



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 359 138**

51 Int. Cl.:
A61K 31/593 (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01)
A23D 7/00 (2006.01)
A23D 9/00 (2006.01)
A23L 1/303 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03729446 .9**
96 Fecha de presentación : **14.01.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1465637**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **13.10.2004**

54 Título: **Composiciones de 25-hidroxi vitamina D₃.**

30 Prioridad: **15.01.2002 US 350301 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
18.05.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
18.05.2011

73 Titular/es: **DSM IP ASSETS B.V.**
Het Overloon 1
6411 TE Heerlen, NL

72 Inventor/es: **Mazzaro, Stephen, Thomas;**
Tritsch, Jean-Claude y
Yu, Li-Qun

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 359 138 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).

DESCRIPCION

Composiciones de 25-hidroxi vitamina d3.

La presente invención se refiere a composiciones que contienen 25-hidroxi Vitamina D₃, incluyendo aceites, emulsiones, aceites microencapsulados, y premezclas de piensos. La invención también se refiere a métodos para obtener y usar tales composiciones.

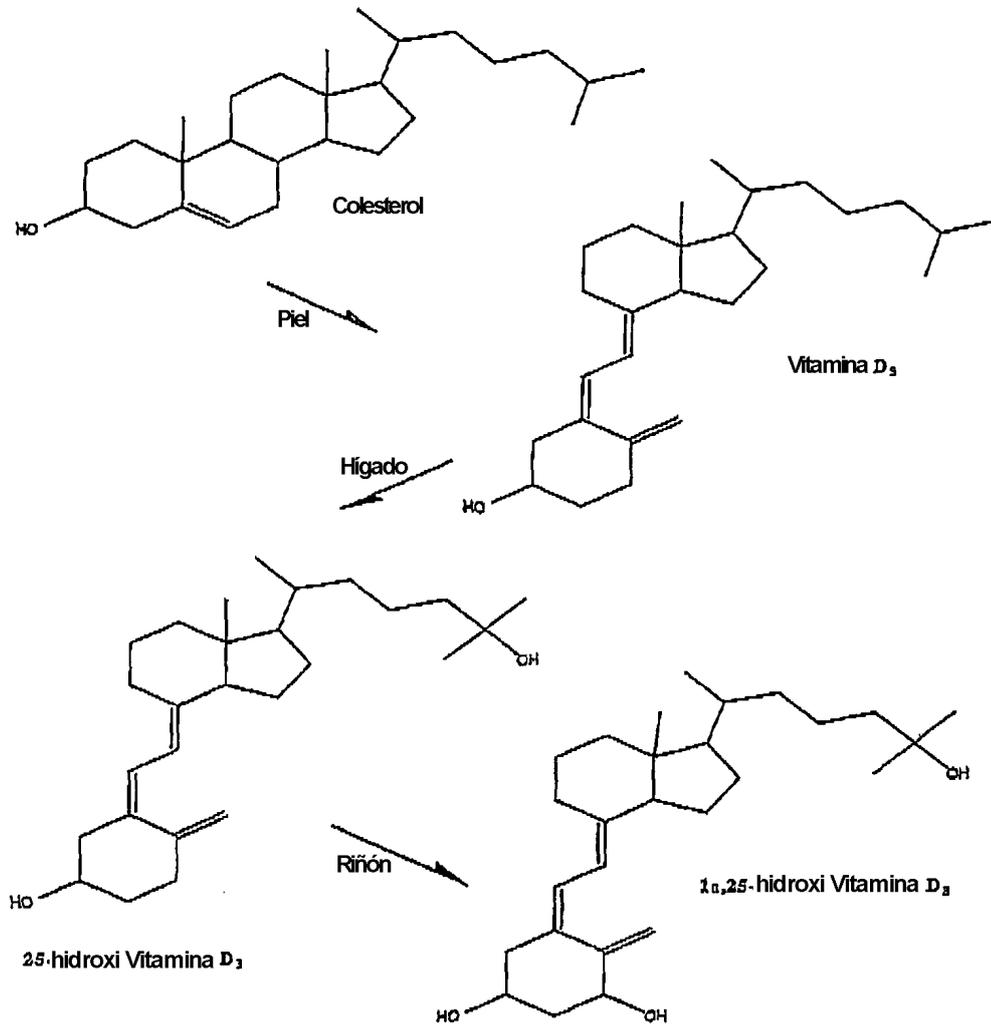
Las vitaminas son útiles como suplementos nutricionales en la dieta de diversos animales. Las vitaminas actúan como catalizadores en casi cualquier ruta bioquímica. Por esa razón, la avitaminosis conduce a numerosas enfermedades y dolencias físicas.

La Vitamina D₃ está implicada en numerosas enfermedades. Demasiada cantidad o demasiada poca Vitamina D₃ en la glándula paratiroide puede conducir a hiperparatiroidismo, hipoparatiroidismo, pseudoparatiroidismo, e hiperparatiroidismo secundario. En el páncreas, la Vitamina D₃ está implicada en la diabetes. En el hígado, los problemas con la Vitamina D₃ conducen a la cirrosis, y a ictericia obstructiva. La Vitamina D₃ está implicada íntimamente en la regulación de niveles de calcio, y en el hueso está implicada en fibrogénesis ósea imperfecta, osteítis fibrosa quística, osteomalacia, osteoporosis, osteopenia, osteosclerosis, osteodistrofia renal, y raquitismo. En el intestino, la Vitamina D₃ desempeña un papel en el antagonismo de glucocorticoides, hipercalcemia idiopática, síndrome de mala absorción, y esprue tropical. La soriasis en la piel, el carcinoma medular en la glándula tiroidea, la sarcoidosis en el pulmón, y el VDRR hipofosfatémico y la enfermedad renal crónica en el riñón están todos afectados por los niveles de Vitamina D₃ en el cuerpo.

La Vitamina D₃ es producida por la piel en condiciones de luz solar normal a través de la oxidación de colesterol. La Vitamina D₃ se convierte entonces por el hígado en 25-hidroxi Vitamina D₃. Finalmente, la 25-
5 hidroxi Vitamina D₃ es convertida por el riñón en 1 α ,25-(OH)₂ Vitamina D₃, que es activa en diversas rutas bioquímicas.

La 25-hidroxi Vitamina D₃ es un depósito de las 1 α ,25-hidroxi Vitaminas D₃ aguas abajo en el cuerpo.
10 Cuando el nivel de Vitamina D₃ es adecuado, la 25-hidroxi Vitamina D₃ se almacena en el hígado. Se libera del hígado, según se necesite, y se procesa posteriormente por el riñón en la molécula activa.

A continuación se muestra la producción de 1 α ,25-
15 (OH)₂ Vitamina D₃.



Por estas razones, es útil proporcionar 25-hidroxi Vitamina D₃ a animales como un suplemento nutricional.

5 Las formulaciones que contienen 25-hidroxi Vitamina D₃ se venden, p.ej., con la marca HY-D (Roche Vitamins Inc., Parsippany, Nueva Jersey).

El documento US 5.695.794 describe una composición de 25-hidroxi Vitamina D₃, adecuada para piensos para
 10 aves. Esta composición se obtiene pulverizando una mezcla fundida a perlas microencapsuladas.

El documento US 6.248.374 describe una composición estable de 25-hidroxi Vitamina D₃, adecuada para aves,

que es estabilizada usando un producto de semilla vegetal en partículas que tiene un contenido de cenizas menor que 10% en peso, y un aditivo alimentario homogéneo.

Desafortunadamente, la 25-hidroxi Vitamina D₃ es inestable en las condiciones convencionales de almacenamiento, dando como resultado una pérdida de actividad por unidad másica dependiente del tiempo. Entre otras cosas, la 25-hidroxi Vitamina D₃ tiene tendencia a la oxidación, particularmente durante el almacenamiento durante períodos prolongados de tiempo. Tal degradación puede afectar de forma adversa a la dosificación de 25-hidroxi Vitamina D₃ cuando se incorpora en piensos para animales.

Por lo tanto, sería ventajoso proporcionar composiciones de 25-hidroxi Vitamina D₃ con características de estabilidad mejoradas bajo un amplio espectro de condiciones y en combinación con diversos aditivos nutricionales. Estos y otros objetos de la presente invención se describen con mayor detalle a continuación.

La presente invención proporciona una composición de aceite que contiene un aceite y 25-hidroxi Vitamina D₃, en la que la 25-hidroxi Vitamina D₃ se disuelve en el aceite en una cantidad entre alrededor de 12,5% y 28% en peso basado en el peso total de la composición de aceite; un antioxidante; y un agente encapsulante, seleccionado del grupo que consiste en: almidón, proteínas procedentes de fuentes animales, gelatina, proteínas procedentes de fuentes vegetales, caseína, pectina, alginato, agar, almidón alimentario modificado, una maltodextrina, un lignina sulfonato, un derivado de celulosa, azúcar, un sacárido, un sorbitol, una goma, y sus mezclas. Estas

composiciones de aceite se pueden incorporar ventajosamente en muchas otras composiciones, especialmente emulsiones, aceites microencapsulados, y premezclas de piensos.

5 El aceite empleado en la presente invención puede ser cualquier aceite o grasa comestible, que tiene preferiblemente un contenido elevado de ácido láurico, *p.ej.*, aceite de babassu, aceite de coco, aceite de cohune, sebo de murumyru, aceite de pepita de palma,
10 aceite de tucuma. El aceite puede ser natural, sintético, semisintético, o sus mezclas. Los aceites naturales pueden derivar de cualquier fuente, *p.ej.*, animal, vegetal, fúngica, marina. Los aceites sintéticos y semisintéticos se pueden producir por cualquier medio
15 conveniente.

Los aceites preferidos son aceite de coco, aceite de babassu, aceite de cohune y aceite de pepita de palma.

La 25-hidroxi Vitamina D₃ se puede obtener de cualquier fuente. Por ejemplo, la producción de 25-
20 hidroxi Vitamina D₃ se describe en el documento US 3.565.924, y el aislamiento de 25-hidroxi Vitamina D₃ se describe en el documento US 4.310.467.

La composición de aceite se puede preparar por cualquier medio conveniente. Generalmente, los cristales
25 de 25-hidroxi Vitamina D₃ se disuelven en el aceite calentando con agitación. Preferiblemente, el aceite se coloca en primer lugar en una vasija apropiada y se calienta hasta la temperatura deseada. Después, se añade 25-hidroxi Vitamina D₃ al aceite, en una cantidad
30 apropiada, mientras se mantiene la temperatura del aceite o se incrementa a lo largo del tiempo. La composición de aceite se agita entonces durante un tiempo suficiente

para disolver los cristales de la 25-hidroxi Vitamina D₃. Antes de la adición al aceite, los cristales de 25-hidroxi Vitamina D₃ se pueden reducir en tamaño por cualquier medio conveniente, incluyendo molienda y/o
5 tamizado, para potenciar la disolución. La agitación se puede lograr por cualquier medio conveniente, incluyendo agitación, rotación de la vasija, mezclamiento, homogeneización, recirculación, y tratamiento con ultrasonidos.

10 Convenientemente, el aceite se calienta hasta 80-85°C, la 25-hidroxi Vitamina D₃ se introduce en la vasija, y la temperatura se mantiene durante dos horas mientras se agita la composición de aceite.

15 Generalmente, la 25-hidroxi Vitamina D₃ se disuelve en el aceite en una cantidad entre alrededor de 12,5% y 28% en peso, basada en el peso total de la composición de aceite.

La composición de aceite puede contener opcionalmente cualquier otro material adecuado,
20 incluyendo, pero sin limitarse a, antioxidantes, conservantes, agentes de disolución, tensioactivos, agentes o tampones que ajustan el pH, humectantes, y sus mezclas.

El antioxidante adecuado incluye tocoferoles
25 mixtos, tocoferoles procedentes de fuentes naturales o sintéticas, etoxiquina (EMQ) (6-etoxi-1,2-dihidro-2,2,4-trimetil-quinolina), hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), antioxidantes naturales como extracto de romero, galato de propilo, y sus
30 mezclas. Preferiblemente, el antioxidante es EMQ.

Los conservantes adecuados incluyen metilparabeno, propilparabeno, sorbato de potasio, benzoato de sodio,

ácido benzoico, y sus mezclas. Los agentes de disolución adecuados incluyen disolventes inorgánicos u orgánicos, incluyendo alcoholes, hidrocarburos clorados, y sus mezclas.

5 Los tensioactivos pueden ser aniónicos, catiónicos o no iónicos. Los tensioactivos adecuados incluyen palmitato de ascorbilo, polisorbatos, polietilenglicoles, y sus mezclas. Los agentes o tampones que ajustan el pH adecuados incluyen ácido cítrico-citrato de sodio, ácido 10 fosfórico-fosfato de sodio, ácido acético-acetato de sodio, y sus mezclas. Los humectantes adecuados incluyen glicerol, sorbitol, polietilenglicol, propilenglicol, y sus mezclas.

Según parece, la estabilidad potenciada de las 15 diversas composiciones de la presente invención es atribuible, por un lado, a una separación física del componente de 25-hidroxi Vitamina D₃ lábil, y, por otro lado, a minerales, metales de transición, y/o peróxidos añadidos a menudo a las premezclas de piensos para 20 animales y piensos para animales. Esta estabilidad potenciada es de ventaja práctica, como se muestra en los datos comparativos en los Ejemplos más abajo. Por lo tanto, preferiblemente, las composiciones de aceite de la invención no contienen ningún mineral, metal de 25 transición, o peróxidos.

Una vez formada, la composición de aceite de la invención se puede incorporar en otras diversas composiciones útiles, algunas de las cuales se explican 30 más abajo. Por ejemplo, se pueden formar emulsiones, que se pueden convertir en diversos aceites encapsulados que tienen propiedades de estabilidad superiores.

La presente invención también proporciona una

emulsión que comprende una composición acuosa y una composición de aceite, en la que la composición de aceite comprende 25-hidroxi Vitamina D₃ disuelta en el aceite en una cantidad entre alrededor de 12,5% y 28% en peso
5 basado en el peso total de la composición oleosa.

Se puede preparar una variedad de emulsiones combinando las composiciones de aceite descritas anteriormente con una composición acuosa. La emulsión puede ser de cualquier tipo. Las emulsiones adecuadas
10 incluyen emulsiones de aceite en agua, emulsiones de agua en aceite, emulsiones anhidras, emulsiones sólidas, y microemulsiones. Las emulsiones se pueden preparar por cualquier método conveniente.

Como se usa aquí, las expresiones "composición acuosa" y "fase acuosa" se usan de forma intercambiable.
15

Generalmente, las emulsiones contienen desde alrededor de 20% hasta alrededor de 95% de una composición acuosa, y desde alrededor de 5% hasta alrededor de 80% de una composición de aceite.
20 Preferiblemente, sin embargo, la emulsión contiene desde alrededor de 85% hasta alrededor de 95% de una composición acuosa, y desde alrededor de 5% hasta alrededor de 15% de una composición de aceite.

Convenientemente, la composición de aceite se puede dispersar como gotitas en la composición acuosa. Por
25 ejemplo, las gotitas pueden tener un diámetro medio menor que alrededor de 500 nm en la composición acuosa. Convenientemente, las gotitas tienen un diámetro medio entre alrededor de 100 nm y alrededor de 200 nm.

También se proporciona un aceite microencapsulado que comprende una composición de aceite y un agente de encapsulamiento que encapsula a la composición de aceite,
30

en el que la composición de aceite contiene 25-hidroxi Vitamina D₃ disuelta en una cantidad entre alrededor de 12,5% y 28% en peso basado en el peso total de la composición de aceite, un antioxidante, y un agente encapsulante seleccionado del grupo que consiste en: 5 almidón, proteínas procedentes de fuentes animales, gelatina, proteínas procedentes de fuentes vegetales, caseína, pectina, alginato, agar, almidón alimentario modificado, una maltodextrina, un lignina sulfonato, un derivado de celulosa, azúcar, un sacárido, un sorbitol, 10 una goma, y sus mezclas. Además, se proporciona un método para obtener el aceite microencapsulado, que comprende proporcionar una composición de aceite en la que se disuelve 25-hidroxi Vitamina D₃ en un aceite en una 15 cantidad entre alrededor de 5% y 50% en peso basada en el peso total de la composición oleosa, y encapsular la composición de aceite en un agente encapsulante.

En una realización particularmente ventajosa, la emulsión contiene un agente encapsulante, que facilita el 20 microencapsulamiento de la composición de aceite con el procesamiento posterior de la emulsión, por ejemplo secando por pulverización. Como se usa aquí, las expresiones "agente encapsulante" y "agente de encapsulamiento" se usan de forma intercambiable.

25 El agente encapsulante puede ser cualquier sustancia comestible capaz de encapsular la composición de aceite. Preferiblemente, el agente encapsulante es capaz de eliminar el contacto entre la 25-hidroxi Vitamina D₃ y el entorno cuando la composición de aceite 30 es encapsulada por el agente encapsulante. Preferiblemente, el agente de encapsulamiento es predominantemente un material coloidal. Tales materiales

incluyen almidones, proteínas procedentes de fuentes animales (incluyendo gelatinas), proteínas procedentes de fuentes vegetales, caseína, pectina, alginato, agar, maltodextrinas, lignina sulfonatos, derivados de
5 celulosa, azúcares, sacáridos, sorbitoles, gomas, y sus mezclas.

Los almidones adecuados incluyen: almidones vegetales (*p.ej.*, CAPSUL® (National Starch & Chemical Corp., Nueva York, Nueva York), HI-CAP® (National Starch & Chemical Corp., Nueva York, Nueva York)), otros
10 almidones alimentarios modificados, y sus mezclas. Preferiblemente, el almidón es CAPSUL®.

Las proteínas adecuadas procedentes de fuentes animales incluyen: gelatinas (*p.ej.*, gelatinas bovinas, gelatinas porcinas (Tipo A o B) con diferentes números de Bloom, gelatinas de pescados), proteína de leche desnatada, caseinato, y sus mezclas. Preferiblemente, la proteína procedente de una fuente animal es una gelatina. Las proteínas adecuadas procedentes de fuentes vegetales
15 incluyen: proteína de patata (*p.ej.*, ALBUREX® (Roquette Preres Societe Anonyme, Lestrem, Francia)), proteína de guisante, proteína de soja, y sus mezclas. Preferiblemente, la proteína procedente de una fuente vegetal es proteína de patata ALBUREX®.
20

Las maltodextrinas adecuadas con un equivalente de dextrosa diferente incluyen: maltodextrina 5, maltodextrina 10, maltodextrina 15, maltodextrina 20, maltodextrina 25, y sus mezclas. Preferiblemente, la maltodextrina es maltodextrina 15.
25

Los derivados de celulosa adecuados incluyen: etilcelulosa, metiletilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, y sus
30

mezclas. Los sacáridos adecuados incluyen lactosa, sacarosa, o sus mezclas. Preferiblemente, el sacárido es sacarosa. Las gomas adecuadas incluyen: arábica, algarrobbillo, carrageenano, y sus mezclas.
5 Preferiblemente, la goma es goma arábica.

Cuando la emulsión de la invención contiene un agente encapsulante, el agente encapsulante se puede dispersar en agua por cualquier medio adecuado para formar una fase acuosa. La fase acuosa puede ser una
10 disolución o una mezcla, dependiendo de las propiedades de los componentes seleccionados. Los componentes seleccionados se pueden dispersar por cualquier medio adecuado, incluyendo: homogeneización, mezclamiento, emulsionamiento, recirculación, mezclamiento estático,
15 ultrasonidos, agitación, calentamiento, y sus combinaciones. La viscosidad de la fase acuosa resultante se puede ajustar entonces, según se desee, mediante adición de agua.

La composición acuosa de la emulsión puede contener
20 opcionalmente cualquier otro material adecuado, incluyendo, pero sin limitarse a, aquellos explicados anteriormente en referencia a la composición de aceite. Preferiblemente, la composición acuosa puede incluir un agente encapsulante, un agente formador de película, un
25 plastificante, un conservante, un antioxidante, y sus mezclas.

Los antioxidantes adecuados incluyen ascorbato de sodio, ácido ascórbico, ácido cítrico, y sus mezclas. Los conservantes adecuados incluyen metilparabeno,
30 propilparabeno, ácido sórbico, sorbato de potasio, benzoato de sodio, y sus mezclas.

Preferiblemente, la fase acuosa contiene un almidón

alimentario modificado, tal como octenil succinil almidón (CAPSUL®), maltodextrina, y ascorbato de sodio. Los componentes seleccionados se pueden disolver en agua por cualquier medio adecuado, preferiblemente agitación. La
5 viscosidad final de la fase acuosa resultante se puede ajustar entonces a la viscosidad deseada, preferiblemente alrededor de 250 a alrededor de 450 cp, más preferiblemente alrededor de 300 a alrededor de 400 cp, incluso más preferiblemente alrededor de 385 cp.

10 Otra fase acuosa preferida contiene proteína de patata (ALBUREX®), maltodextrina 20, y ascorbato de sodio. Los componentes seleccionados se dispersan en el agua, preferiblemente mediante homogeneización. La mezcla se homogeneiza preferiblemente hasta que es uniforme y
15 está libre de grumos. Preferiblemente, la homogeneización se lleva a cabo a una temperatura entre alrededor de 50°C y alrededor de 75°C.

Preferiblemente, las composiciones en emulsión de la invención no deberían contener ningún mineral, metal
20 de transición, o peróxido.

La emulsión se puede formar emulsionando la composición de aceite y la fase acuosa por cualquier medio, incluyendo homogeneización, cizallamiento de rotor-estator, cizallamiento a alta presión y cavitación,
25 agitación de tipo "cowles" o de cizallamiento de alta velocidad, y sus combinaciones. El volumen y viscosidad de la emulsión se pueden ajustar preferiblemente por adición de agua tras el emulsionamiento.

Convenientemente, la composición de aceite y la
30 composición acuosa se emulsionan mediante homogeneización.

Como se señala anteriormente, la emulsión se puede

incorporar o emplear para producir otras composiciones útiles, especialmente aceites microencapsulados, p.ej., polvos secados por pulverización.

Generalmente, los aceites microencapsulados
5 comprenden una composición de aceite, un antioxidante, y un agente de encapsulamiento que encapsula a la composición de aceite, en los que la composición de aceite contiene 25-hidroxi Vitamina D₃ disuelta en el aceite en una cantidad entre alrededor de 12,5 y 28% en
10 peso basado en el peso total de la composición de aceite.

El aceite microencapsulado se puede producir por cualquier medio conveniente. Convenientemente, la composición de aceite se encapsula secando una emulsión descrita anteriormente por cualquier medio adecuado,
15 incluyendo secado por pulverización, liofilización, secado en lecho fluidizado, secado en bandeja, adsorción, y sus combinaciones. Preferiblemente, el aceite microencapsulado se produce secando por pulverización una emulsión que tiene una fase acuosa como se define
20 anteriormente, que contiene un agente de encapsulamiento. Los parámetros del secado por pulverización están dictados por las características físicas deseadas en el aceite microencapsulado final. Tales parámetros físicos incluyen tamaño de partículas, forma y fluidez del polvo,
25 y contenido de agua.

Concentraciones bajas de aceite en el aceite microencapsulado, con relación a la 25-hidroxi Vitamina D₃, conducen a una protección aumentada de la 25-hidroxi Vitamina D₃ y a una elevada recuperación de la 25-hidroxi
30 Vitamina D₃ durante el proceso de encapsulamiento. Convenientemente, el aceite está en una cantidad menor que alrededor de 30% en peso basado en el peso total del

aceite microencapsulado, más convenientemente menor que alrededor de 20%, más preferiblemente menor que alrededor de 10%, e incluso más preferiblemente menor que alrededor de 5%.

5 El aceite microencapsulado debería tener una buena capacidad de fluidez, y la 25-hidroxi Vitamina D₃ se debería de distribuir homogéneamente por toda la composición. Convenientemente, el aceite microencapsulado es un polvo.

10 Se puede añadir cualquier otro aditivo adecuado al aceite microencapsulado. Uno de tales aditivos puede ser un agente de fluidez, tal como dióxido de silicio, para incrementar la capacidad de fluidez del aceite microencapsulado.

15 El aceite microencapsulado se puede incorporar o emplear para producir otras diversas composiciones útiles, incluyendo composiciones de premezclas de piensos.

La presente invención también proporciona una
20 composición de premezcla de piensos que comprende un aceite microencapsulado de la invención mezclado con al menos un aditivo nutricional. También se proporciona un método para obtener la composición de premezcla de piensos, que comprende proporcionar un aceite
25 microencapsulado que comprende una composición de aceite, en el que la 25-hidroxi Vitamina D₃ se disuelve en un aceite en una cantidad entre alrededor de 12,5 y 28% en peso basado en el peso total de la composición oleosa, y un antioxidante, encapsulado en un agente encapsulante.
30 La composición de aceite microencapsulado se mezcla entonces con un aditivo nutricional.

Como se usa aquí, la expresión "aditivo

nutricional" significa cualquier sustancia añadida a los piensos para animales y a premezclas de piensos para animales para añadir valor nutricional al producto, para ajustar el valor nutricional del producto, o para ayudar a añadir valor nutricional al producto. Los aditivos nutricionales adecuados incluyen: vitaminas, provitaminas, minerales, fitasa activa, aminoácidos, carotenoides, almidones, harina de pescado, colina, aditivos medicinales, vehículos, y sus combinaciones.

Las vitaminas adecuadas incluyen todas las vitaminas y sus derivados (Vitamina A, Vitamina E, Vitamina B₁₂, Vitamina B₃, niacina, ácido d-pantoténico, ácido fólico, Vitamina B₆, Vitamina B₁, Vitamina D₃, Vitamina C, Vitamina B₂, y sus combinaciones). Se puede emplear cualquier provitamina o mezcla de provitaminas, tal como beta-caroteno. Los minerales adecuados y sus sales incluyen manganeso, cinc, sulfato de hierro (monohidratado), óxido de cobre, sulfato de cobalto, yodo, selenio, y sus combinaciones.

Se puede emplear cualquier aminoácido adecuado. Los carotenoides adecuados incluyen: CAROPHYLL® Red (Roche Vitamins Inc., Parsippany, Nueva Jersey), beta caroteno, astaxantina, y sus combinaciones. Los almidones adecuados incluyen: almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de patata, almidón de tapioca, y sus combinaciones.

Los aditivos medicinales adecuados incluyen: fármacos, potenciadores del comportamiento, antibióticos, anticoccidiales, y sus mezclas. Los vehículos adecuados incluyen: caliza, mulluelo de trigo, harina de maíz, cáscaras de arroz, carbonato de calcio, y sus combinaciones.

Convenientemente, la composición de premezcla de

piensos contiene Vitamina A, Vitamina E, Vitamina B₁₂, Vitamina B₃, niacina, ácido d-pantoténico, ácido fólico, Vitamina B₆, Vitamina B₁, caliza, y cáscaras de arroz.

Otra composición de premezcla de piensos preferida
5 contiene Vitamina E, Vitamina B₃, carotenoides, cloruro de colina, óxido de manganeso, óxido de cinc, sulfato de hierro, óxido de cobre, sulfato de cobalto, y moyuelo de trigo. Todavía otra composición de premezcla de piensos preferida de la invención contiene una enzima fitasa.

10 La composición de premezcla de piensos se puede producir por cualquier medio conveniente conocido en la técnica, combinando el aceite microencapsulado con cualesquiera aditivos nutricionales seleccionados, incluyendo por mezclamiento, adhesión, dispersión del
15 ingrediente microencapsulado en un disolvente apropiado y pulverizándolo sobre el aditivo nutricional, y sus combinaciones. Convenientemente, la composición de premezcla de piensos se produce mezclando el aceite microencapsulado con cualesquiera aditivos nutricionales
20 seleccionados.

Las composiciones de premezcla de piensos se pueden añadir a una variedad de productos alimentarios para animales. Por ejemplo, se pueden añadir a pienso para
25 aves de corral (*p.ej.*, pollos pequeños, pollos adultos, gallinas, pavos), pienso para cerdos, para canes, y para felinos.

Generalmente, la premezcla se combina con el producto alimentario animal en una cantidad para proporcionar 50 ppb a 200 ppb (partes por billón) de 25-
30 hidroxí Vitamina D₃, basado en el pienso acabado.

Según lo anterior, la presente invención proporciona así

- (a) Una composición de aceite que comprende un aceite, por ejemplo seleccionado del grupo que consiste en aceite de babassu, de coco, de cohune, sebo de murumyru, aceite de pepita de palma y aceite de tucuma, preferiblemente aceite de coco y aceite de pepita de palma, y 25-hidroxi Vitamina D₃, en la que la 25-hidroxi Vitamina D₃ se disuelve en el aceite en una cantidad entre alrededor de 12,5% y 28% en peso, basado en el peso total de la composición de aceite. que comprende además un antioxidante, p.ej. seleccionado del grupo que consiste en tocoferoles mixtos, tocoferoles, etoxiquina, hidroxitolueno butilado, hidroxianisol butilado, antioxidantes naturales y galato de propilo; y un agente de encapsulamiento que encapsula la composición de aceite, p.ej. seleccionado del grupo que consiste en almidones, proteínas procedentes de fuentes animales, proteínas procedentes de fuentes vegetales, caseína, pectina, alginato, agar, maltodextrinas, ligninosulfonatos, derivados de celulosa, azúcares, sacáridos, sorbitoles y gomas; preferiblemente, el agente de encapsulamiento es almidón.
- (b) Una emulsión que comprende una composición de aceite que comprende un aceite y 25-hidroxi Vitamina D₃, en la que la 25-hidroxi Vitamina D₃ se disuelve en el aceite en una cantidad entre alrededor de 12,5 y 28% en peso basado en el peso total de la composición oleosa; y una composición acuosa, p.ej. una composición acuosa que comprende un agente encapsulante y agua,
- (c) Una emulsión igual que en (b), en la que la

composición de aceite se dispersa como gotitas en la composición acuosa, p.ej. como gotitas que tienen un diámetro medio menor que alrededor de 500 nm, preferiblemente un diámetro medio entre alrededor de

5 100 nm y alrededor de 200 nm.

(d) Una composición de aceite microencapsulada como en (a), en la que el aceite se selecciona del grupo que consiste en aceite de babassu, de coco, de cohune, sebo de murumyru, aceite de pepita de palma y

10 aceite de tucuma, preferiblemente el aceite se selecciona de aceite de coco y aceite de pepita de palma.

(e) Una composición de aceite microencapsulado como en (d), en la que el agente de encapsulamiento es almidón, y el aceite es aceite de coco o aceite de

15 pepita de palma.

(f) Una composición de premezcla de piensos que comprende un aceite microencapsulado como en (a) y al menos un aditivo nutricional, p.ej. un aditivo

20 nutricional seleccionado del grupo que consiste en vitaminas, provitaminas, minerales, fitasa activa, aminoácidos, carotenoides, almidón, harina de pescado, colina, y vehículos; preferiblemente, los aditivos nutricionales son Vitamina D₃, Vitamina A, Vitamina E, Vitamina B₁₂, Vitamina B₃, niacina, pantotenato de calcio, Vitamina K₃, ácido fólico, Vitamina B₆, Vitamina B₁, caliza, y cáscaras de

25 arroz; o Vitamina E, Vitamina B₃, carotenoides, cloruro de colina, óxido de manganeso, óxido de cinc, sulfato de hierro, óxido de cobre, sulfato de

30 cobalto, y moyuelos de trigo.

(g) Una composición de premezcla de piensos como en

- (f), en la que el aceite se selecciona del grupo que consiste en aceite de babassu, de coco, de cohune, sebo de murumyru, aceite de pepita de palma, y aceite de tucuma, preferiblemente aceite de coco y aceite de pepita de palma.
- 5
- (h) Una composición de premezcla de piensos como en (g), en la que el agente de encapsulamiento es almidón, y el aceite es aceite de coco o aceite de pepita de palma.
- 10
- (i) Un método para obtener un aceite microencapsulado como en (a), que comprende combinar la composición de aceite y la composición acuosa para formar una emulsión; y secar la emulsión para formar el aceite microencapsulado, p.ej. secando mediante secado por pulverización.
- 15
- (j) Un método para obtener una premezcla de piensos, que comprende proporcionar una composición de aceite microencapsulado en (a), y mezclar la composición de aceite microencapsulado con al menos un aditivo nutricional, p.ej. un aditivo nutricional seleccionado del grupo que consiste en vitaminas, provitaminas, minerales, fitasa activa, aminoácidos, carotenoides, almidones, harina de pescado, colina, aditivos y vehículos médicos.
- 20
- (k) Un método para obtener una premezcla de piensos como en (j), en el que el aceite se selecciona del grupo que consiste en aceite de babassu, de coco, de cohune, sebo de murumyru, aceite de pepita de palma, y aceite de tucuma, preferiblemente aceite de coco y aceite de pepita de palma.
- 25
- 30
- (l) Un método para obtener una premezcla de piensos como en (k), en el que el agente de encapsulamiento

es almidón, y el aceite es aceite de coco o aceite de pepita de palma.

Los siguientes ejemplos se proporcionan para
5 ilustrar adicionalmente las composiciones y métodos de la presente invención. Estos ejemplos son sólo ilustrativos, y no pretenden limitar de ninguna manera el alcance de la invención.

10 **Ejemplo 1: Composiciones de aceite**

Las composiciones de aceite de la presente
invención se preparan disolviendo 25-hidroxi Vitamina D₃
en un aceite con calentamiento y/o agitación, en las
15 siguientes proporciones.

Tabla 1. Composiciones de aceite.

25-OH-Vit D ₃ [g]	Aceite	Aceite [g]	25-OH-Vit D ₃ [% en peso]
5	Coco	95	5
5	Pepita de palma	95	5
10	Coco	90	10
10	Pepita de palma	90	10
15	Coco	85	15
15	Pepita de palma	85	15
20	Coco	80	20
20	Pepita de palma	80	20

25-OH-Vit D ₃ [g]	Aceite	Aceite [g]	25-OH-Vit D ₃ [% en peso]
25	Coco	75	25
25	Pepita de palma	75	25
30	Coco	70	30
30	Pepita de palma	70	30
35	Coco	65	35
35	Pepita de palma	65	35
40	Coco	60	40
40	Pepita de palma	60	40
45	Coco	55	45
45	Pepita de palma	55	45
50	Coco	50	50
50	Pepita de palma	50	50

25-OH-Vit D₃: 25-hidroxi Vitamina D₃

Ejemplo 2: Composiciones de aceite

Las composiciones de aceite de la presente
 5 invención se preparan disolviendo 25-hidroxi Vitamina D₃
 y un antioxidante en un aceite con calentamiento y/o
 agitación, en las siguientes proporciones.

Tabla 2. Composiciones de aceite que contienen un
 antioxidante.

25-OH-Vit D ₃ [g]	Aceite	Aceite [g]	Antioxidante	Antioxidante [g]	25-OH- Vit D3 [% en peso]
5	coco	85	EMQ	10	5
5	coco	75	BHT	20	5
5	pepita de palma	85	EMQ	10	5
5	pepita de palma	75	BHT	20	5
15	coco	75	EMQ	10	15
15	coco	65	BHT	20	15
15	pepita de palma	75	EMQ	10	15
15	pepita de palma	65	BHT	20	15
15	coco	60	EMQ	10	30
30	coco	50	BHT	20	30
30	pepita de palma	60	EMQ	10	30
30	pepita de palma	50	BHT	20	30
40	coco	50	EMQ	10	40
40	coco	40	BHT	20	40
40	pepita de palma	50	EMQ	10	40
40	pepita de palma	40	BHT	20	40
50	coco	40	EMQ	10	50
50	coco	30	BHT	20	50
50	pepita de	40	EMQ	10	50

25-OH-Vit D ₃ [g]	Aceite	Aceite [g]	Antioxidante	Antioxidante [g]	25-OH-Vit D ₃ [% en peso]
	palma				
50	pepita de palma	30	BHT	20	50
25-OH-Vit D ₃ : 25-hidroxi Vitamina D ₃					

Ejemplo 3: Emulsión

Una emulsión según la presente invención se preparó dispersando una composición de aceite según la presente invención (p.ej., aquellas de los Ejemplos 1 y 2) en una composición acuosa.

La composición de aceite contenía: 7,2 kg de 25-hidroxi Vitamina D₃; 27,6 kg de aceite de coco; y 19,88 kg de EMQ. La composición de aceite se produjo mezclando el aceite de coco, EMQ, y 25-hidroxi Vitamina D₃, y calentando hasta aproximadamente 85°C. La agitación se continuó durante 90 minutos a una temperatura constante. En este momento, todos los cristales de 25-hidroxi Vitamina D₃ habían pasado a la disolución, como se determina a la vista de la disolución bajo un microscopio.

La composición de aceite contenía: 376,35 kg de CAPSUL®; 78,09 kg de maltodextrina 15; 12,81 kg de ascorbato de sodio; y 437,64 kg de agua. Para preparar la fase acuosa, se combinaron los ingredientes. Con mezclamiento y calefacción, los ingredientes secos se disolvieron fácilmente en el agua. La viscosidad de esta

disolución fue alrededor de 385 cps.

La composición de aceite se añadió a la composición acuosa y se homogeneizó en un homogeneizador durante 30 minutos. Durante la homogeneización, se formó una emulsión en la que las gotitas de la composición de aceite tienen un diámetro de aproximadamente 150 nm.

Ejemplo 4: Composición de aceite microencapsulado

Una composición de aceite microencapsulado de la presente invención se preparó secando por pulverización la emulsión del Ejemplo 3 usando los siguientes parámetros:

Temperatura de entrada	135°C
Temperatura de salida	102°C
Entrada de Microclon	4,1
Entrada de ventilador	14,6
Alimentador de sílice	Ajustado para proporcionar alrededor de 1% de sílice en producto seco
Atomizador RPM	17000 parte A 15000 parte B
Velocidad de la bomba	17 parte A 21 parte B
Humedad del producto	1,9 a 2,25%

El aceite microencapsulado fue un polvo bronceado que tiene las siguientes características:

Densidad aparente del	~0,42 g/ml
-----------------------	------------

polvo suelto			
Densidad aparente	del		~0,5 g/ml
polvo golpeado			
Polvo fino			~169 mg/25 g
Ángulo de reposo			~49°
Flujo de Agway			Ninguno
Pérdida al secar			~2,6%

Además, la composición de aceite microencapsulado mostró un grado elevado de homogeneidad, según se mide mediante la capacidad de absorción de UV del polvo.

5

Ejemplo 5: Estabilidad

Se produjeron dos lotes de una composición de aceite microencapsulado de la presente invención [Invención 001 (o Invención 1 o Lote 001) e Invención 002 (o Invención 2 o Lote 002)] como se expone más abajo. La estabilidad de estos lotes se comparó con un producto comercial de la técnica anterior en forma de una perla microencapsulada de cera (Técnica Anterior). Los dos lotes y el producto comercial se almacenaron todos a 11°C o 25°C durante un tiempo de hasta 4 meses.

Los dos lotes ensayados contenían aproximadamente 1,25% en peso de 25-hidroxi Vitamina D₃ preparada según el Ejemplo 3 y 4.

Los siguientes datos demuestran que los aceites microencapsulados de la presente invención mostraron una estabilidad enormemente incrementada con respecto al producto comercial. Adicionalmente, los aceites microencapsulados de la presente invención mostraron una

ralentización en la cinética de degradación, indicando que la velocidad de degradación de 25-hidroxi Vitamina D₃ disminuye enormemente tras un período inicial de almacenamiento.

5 El Lote 001 presenta valores iniciales más elevados para el contenido de 25-hidroxi Vitamina D₃ que el Lote 002.

Almacenamiento a 11°C

10

La Figura 1 muestra el % de retención de Vitamina D₃ de la 25-hidroxi Vitamina D₃ (% de ingrediente activo por peso de composición total) en aceites microencapsulados según la presente invención, según se compara con una formulación de la técnica anterior, a diversos tiempos de almacenamiento a 11°C. Las composiciones de la presente invención presentaron una estabilidad mejorada en comparación con el producto comercial, en todos los puntos de tiempo.

20

La Figura 2 muestra el porcentaje de retención de 25-hidroxi Vitamina D₃ en aceites microencapsulados según la presente invención, en comparación con una formulación de la técnica anterior, a diversos tiempos de almacenamiento a 11°C. La Figura 2 muestra una meseta en el % de retención de 25-hidroxi Vitamina D₃, y demuestra una ralentización de la cinética de degradación en las composiciones de la presente invención.

30

Almacenamiento a 25°C

La Figura 3 muestra el % de retención de Vitamina D₃ de la 25-hidroxi Vitamina D₃ (% de ingrediente activo por peso de composición total) en aceites microencapsulados según la presente invención, según se
5 compara con una formulación de la técnica anterior, a diversos tiempos de almacenamiento a 25°C. Las composiciones de la presente invención presentaron una estabilidad mejorada en comparación con el producto comercial, en todos los puntos de tiempo.

10 La Figura 4 muestra el porcentaje de retención de 25-hidroxi Vitamina D₃ en aceites microencapsulados según la presente invención, en comparación con una formulación de la técnica anterior, a diversos tiempos de almacenamiento a 25°C. La Figura 4 muestra una meseta en
15 el % de retención de 25-hidroxi Vitamina D₃ a 25°C, y demuestra una ralentización de la cinética de degradación en las composiciones de la presente invención.

Almacenamiento a 37°C

20 A esta temperatura, las perlas microencapsuladas de la técnica anterior comenzaron a degradarse y formar un bloque sólido que ya no era un polvo. Por esta razón, la perla microencapsulada de la técnica anterior no se pudo
25 disolver en el disolvente como es habitual, y no se pudieron obtener datos de retención fiables. Las composiciones de la presente invención no sufrieron tal degradación, y retuvieron una buena capacidad de fluidez y densidad aparente a esta temperatura elevada de
30 almacenamiento en todos los puntos de tiempo.

La Figura 5 muestra la regresión lineal de los datos de retención de la 25-hidroxi Vitamina D₃ para

aceites microencapsulados según la presente invención, en comparación con una formulación de la técnica anterior a diversos tiempos de almacenamiento a diversas temperaturas. La regresión demuestra que las composiciones de la presente invención tienen una estabilidad enormemente mejorada con respecto al producto comercial, a ambas temperaturas y en todos los tiempos de almacenamiento. Además, la pendiente de las curvas de regresión demuestra claramente que la velocidad de degradación para la 25-hidroxi Vitamina D₃ en las composiciones de aceite microencapsulado de la presente invención es mucho menor que la de la perla microencapsulada de la técnica anterior en todos los tiempos de almacenamiento y en todas las temperaturas. En consecuencia, incluso después de un tiempo de almacenamiento corto, las composiciones de la presente invención retendrán significativamente más 25-hidroxi Vitamina D₃ en comparación con la perla microencapsulada de la técnica anterior.

20

Ejemplo 6: Composición de Premezcla

Se preparó una premezcla básica para uso en pienso para animales que tiene los siguientes componentes en las siguientes proporciones en porcentaje en peso basado en el peso total de la premezcla.

Tabla 3. Composición de premezcla

COMPONENTE	% EN PESO EN LA PREMEZCLA
25-hidroxi Vitamina D ₃ , 1,25%	0,64
Vitamina A	6,40
Vitamina E	16,00
Vitamina B ₁₂	6,40
Vitamina B ₃	2,00
Niacina	8,00
Pantotenato de calcio	4,00
Vitamina K ₃	0,94
Ácido fólico	0,90
Vitamina B ₆	0,96
Vitamina B ₁	0,62
Caliza	29,00
Cáscaras de arroz	24,14

Ejemplo 7: Estabilidad de la Premezcla

5

Se prepararon tres premezclas, premezcla COMPLETA, premezcla VITAMINA, y premezcla BÁSICA, para uso en pienso para animales, que tienen los siguientes componentes en las siguientes proporciones en porcentaje en peso basado en el peso total de la premezcla.

10

Tabla 4. Composición de las premezclas

COMPONENTE	COMPLETA	VITAMINA	BÁSICA
25-hidroxi Vitamina D ₃ , 1,25%	0,50	1,00	1,57
Vitamina D ₃		0,64	
Vitamina A		6,40	
Vitamina E	0,40	16,00	

COMPONENTE	COMPLETA	VITAMINA	BÁSICA
Vitamina B ₁₂		6,40	
Vitamina B ₃	0,05	2,00	
Niacina		8,00	
Pantotenato de calcio		4,00	
Vitamina K ₃		0,94	
Ácido fólico		0,90	
Vitamina B ₆		0,96	
Vitamina B ₁		0,62	
Carotenoides	0,20		
Cloruro de colina, 50%	1,50		
Óxido de manganeso	3,00		
Óxido de cinc	0,60		
Sulfato de hierro (monohidratado)	1,00		
Óxido de cobre	0,10		
Sulfato de cobalto	0,01		
Aceite			1,00
Caliza		28,00	19,93
Cáscaras de arroz		24,14	77,50
Moyuelos de trigo	78,99		

Cada una de estas composiciones de premezcla se preparó usando un aceite microencapsulado de la presente invención o una perla microencapsulada de la técnica anterior que contiene 25-hidroxi Vitamina D₃. Además, se preparó una formulación de control, en la que la 25-hidroxi Vitamina D₃ se sustituyó por Vitamina D₃. Cada una de las premezclas se almacenó a 25°C y 35°C, durante un tiempo de hasta 3 meses. El porcentaje de retención de la 25-hidroxi Vitamina D₃ se determinó en cada tiempo y

temperatura.

Tabla 5. Estabilidad de las formulaciones de Vitamina D₃ y 25-hidroxi Vitamina D₃ en la premezcla BÁSICA.

	retención [%]								
	invención			técnica anterior			vitamina D ₃		
	B	V	C	B	V	C	B	V	C
1 mes/25°C	94	98	109	98,4	94,5	80,3	88,4	106,1	101,7
1 mes/35°C	85	94	82	82,5	94,9	26,9	95,1	106,3	81,7
2 meses/25°C	115	98	91	95,4	88,5	33,8	90,7	102,4	85,8
2 meses/35°C	75	77	52	75,2	70	17,7	97,9	91,2	71,1
3 meses/25°C	84	83	82	90,6	93,4	19,5	95,7	106,2	81,1
3 meses/35°C	70	78	53	67,0	77,7	7,4	97,9	104,7	70,0

B: premezcla BÁSICA; V: premezcla VITAMINA; C: premezcla COMPLETA

5

Como muestran los resultados, en las Premezclas BÁSICA y VITAMINA, la estabilidad de 25-hidroxi Vitamina D₃ fue menor que la de la Vitamina D₃. Sin embargo, la estabilidad de la 25-hidroxi Vitamina D₃ fue casi idéntica para la formulación de la técnica anterior en comparación con las formulaciones según la presente invención.

Si embargo, los resultados son drásticamente diferentes cuando se considera la Premezcla COMPLETA. La estabilidad de la 25-hidroxi Vitamina D₃ en la formulación de la técnica anterior cayó significativamente en comparación con las formulaciones de la invención. Como se explica anteriormente, esta disminución en la estabilidad se puede atribuir a la oxidación de la Vitamina D₃ o de la 25-hidroxi Vitamina D₃ por minerales, metales de transición, o peróxidos encontrados en la premezcla. Por ejemplo, a un almacenamiento de 3 meses, la formulación de la técnica

anterior retenía menos de 20% de la 25-hidroxi Vitamina D₃, mientras que la formulación según la presente invención retenía más de 50% de la 25-hidroxi Vitamina D₃ (alrededor de 80% a una temperatura de almacenamiento de 5 25°C).

La formulación de la presente invención incrementó así la retención de la 25-hidroxi Vitamina D₃ a lo largo de un amplio intervalo de temperaturas y tiempos de almacenamiento, incluso en premezclas que contienen 10 componentes que promueven la degradación de 25-hidroxi Vitamina D₃.

Ejemplo 8: Piensos

15 Se produjo una composición de pienso para animales combinando las composiciones de la premezcla de piensos de la presente invención con un pienso para animal. Un pienso para aves de corral se produjo mezclando la premezcla del Ejemplo 6 con un pienso base para aves de 20 corral que tiene los siguientes ingredientes:

Tabla 6. Ingredientes de la composición de pienso base para aves de corral.

INGREDIENTE	CANTIDAD (% EN PESO)
Maíz	50,55
Harina de haba de soja	40,05
Aceite de haba de soja	5,00
Fosfato dicálcico	1,90
Caliza	1,40
Sal	0,40
Mezcla de vitaminas libre de D ₃	0,20

INGREDIENTE	CANTIDAD (% EN PESO)
Mezcla de minerales	0,15
DL-Met	0,20
Colina 60	0,10
Bacitracina	0,025
α -Tocoferol	0,002
Etoxiquina	0,0125

La premezcla y el pienso base se mezclaron hasta que se produjo una homogeneidad sustancial.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de aceite microencapsulado que comprende una composición de aceite comestible que
5 comprende 25-hidroxi Vitamina D3 disuelta en el aceite en una cantidad entre alrededor de 12,5% y 28% en peso basado en el peso total de la composición de aceite; un antioxidante; y un agente encapsulante seleccionado del grupo que consiste en almidón, proteínas de fuentes
10 animales, gelatina, proteínas de fuentes vegetales, caseína, pectina, alginato, agar, almidón alimentario modificado, una maltodextrina, un lignino sulfonato, un derivado de celulosa, azúcar, un sacárido, un sorbitol, una goma, y sus mezclas.

15 2. Una composición según la reivindicación 1, en la que el aceite comprende un aceite vegetal.

3. Una composición según la reivindicación 2, en la que el aceite comprende aceite de coco, aceite de babassu, aceite de cohune, aceite de pepita de palma, o
20 sus mezclas.

4. Una composición según la reivindicación 1, en la que el antioxidante se selecciona del grupo que consiste en: tocoferoles mixtos procedentes de fuentes naturales o sintéticas, etoxiquina, hidroxitolueno butilado,
25 hidroxianisol butilado, antioxidantes naturales, y sus mezclas.

5. Una composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que está en forma de una emulsión.

30 6. Una composición según la reivindicación 5, que es una emulsión seca.

7. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que está en forma de una premezcla

de piensos, que comprende además al menos un aditivo nutricional.

8. Una composición según la reivindicación 7, en la que los aditivos nutricionales se seleccionan de:

5

Vitamina D3, Vitamina A, Vitamina E, Vitamina B12, Vitamina B3, niacina, pantotenato de calcio, Vitamina K3, ácido fólico, Vitamina B6, Vitamina B1, caliza, cáscaras de arroz, carotenoides, cloruro de colina, 10 óxido de manganeso, óxido de cinc, sulfato de hierro, fitasa, y moyuelo de trigo.

9. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 7-8, que es adecuada para piensos para 15 aves de corral, cerdos, canino o felino.

10. Un método para obtener una composición de aceite microencapsulado, que comprende secar una emulsión de la reivindicación 5.

11. Un método para obtener una composición de 20 premezcla de piensos, que comprende proporcionar una composición de aceite microencapsulado de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, y mezclarla con un aditivo nutricional.

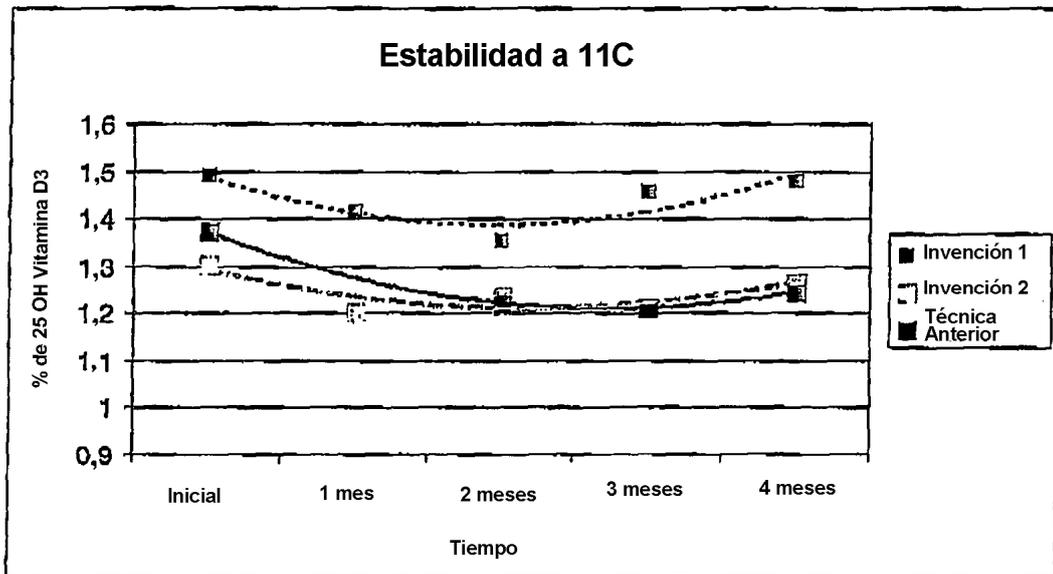


Figura 1. Estabilidad a 11°C - % de ingrediente activo en peso.

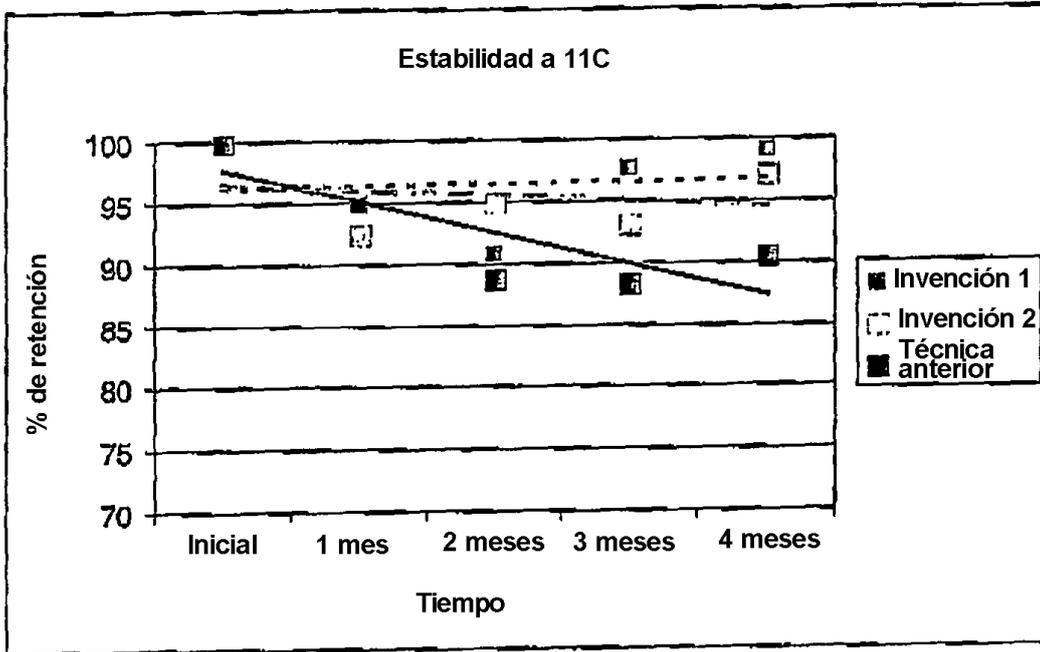


Figura 2. Estabilidad a 11°C - % de retención del ingrediente activo.

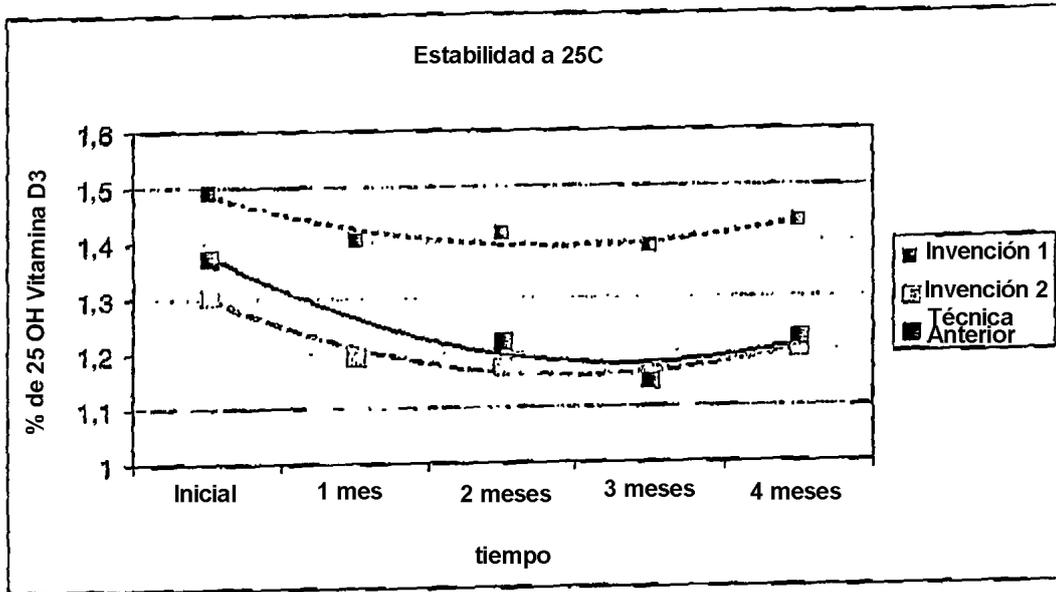


Figura 3. Estabilidad a 25°C - % de ingrediente activo en peso.

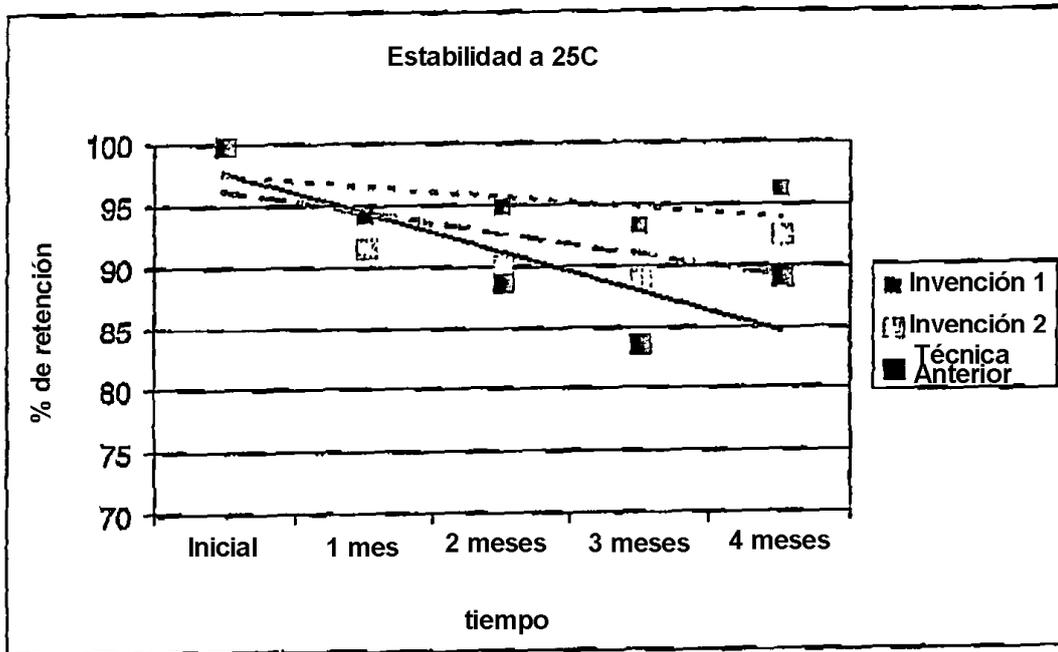


Figura 4. Estabilidad a 25°C - % de retención del ingrediente activo.

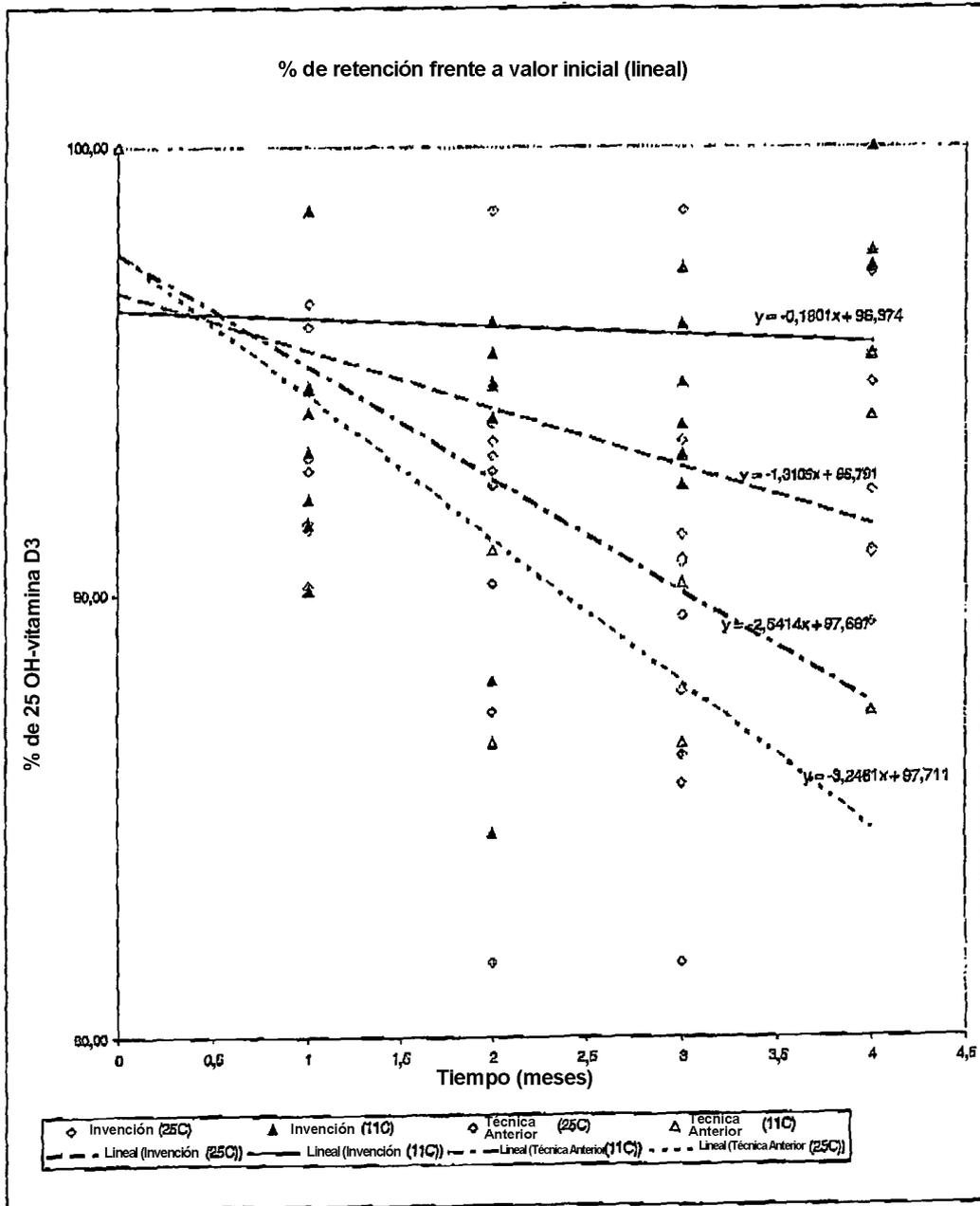


Figura 5. Regresión lineal de porcentaje de retención de 25-hidroxi Vitamina D₃.