrollar obesidad y/o demasiada grasa en el futuro. Preferiblemente, la composición se debe usar en bebés que son grandes para la edad gestacional. Estos bebés tienen un mayor riesgo de desarrollar obesidad y/o demasiada grasa en el futuro. Preferiblemente, la composición debe usarse en bebés nacidos de madres que padecen obesidad y/o diabetes. Tales bebés tienen un mayor riesgo de desarrollar obesidad y/o demasiada grasa en el futuro.

#### Aplicación

30 [0074] La presente composición se administra preferiblemente por vía oral al bebé. La presente invención también tiene como objetivo prevenir la aparición de obesidad y/o reducir la masa grasa a la edad superior a 36 meses. La presente composición nutricional es para alimentar a un sujeto humano con una edad de entre 0 y 36 meses y para prevenir la obesidad y/o reducir el riesgo de obesidad cuando dicho sujeto humano tiene una edad superior a 18 años. En una forma de realización, la presente composición nutricional es para prevenir la obesidad visceral.

35 [0075] Los inventores ha descubierto sorprendentemente que, cuando los ratones fueron alimentados durante la infancia y la niñez con una composición alimenticia que comprende glóbulos de lípidos agrandados, se observó un efecto diferente y significativo en la composición corporal más adelante en la vida en comparación con los ratones que habían sido alimentados durante la infancia y la niñez con una composición alimenticia que tenía composición similar de ácidos grasos, pero un tamaño de glóbulo lipídico más pequeño. En el día 42, que es un punto temporal correspondiente a la infancia en un entorno humano, no se observó diferencia en el crecimiento (peso) entre los dos grupos, pero a partir del día 42 ambos grupos fueron alimentados con una dieta de estilo occidental que era alta en grasas. Sorprendentemente, en el día 126, que es un punto temporal correspondiente a la edad adulta en

humanos, los ratones que habían consumido previamente la composición alimenticia de la presente invención antes de recurrir a la dieta de estilo occidental tenían una masa grasa significativamente menor y una masa grasa relativa menor que ratones que habían recibido una composición de control. En otros experimentos se demostró que la presencia de un recubrimiento o capa externa de lípidos polares alrededor de estos glóbulos de lípidos en 5 la dieta disminuyó aún más la masa grasa y la masa grasa relativa en comparación con los glóbulos de lípidos grandes sin este recubrimiento. También se ha descubierto sorprendentemente que, en comparación con la dieta de control, la administración de una dieta que comprende glóbulos lipídicos grandes durante la infancia dio como resultado una disminución específica de la masa grasa visceral más adelante en la vida, es decir, redujo la obesidad visceral más adelante en la vida. Esto es ventajoso, ya que en particular la obesidad visceral está más 10 asociada con problemas de salud. Además, se observó que se redujo la hipertrofia de los adipocitos. Se cree que la obesidad causada por la hipertrofia de los adipocitos es indicativa de aparición de obesidad más adelante en la vida y está más asociada con problemas de salud como la resistencia a la insulina que la obesidad causada por la hiperplasia de adipocitos. Esta es una indicación adicional de que la dieta no tiene un efecto agudo en el tratamiento 15 o la prevención de la obesidad (que no es deseada en los bebés) sino un efecto de programación para prevenir la aparición de obesidad más adelante en la vida.

[0076] En este documento y en sus reivindicaciones, el verbo "comprender" y sus conjugaciones se usan en su sentido no limitativo para significar que los elementos que siguen a la palabra están incluidos, pero los elementos no mencionados específicamente no están excluidos. Además, la referencia a un elemento por el artículo indefinido "un" o "una" no excluye la posibilidad de que esté presente más de uno de los elementos, a menos que el contexto requiera claramente que haya uno y solo uno de los elementos. El artículo indefinido "un" o "una" significa generalmente "al menos uno/a".

## EJEMPLOS

**25 Ejemplo 1: Proceso para preparar una fórmula de leche infantil (IMF) con un tamaño de glóbulo lipídico más grande**

### **Ejemplo 1 A:**

30 [0077] Se preparó una fórmula infantil que comprendía, por kg de polvo, 4800 kcal, 248 g de lípidos, 540 g de carbohidratos digeribles, 55 g de oligosacáridos no digeribles y 103 g de proteína. La composición se preparó usando polvo BAEF (Corman, Goé, Bélgica), una mezcla de aceite vegetal, suero desmineralizado en polvo, lactosa, oligosacáridos no digeribles (galacto-oligosacáridos y fructo-oligosacáridos de cadena larga en una relación en peso de 9/1). También se usaron vitaminas, minerales, oligoelementos como se conocen en la técnica.

35 [0078] La cantidad de BAEF fue tal que el 7,24 % en peso de fosfolípidos (de BAEF) basado en los lípidos totales estaban presentes en la composición. Basada en pequeñas cantidades de fosfolípidos en la mezcla de aceite, la cantidad total de fosfolípidos fue del 7,39 % en peso sobre los lípidos totales. El polvo BAEF también suministró una pequeña cantidad de colesterol (aproximadamente 0,08 % en peso sobre los lípidos totales de la fórmula 40 infantil) y glucoesfingolípidos (aproximadamente 1,65 % de glucoesfingolípidos sobre los lípidos totales de la fórmula infantil). El polvo BAEF se mezcló con galacto-oligosacáridos, lactosa, premezclas de vitaminas y premezclas minerales en agua, a temperatura ambiente, por agitación. Se usó hidróxido de potasio para establecer el pH en 6,8-7,0. La materia en peso en seco de la mezcla era de aproximadamente 27 %. La mezcla se calentó a 60 °C. La mezcla de aceite vegetal también se calentó a 60 °C y se añadió a la fase acuosa y se mezcló con un Ultra-Turrax T50 durante aproximadamente 30-60 s a 5000-10000 rpm. Posteriormente se añadió agua desmineralizada para lograr un contenido de materia seca de aproximadamente el 15 %.

45 [0079] Posteriormente, la mezcla de aceite y agua se homogeneizó a una presión de 100 bares en un primer paso y 50 bares en un segundo paso en un homogeneizador H 2006 Niro Suavi NS. La temperatura fue de 60 °C. 50 Posteriormente se añadió suero de suero desmineralizado en polvo para llegar a un contenido final de materia seca del 18 %. El producto se trató mediante UHT a 125 °C durante 30 s. El producto se secó hasta un polvo mediante secado por pulverización. La maltodextrina junto con la inulina de cadena larga se mezcló en seco con el polvo. El tamaño de los glóbulos lipídicos se midió con un Mastersizer 20000 (Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido). El diámetro modal volumétrico fue de 7,3 µm. Un segundo pico mucho más pequeño estaba presente 55 a 0,52 µm. El % en volumen de glóbulos lipídicos con un tamaño entre 2 y 12 µm fue del 71 % basado en el volumen lipídico total. Se comprobó con microscopía de barrido láser confocal que los glóbulos lipídicos más grandes de la presente invención estuvieron recubiertos con fosfolípidos, antes del secado por pulverización y después de la reconstitución del polvo secado por pulverización con agua. En ambos casos, los glóbulos lipídicos estaban cubiertos con una capa de fosfolípidos. Como sondas fluorescentes, se usaron Annexin V Alexa Fluor 488 (sondas 60 moleculares *in vitro*) para marcar los fosfolípidos, y Nile Red (Sigma-Aldrich) para marcar los triglicéridos. Después de marcar las muestras de leche, se añadió medio de montaje VectraHield (Vector laboratories inc., Burliname, EE. UU.) para reducir el movimiento de partículas y el blanqueamiento fotográfico. Las observaciones se realizaron utilizando un microscopio de barrido láser Zeiss con longitudes de onda de excitación de 488/543/633 nm y filtros de emisión establecidos en el paso de banda 505-530 y el paso de banda 560-615. También el tamaño de los glóbulos lipídicos era el mismo antes del secado y después de la reconstitución del polvo secado por pulverización 65 con agua.

- [0080] Como control, los glóbulos lipídicos de una fórmula infantil estándar (Nutrilon 1) no mostraron marcado con fosfolípidos como se observó con la microscopía de barrido láser confocal. En cambio, los glóbulos estaban cubiertos con proteína, según se determinó con tinción de proteína fluorescente Fast Green FCF. El diámetro modal volumétrico de los glóbulos lipídicos en esta fórmula estándar de leche infantil se midió en 0,5 µm. Un segundo pico mucho más pequeño estaba presente a 8,1 µm. El % en volumen de glóbulos de lípidos con un tamaño entre 2 y 12 m fue del 34 % basado en el volumen total de lípidos.

**Tabla 1:** Características del glóbulo lipídico de diferentes leches

	Diámetro modal volumétrico en µm	% de volumen con un diámetro entre 2 y 12 µm	potencial $\zeta$ (mV)
Fórmula de leche infantil estándar (Nutrilon 1)	0,5	34	-22,4
Fórmula de leche infantil de la invención	7,3	71	-16
Leche humana	5,3	98	- 13,8

[0081] También se analizó leche humana y esta mostró un diámetro modal volumétrico de los glóbulos lipídicos de 5,3 µm. El % en volumen de glóbulos lipídicos con un tamaño entre 2 y 12 m fue del 98 % sobre el volumen de lípidos total. Los glóbulos lipídicos estaban cubiertos con una capa de fosfolípidos.

[0082] También se midieron los potenciales zeta y los diámetros medios ponderados por volumen. Los resultados se muestran en la tabla 1.

*Ejemplo 1B:*

[0083] La fórmula infantil se preparó de manera similar al ejemplo 1A. La mezcla de aceites se preparó usando aceites vegetales, vitaminas solubles en aceite y antioxidantes. Tanto la fase acuosa como la mezcla de aceites se calentaron a 65 °C antes de mezclar. La mezcla de aceites se añadió a la fase acuosa y se mezcló con un Ultra-Turrax T50 durante aproximadamente 30-60 s a 5000-1000 rpm. El peso en seco de esta mezcla fue de aproximadamente 26 %. El producto se trató con UHT durante 30 s a 125 °C y posteriormente se enfrió a 20 °C.

[0084] Para la dieta 2 y 3 y 4, esta mezcla se homogeneizó en dos pasos a una presión de 5 y 20 bares, respectivamente, en un homogeneizador Niro Suavi NS 2006 H. Para la dieta 1, la presión de homogeneización fue de 200 y 50 bares, respectivamente, en un homogeneizador Niro Suavi NS 2006 H. Los productos se secaron hasta convertirlos en polvo mediante secado por pulverización. Se mezcló inulina de cadena larga en seco con el polvo. Para la dieta 1 y 2 no se encontraron lípidos polares añadidos. La cantidad de glicerofosfolípidos vegetales fue del 0,2 % en peso sobre las grasas totales para las dietas 1 y 2. Las dietas 1 y 2 no contenían esfingolípidos y colesterol. Para las dietas 3 y 4 se usó suero de mantequilla en polvo. La dieta 3 comprendía 1,83 % en peso de glicerofosfolípidos sobre las grasas totales, de las cuales aproximadamente el 90 % derivaba del suero de mantequilla en polvo y aproximadamente el 10 % ya estaba presente en la IMF estándar derivada de aceites vegetales, y además comprendía esfingolípidos derivados de la leche, de los cuales la mayoría (aproximadamente el 0,47 % en peso sobre las grasas totales) era esfingomielina; el resto eran glucoesfingolípidos, de los cuales la mayoría (más del 60 %) era GD3 con una concentración de aproximadamente el 0,13 % sobre las grasas totales. La dieta 3 comprendía aproximadamente 0,05 % en peso de colesterol derivado de la leche sobre las grasas totales. La dieta 4 comprendía la mitad de la cantidad de lípidos polares derivados de la leche sobre las grasas totales de la dieta 3.

[0085] En la dieta 3, el suero de mantequilla en polvo que comprendía estos lípidos polares se mezcló en seco después de la homogeneización, la esterilización y el paso de secado por pulverización para evitar el recubrimiento de los glóbulos lipídicos. En la dieta 4, los lípidos polares de mantequilla estaban presentes en la fase acuosa durante el paso de homogeneización para recubrir los glóbulos lipídicos.

[0086] El tamaño de los glóbulos lipídicos se midió con un Mastersizer 20000 (Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido) y se muestra en la Tabla 2. El recubrimiento de los glóbulos lipídicos con lípidos polares en la dieta 4 y la ausencia de recubrimiento en la dieta 1, 2 y 3 se confirmó mediante el método de microscopía de barrido láser confocal como se ha descrito anteriormente.

**Tabla 2:** Características de los glóbulos lipídicos de diferentes leches

IMF	Diámetro modal volumétrico en µm	% de volumen con un diámetro entre 2 y 12 µm
-----	----------------------------------	--

1, IMF estándar	0,5	5,1
2, IMF experimental (glóbulos lipídicos grandes)	4,0	72,2
3, IMF experimental (glóbulos lipídicos grandes, lípidos polares libres)	5,0	74,8
4, IMF experimental (glóbulos lipídicos grandes recubiertos con lípidos polares)	4,3	70,3

[0087] Después de 5 meses de almacenamiento a temperatura ambiente, el tamaño de los glóbulos lipídicos de la dieta 1 no había cambiado, con un diámetro modal volumétrico de 0,5. Además, el diámetro modal volumétrico de las dietas 2, 3 y 4 fue bastante estable, de 4,8 µm, 7,9 µm y 6,6 µm respectivamente.

5

Ejemplo 2: efecto de la programación del tamaño del glóbulo lipídico en la composición corporal de los adultos

[0088] La descendencia de madres C57/BL6 fue destetada desde el día 15 en adelante. Las dietas experimentales de destete continuaron hasta el día 42. Desde el día 42 hasta el día 126, todas las crías fueron alimentadas con la misma dieta basada en la dieta AIN-93G con una fracción de lípidos ajustada (que contenía 10 % en peso de lípidos, de los cuales 50 % en peso era manteca y 1 % era colesterol, basado en los lípidos totales), que es representativa de una dieta de estilo occidental.

10

[0089] Las dietas experimentales que se utilizaron para el destete fueron:

15

1) una dieta de control basada en una fórmula de leche infantil (IMF). Esta dieta comprendía 282 g de IMF estándar (Nutrilon 1) por kg, con el tamaño de glóbulo lipídico como se menciona en el ejemplo 1A. El resto de la dieta era proteína AIN-93G, carbohidratos y fibra. Todos los lípidos presentes en la dieta se derivaron de la IMF.

20

2) una dieta basada en la IMF de la presente invención. Esta dieta difería de la dieta 1 en que comprendía 282 g de la IMF del ejemplo 1A, es decir, comprendía glóbulos lipídicos más grandes que el control. Todos los lípidos presentes en la dieta se derivaron de la IMF.

25

[0090] En el día 42, todos los ratones cambiaron a una "dieta de estilo occidental" que comprendía 10 % en peso de lípidos hasta el día 126. La composición de las dietas se da en la tabla 3. La composición de ácidos grasos de las dos dietas experimentales y la "de cafetería" se muestra en la tabla 4. El perfil de ácidos grasos de las dos dietas experimentales era muy similar.

30

Tabla 3: composición de dietas experimentales por kg

	Dieta 1, IMF de control	Dieta 2, IMF de la invención	Dieta de estilo occidental
Kcal	3922	3922	4016
Lípidos (g)	70	70	100
Fosfolípidos (g)	0,12	5,16	n.d.
Colesterol (g)	0,00	0,06	1
Carbohidratos digeribles (g)	644	644	600
Lactosa (g)	145,9	145,9	0
Sacarosa, glucosa (g)	85	85	150
Maltodextrina (g)	360	360	450
Fibra (g)	47,5	47,5	47,5
Proteína	179	179	179
n.d. = no determinado			

35

[0091] Los ratones se pesaron dos veces por semana. La ingesta de alimentos se determinó una vez por semana durante todo el experimento. Para determinar la composición corporal (es decir, masa grasa (MG) y masa magra (MM)) se realizaron exploraciones DEXA (absorciometría de rayos X de energía dual) con anestesia general a las 6, 10 y 14 semanas de edad, 42, 70, 98 y 126 días después del nacimiento, respectivamente, por densitometría utilizando un generador de imágenes PIXImus (GE Lunar, Madison, WI, EE. UU.). A la edad de 126 días, los

ratones macho fueron sacrificados y los órganos se disecaron y pesaron (a saber, tejidos grisos, hígado, músculo tibial). Se analizó la sangre para obtener los parámetros de leptina, resistina e insulina (en ayunas).

Tabla 4: Composición de ácidos grasos de las dietas experimentales.

	Dieta 1, IMF de control	Dieta 2, IMF de la invención	Dieta de estilo occidental
C12:0	9,4	8,7	5,3
C14:0	4,4	5,3	2,7
C16:0	18,7	21,3	23,1
C18:0	3,5	5,2	9,0
C18: 1 n-9	39,9	37,7	40,5
C18: 2 n-6 (LA)	15,7	12,6	11,9
C18: 3 n-3 (ALA)	2,4	2,1	1,3
Otros	6,0	7,1	6,7
n-6	16,0	12,9	11,9
n-3	2,4	2,1	1,3
n-6/n-3	6,58	6,12	9,1
LA/ALA	6,46	6,00	9,15
SFA	39,3	44,4	41,9
AMF	42,1	39,8	42,3
PUFA	18,3	14,9	13,2

5

## Resultados:

[0092] No se observó ningún efecto sobre el crecimiento (peso corporal) y la ingesta de alimentos durante el período experimental entre los grupos. Además, el desarrollo de la masa grasa (determinada por DEXA) no fue significativamente diferente en el día 42 (final del período de intervención de la dieta).

[0093] Un tratamiento posterior con una dieta de estilo occidental entre el día 42 y el día 126 de todos los grupos resultó en claras diferencias en la composición corporal al final del experimento (día 126), véase la Tabla 5. La masa grasa y la masa grasa relativa desarrolladas más adelante en la vida se redujeron en las crías que habían recibido la dieta con los glóbulos lipídicos más grandes durante su infancia y niñez, en comparación con las crías que habían recibido la dieta de control. El peso corporal general fue comparable entre los dos grupos. El grupo experimental tuvo una mayor masa corporal magra.

Tabla 5: Peso corporal, masa corporal magra, masa grasa y masa grasa relativa.

Parámetro	Día	Dieta 1, IMF de control	Dieta 2, IMF de la invención
Peso corporal en g Media (s.e.)	42	23,50 (0,45)	24,24 (0,51)
	70	29,88 (0,46)	30,16 (0,77)
	98	33,32 (0,57)	33,69 (0,95)
	126	34,47 (0,80)	34,15 (1,16)
Masa corporal magra en g Media (s.e.)	42	18,96 (0,34)	19,96 (0,40)*
	70	21,31 (0,42)	22,32 (0,48)
	98	22,22 (0,49)	23,91 (0,45)*
	126	23,30 (0,43)	24,19 (0,53)*
Masa grasa en g Media (s.e.)	42	3,78 (0,13)	3,77 (0,21)
	70	7,84 (0,35)	7,13 (0,65)
	98	10,68 (0,53)	9,19 (0,79)*
	126	10,48 (0,67)	9,11 (0,90)*
% de grasa del peso corporal	42	16,59 (0,45)	15,83 (0,68)
	70	26,89 (1,07)	23,81 (1,61)

Media (s.e.)	98	32,38 (1,42)	27,25 (1,67)*
	126	30,78 (1,42)	26,67 (1,77)*

\* P <0,05 en comparación con el grupo de control

[0094] El hígado en el grupo de control tenía un peso medio de 157 g (es decir, 0,07) y en la dieta experimental 1,44 g (es decir, 0,15). Esto es indicativo de una reducción del hígado graso en el grupo experimental. El músculo tibial fue de 95,3 g (media, con s.e. 2,1) en el grupo de control y 96,7 g (s.e. 3,2) en el grupo experimental. Esto corresponde con los efectos sobre la masa corporal magra. Los efectos sobre los tejidos grasos se muestran en la Tabla 6. En el grupo experimental, los animales mostraron una mayor cantidad de tejido adiposo marrón (BAT), pero menores cantidades de tejido adiposo blanco (WAT), como la grasa retroperitoneal (rp), inguinal (i) y epididimaria (e). La presencia de tejido adiposo marrón es ventajosa para los bebés con fines de aislamiento. El tejido adiposo blanco está presente tanto en adultos como en bebés y se usa para almacenar energía. Una menor masa grasa visceral (es decir, eWAT y rpWAT) también es ventajosa, ya que disminuirá el riesgo de insensibilidad a la insulina o resistencia a la insulina.

Tabla 6: Masa de tejido adiposo en ratones en el día 126.

Tejido adiposo	Dieta 1, IMF de control	Dieta 2, IMF de la invención
Media de BAT en mg (s.e.)	150,0 (9,0)	180,4 (16,5)
Media de rpWAT en mg (s.e.)	379,0 (31,6)	349,3 (35,5)
Media de iWAT en mg (s.e.)	772,3 (43,9)	665,5 (50,5)
Media de eWAT en mg (s.e.)	1380 (100)	1300 (130)

[0095] Los niveles de insulina en ayunas fueron más bajos en el grupo experimental (1200 unidades) que en el grupo de control (1470 unidades). Esto es indicativo de una señal reducida de adipocitos. Los niveles de leptina disminuyeron en el grupo experimental (6000 unidades) en comparación con el grupo de control (9500). La resistencia también disminuyó en el grupo experimental (1350) en comparación con el grupo de control (1550). Esto es indicativo de un apetito normal y una tendencia reducida a la adiposidad, es decir, masa grasa aumentada, respectivamente.

[0096] Estos resultados demuestran que la masa grasa, la masa grasa relativa y/o la obesidad en la edad adulta claramente disminuyen con una dieta temprana con un tamaño de glóbulo lipídico aumentado. Se concluye que los alimentos que comprenden glóbulos lipídicos con una arquitectura de lípidos alterada programan y/o dejan una impronta en el cuerpo temprano en la vida de tal manera que más adelante en la vida se desarrolla una composición corporal más saludable, con menos masa grasa, masa grasa relativa y/o un aumento de la masa corporal magra.

#### Ejemplo 3: efecto de programación del tamaño del glóbulo lipídico en la composición corporal de los adultos

[0097] Se utilizó el mismo modelo y configuración animal experimental que en el ejemplo 2, excepto en que el experimento se terminó el día 98 en lugar del día 128.

[0098] Las dietas experimentales que se utilizaron para el destete fueron:

35 1) una dieta de control basada en fórmula de leche infantil (IMF). Esta dieta comprendía 282 g de IMF estándar por kg de la IMF 1 del ejemplo 1B, es decir, pequeños glóbulos lipídicos, y sin lípidos polares añadidos. El resto de la dieta consistía en carbohidratos, fibra y proteína de AIN-93G. Todos los lípidos presentes en la dieta se derivaron de la IMF.

40 2) una dieta basada en IMF que no es según la presente invención. Esta dieta difería de la dieta 1 en que comprendía 282 g de la IMF 2 del ejemplo 1B, es decir, comprendía glóbulos lipídicos más grandes que el control y no tenía lípidos polares añadidos. Todos los lípidos presentes en la dieta se derivaron de la IMF.

45 3) una dieta basada en IMF que no es según la presente invención con fosfolípidos añadidos. Esta dieta difería de la dieta 2 en que comprendía 282 g de la IMF 3 del ejemplo 1B, es decir, comprendía glóbulos lipídicos más grandes que el control y lípidos polares añadidos, no ubicados en la capa superficial externa del glóbulo lipídico. Todos los lípidos presentes en la dieta se derivaron de la IMF.

50 4) una dieta basada en IMF de la presente invención. Esta dieta difería de la dieta 3 en que comprendía 282 g de la IMF 4 del ejemplo 1B, es decir, comprendía glóbulos lipídicos más grandes que el control recubierto con lípidos polares derivados de la leche. Todos los lípidos presentes en la dieta se derivaron de la IMF.

[0099] La composición de las dietas es similar a la de la tabla 3 del ejemplo 2. La composición de ácidos grasos de las dos dietas experimentales y de cafetería es similar a la de la tabla 4 del ejemplo 2, con un ácido linoleico

(LA) calculado del 14 % en las dietas 1 y 2 y del 13,2 % en las dietas 3 y 4 basado en los ácidos grasos totales, con un ácido alfa linolénico (ALA) de 2,6 en las dietas 1 y 2 y 2,5% en las dietas 3 y 4 sobre los ácidos grasos totales y con LA/ALA de 5,4 en las dietas 1 y 2 y 5,3, en las dietas 3 y 4 respectivamente. La cantidad de DHA fue de 0,2 % en peso en las 4 dietas, y la cantidad de ARA fue de 0,35 % en peso en las dietas 1 y 2 y 0,36 % en peso en las dietas 3 y 4.

#### Resultados:

[0100] No se observó ningún efecto sobre el crecimiento (peso corporal) y la ingesta de alimentos durante el período experimental entre los grupos. Además, el desarrollo del peso corporal y la masa grasa (determinado con DEXA) no fue significativamente diferente en el día 42 (final del período de intervención de la dieta).

[0101] Un tratamiento posterior con una dieta de estilo occidental entre el día 42 y el día 98 de todos los grupos resultó en diferencias claras en la composición corporal al final del experimento (día 98), ver Tabla 7. La masa grasa y la masa grasa relativa desarrolladas más adelante en la vida se redujo en los ratones que habían recibido la dieta con los glóbulos lipídicos más grandes durante su infancia y niñez, en comparación con los ratones que habían recibido la dieta de control.

Tabla 7: Masa grasa y masa grasa relativa.

Parámetro	Día	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
G de masa grasa	98	8,35 (0,67)	7,29 (0,37)	7,93 (0,52)	6,43 (0,66)*
Media (s.e.)	Delta 98-42	3,93 (0,61)	3,10 (0,39)	3,96 (0,58)	2,40 (0,68)*
% de grasa del peso corporal	98	26,31 (1,33)	24,18 (0,83)	25,48 (1,19)	22,48 (1,29)*
Media (s.e.)	Delta 98-42	8,88 (1,28)	7,21 (0,83)	9,42 (1,23)	5,93 (1,44)*

\* P <0,05

[0102] De los resultados anteriores se puede deducir que el aumento en el tamaño del glóbulo lipídico produce una disminución de la masa grasa y la masa grasa relativa (compárese la dieta 1 con la dieta 2). La disminución de la masa grasa y la masa grasa relativa es aún mayor cuando los glóbulos lipídicos están recubiertos con lípidos polares derivados de los lípidos de la leche (compárese la dieta 4 con la dieta 1 o 2). Se considera que este efecto mejorado no solo se debe a los lípidos polares en sí, sino que también puede atribuirse al recubrimiento de los glóbulos lipídicos, ya que con la dieta 3 los efectos son mucho menos pronunciados que con la dieta 4.

Tabla 8: Masa de tejido adiposo en ratones el día 98.

Tejido adiposo	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
media iWAT* (s.e.)	520 (40)	550 (40)	500 (30)	410 (30)
media periWAT (s.e.)	64 (8)	41 (5)	57 (7)	47 (6)
media Rp WAT (s.e.)	280 (30)	280 (20)	270 (20)	230 (30)
media eWAT (s.e.)	1070 (110)	1010 (70)	980 (80)	870 (110)
iWAT/(periWAT + rpWAT)	1,51	1,71	1,53	1,48

\* WAT: tejido adiposo blanco

i: inguinal

peri: perirrenal

rp: retroperitoneal

e: epididimario

[0103] El efecto sobre los tejidos grasos se muestra en la Tabla 8. Los glóbulos lipídicos más grandes produjeron especialmente una disminución de la grasa visceral (grasa perirrenal y grasa epididimaria) en comparación con la grasa subcutánea (compárese la dieta 1 con la dieta 2).

[0104] El tejido adiposo blanco está presente tanto en adultos como en bebés y se usa para almacenar energía. Una masa grasa visceral más baja (es decir, eWAT y rpWAT) es ventajosa, ya que disminuirá el riesgo de insensibilidad a la insulina o resistencia a la insulina.

[0105] En los tejidos adiposos (eWAT e iWAT) de ratones alimentados con la dieta 1 y la dieta 4, se determinó el tamaño celular en el día 98. Se aislaron los adipocitos y se determinó el diámetro medio mediante análisis de

imagen de fotografías microscópicas. El volumen se calculó como  $V = (\pi/6)(3\sigma^2 + X^2)X$ , donde X y  $\sigma^2$  son la media y la varianza del diámetro. El volumen medio de adipocitos en eWAT, representativo de la grasa visceral, de ratones alimentados con la dieta 1 fue de  $5,1 \cdot 10^6 \mu\text{m}^3$  (p. ej.,  $0,56 \cdot 10^6$ ) y de ratones alimentados con dieta 4 fue de  $4,3 \cdot 10^6 \mu\text{m}^3$  (por ejemplo,  $0,52 \cdot 10^6$ ). El volumen medio de adipocitos en iWAT, representativo de la grasa subcutánea,

5       fue menor. En ratones alimentados con dieta 1 fue de  $2,0 \cdot 10^6 \mu\text{m}^3$  (por ejemplo,  $0,16 \cdot 10^6$ ) y el de los ratones alimentados con la dieta 4 fue de  $1,7 \cdot 10^6 \mu\text{m}^3$  (por ejemplo,  $0,14 \cdot 10^6$ ). El número de células fue ligeramente mayor en los ratones alimentados con la dieta 4. No se observaron diferencias en el % de contenido de lípidos y la densidad de lípidos de la masa grasa adiposa.

10      [0106] Estos resultados demuestran que la masa grasa, la masa grasa relativa y/o la obesidad en la edad adulta claramente disminuyen con una dieta temprana con un tamaño de glóbulo lipídico aumentado. Estos efectos son aún más pronunciados cuando los glóbulos lipídicos grandes están cubiertos con lípidos polares. Además, los glóbulos lipídicos más grandes produjeron un efecto específico en la reducción de la obesidad visceral. Se concluye que los alimentos que comprenden glóbulos lipídicos con una arquitectura de lípidos alterada programa el cuerpo y/o deja una impronta en él temprano en la vida de tal manera que más adelante en la vida, durante el crecimiento en circunstancias similares, se desarrolla una composición corporal más saludable, con menos masa grasa y/o masa grasa relativa.

20      Ejemplo 4: fórmula infantil con glóbulos lipídicos de mayor tamaño.

[0107] Una fórmula infantil que comprende, por kg de polvo, 4810 kcal, 255 g de lípidos, 533 g de carbohidratos digeribles, 58 g de oligosacáridos no digeribles (galacto-oligosacáridos y fructo-oligosacáridos de cadena larga en una relación en peso de 9/1), 96 g de proteína y vitaminas, minerales, oligoelementos como se conoce en la técnica.

25      [0108] La composición lipídica es tal que el 0,57 % en peso de los lípidos está compuesto de fosfolípidos. La composición comprende aproximadamente 0,17 % en peso de glucoesfingolípidos sobre los lípidos totales. La composición comprende aproximadamente 0,006 % en peso de colesterol sobre los lípidos totales. Como fuente de fosfolípidos, se utilizan glucoesfingolípidos y colesterol SM-2 en polvo (Corman, Goé, Bélgica). Alrededor del 97-98 % de los lípidos son lípidos vegetales, el resto son grasas lácteas, aceite de pescado y aceite microbiano. La cantidad de LC-PUFA es aproximadamente del 0,64 % en peso basado en los ácidos grasos totales. La relación LA/ALA es 5,2.

30      [0109] La homogeneización se realizó de manera similar al ejemplo 1. El diámetro modal volumétrico fue superior a 1  $\mu\text{m}$ . El % en volumen de glóbulos de lípidos con un tamaño entre 2 y 12  $\mu\text{m}$  fue superior al 45 % sobre el volumen total de lípidos.

**REIVINDICACIONES**

## 1. Composición nutricional que comprende

- 5        a) del 10 al 50 % en peso de lípidos vegetales sobre el peso en seco de la composición, y  
       b) glóbulos lipídicos
- 10      i. con un diámetro modal ponderado por volumen superior a 1,0 µm, preferiblemente entre 1,0 y 10 µm,  
          y/o  
       ii. con un diámetro de 2 a 12 µm en una cantidad de al menos 45, más preferiblemente al menos 55 %  
          en volumen sobre los lípidos totales
- 15      y donde la composición comprende del 0,3 al 25 % en peso de lípidos polares sobre los lípidos totales, en  
          donde los lípidos polares son la suma de fosfolípidos, glucoesfingolípidos y colesterol, y en donde la distribución  
          de volumen y tamaño de los glóbulos lipídicos se determina por el método descrito en Michalski et al. al, 2001,  
          Lait 81: 787-796, utilizando un Mastersizer, Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido, como analizador de  
          tamaño de partículas, y donde los glóbulos lipídicos están recubiertos con una capa de lípidos polares, y donde  
          la composición comprende una relación en peso de ácido linoleico a ácido alfa-linolénico de entre 2 y 15,  
          para usar en la prevención de la obesidad y/o reducir el riesgo de obesidad, donde la composición nutricional  
          es para alimentar a un sujeto humano con una edad entre 0 y 36 meses y para prevenir la obesidad más  
          adelante en la vida y/o reducir el riesgo de obesidad más adelante en la vida, cuando dicho sujeto humano  
          tiene una edad superior a 18 años.
- 25      2. Composición nutricional para usar según la reivindicación 1, donde dichos glóbulos lipídicos tienen un diámetro  
          modal ponderado en volumen superior a 3,0 µm.
- 30      3. Composición nutricional para usar según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde al menos el 65 % en  
          volumen de los glóbulos lipídicos sobre los lípidos totales tiene un diámetro entre 2 y 12 µm.
- 35      4. Composición nutricional para usar según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde la composición nutricional  
          es para alimentar a un sujeto humano no obeso.
- 40      5. Composición nutricional para usar según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, para usar en la prevención de  
          la obesidad visceral.
- 45      6. Composición nutricional que comprende
- 50      a) del 10 al 50 % en peso de lípidos vegetales sobre el peso en seco de la composición, y  
          b) glóbulos lipídicos
- 55      i) con un diámetro modal ponderado por volumen superior a 1,0 µm, preferiblemente entre 1,0 y 10 µm,  
          y/o  
       ii) con un diámetro de 2 a 12 µm en una cantidad de al menos 45 % en volumen, más preferiblemente  
          al menos 55 % en volumen sobre los lípidos totales, y
- 60      c) del 0,6 al 25 % en peso de lípidos polares sobre los lípidos totales, en donde los lípidos polares incluyen  
          fosfolípidos, glucoesfingolípidos y colesterol, y en donde los lípidos polares son la suma de fosfolípidos,  
          glucoesfingolípidos y colesterol sobre los lípidos totales,
- 65      y en donde la distribución de volumen y tamaño de los glóbulos lipídicos se determina por el método descrito  
          en Michalski et al, 2001, Lait 81: 787-796, usando un Mastersizer, Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido,  
          como analizador de tamaño de partículas, y en donde los glóbulos lipídicos están recubiertos con una capa de  
          lípidos polares, y en donde la composición comprende una relación en peso de ácido linoleico a ácido alfa-  
          linolénico de entre 2 y 15.
7. Composición según la reivindicación 6, en la que los lípidos tienen un perfil de ácidos grasos con una relación  
          en peso de ácido linoleico a ácido alfa-linolénico de entre 4 y 7.
8. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 6-7, que comprende además al menos un lípido  
          seleccionado del grupo que consiste en aceite de pescado, aceite marino, aceite de algas, aceite de hongos y  
          aceite microbiano.
9. Composición nutricional según cualquiera de las reivindicaciones 6-8, o composición nutricional para usar según  
          cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la composición nutricional es un polvo adecuado para obtener  
          una composición líquida después de la reconstitución con una solución acuosa, preferiblemente con agua.