

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 472 728**

51 Int. Cl.:

A23K 1/18 (2006.01)

A23K 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.01.2003 E 03729579 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.05.2014 EP 1469743**

54 Título: **Métodos para estabilizar ingredientes higroscópicos para rumiantes**

30 Prioridad:

09.01.2002 US 43085

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

02.07.2014

73 Titular/es:

**BALCHEM CORPORATION (100.0%)
52 SUNRISE PARK ROAD, P.O. BOX 600
NEW HAMPTON, NY 10958, US**

72 Inventor/es:

RICHARDSON, PAUL H.

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 472 728 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

Métodos para estabilizar ingredientes higroscópicos para rumiantes

5 Esta invención se refiere a métodos para proporcionar sustancias higroscópicas en una forma que es estable en un ambiente húmedo. Más específicamente, la invención se refiere a métodos para la estabilización de ingredientes bioactivos higroscópicos, tales como cloruro de colina o clorhidrato de lisina, en una composición de pienso animal y también para proporcionar protección significativa para el ingrediente en el rumen.

10 Se ha establecido ampliamente que se pueden obtener aumentos significativos en la eficiencia de los alimentos para animales mediante el uso de ciertos aditivos para piensos. Esto ha sido particularmente cierto en la alimentación de animales poligástricos, donde ahora la práctica habitual es complementar la dieta con materiales tales como vitaminas y aminoácidos. Los aminoácidos representan un grupo particularmente útil de aditivos, ya que son las unidades a partir de las cuales se construyen moléculas de proteína. Aunque muchos materiales biológicamente
15 activos se emplean como aditivos para piensos, se reconoce que muchos de éstos son utilizados ineficientemente por los rumiantes debido a la degradación de los mismos en el rumen. Por lo tanto, los materiales tales como aminoácidos individuales y ciertas vitaminas no se utilizan habitualmente en piensos para rumiantes debido a su susceptibilidad a la degradación ruminal.

20 El rumen, que es esencialmente un fermentador continuo, contiene una variedad de microorganismos en condiciones neutras (pH = 5-8) que atacan y digieren gran parte de los alimentos como parte de su ciclo de vida normal. Los microorganismos del rumen utilizan el alimento para sintetizar proteína microbiana. Una corriente de ingesta, rica en células microbianas, sale del rumen hacia el omaso. La función del omaso es separar líquidos y sólidos. Gran parte del líquido vuelve a entrar en el rumen, mientras que el resto del material entra en el abomaso o
25 estómago verdadero. La digestión y la absorción prosigue a continuación en el abomaso de una manera similar a la que se produce en animales monogástricos. Las enzimas secretadas en el lumen del abomaso digieren gran parte del material, incluyendo parte del contenido de las células microbianas.

30 El rumen tiene la gran ventaja de ser capaz de convertir mediante la acción microbiana muchos ingredientes alimenticios que no tienen ningún valor nutritivo directo para el hospedador en productos que pueden ser asimilados y utilizados por el hospedador. Por ejemplo, la urea se puede convertir en proteína microbiana que posteriormente puede ser digerida y utilizada por el animal hospedador. La celulosa se puede convertir en una mezcla de ácidos grasos volátiles que pueden servir como una fuente de energía para el hospedador.

35 Desgraciadamente, esta acción microbiana también presenta ciertas desventajas. Por ejemplo, las proteínas solubles de alto valor nutritivo pueden ser digeridas y desaminadas en el rumen y en parte resintetizadas en proteína microbiana de menor valor nutritivo. Los aminoácidos, las unidades a partir de las cuales se construyen las moléculas de proteína, también son químicamente modificadas por los microorganismos del rumen que convierten aminoácidos en dióxido de carbono, ácidos grasos volátiles y amoníaco. En última instancia, es difícil proporcionar
40 suplementos de aminoácidos específicos para rumiantes, ya que el perfil de aminoácidos del alimento no coincidirá con el perfil de aminoácidos que se presentan para la digestión y la absorción en el intestino delgado.

45 Es bien reconocido en la técnica que esta actividad microbiana del rumen limita la productividad de los rumiantes. En consecuencia, se han hecho muchos esfuerzos por obtener una sustancia bioactiva en una forma que pase a través del rumen esencialmente inalterada, y que sin embargo, sufra disgregación y absorción en el abomaso.

50 Numerosas patentes divulgan sustancias bioactivas de recubrimiento con material que sobrevive en el rumen pero se degrada en el abomaso. Por ejemplo, la patente US-4.713.245 de Ando divulga un gránulo que sobrevive en el rumen, que comprende un núcleo de material bioactivo, una sustancia de recubrimiento estable a pH neutro (como el que existe en el rumen) pero que se disuelve o se disgrega a pH = 3 (como el que existe en el abomaso) y al menos un otro recubrimiento seleccionado de entre el grupo que consiste en ácidos grasos que tienen al menos 14 átomos de carbono y ceras, grasa animal y grasa vegetal y que tiene un punto de fusión de 40 °C o mayor.

55 La patente US-4.832.967 de Autant divulga un recubrimiento de dos capas para sustancias bioactivas hidrosolubles que sobrevive en el rumen. El material en forma de partículas resultante es estable a un pH tan alto como por lo menos de 5,5 y libera sustancia bioactiva a un pH de 3,5 o menos. El medio de recubrimiento comprende una primera capa de recubrimiento que consiste en un material sensible a las variaciones de pH y una segunda capa de recubrimiento que consiste en una composición hidrófoba que debe incluir relleno inorgánico si el núcleo bioactivo no se ha sometido a un tratamiento de superficie (aplicación de aglutinante hidrófobo). Esta capa de recubrimiento
60 externa hidrófoba se proporciona con una textura que permite la difusión o penetración del medio líquido externo. El recubrimiento exterior contiene preferiblemente una mezcla de sustancias hidrófobas.

65 La patente US-4.832.967 de Autant divulga una composición de recubrimiento que es estable a un pH de menos de o igual a aproximadamente 3,5. El recubrimiento comprende un aglutinante formador de película insoluble en agua que contiene una sustancia que controla la hidrofilia y opcionalmente una sustancia que es sensible al pH. Tanto las ceras (hidrófobas) como el propilenglicol (hidrosoluble) son adecuados para controlar el equilibrio hidrófilo/hidrófobo.

5 El control de la hidrofilia de la partícula supuestamente limita la liberación del material bioactivo en medios neutros o ligeramente ácidos, es decir, en el rumen. En los medios muy ácidos, es decir, el abomaso, los agentes de relleno sensibles al pH son activados por los medios, los cuales se difunden lentamente a una velocidad establecida por la hidrofilia del recubrimiento. La disolución o hinchamiento resultante del agente de relleno sensible al pH degrada el recubrimiento y libera el material bioactivo.

La patente US-3.541.204 de Sibbald divulga grasas hidrogenadas vegetales y animales y ceras tales como cera de salvado de arroz como recubrimientos que sobreviven en el rumen pero que se degradan en el tracto intestinal.

10 Un problema bien reconocido con tales recubrimientos que pueden sobrevivir en el ambiente del rumen es que los gránulos recubiertos tienden a flotar sobre el contenido del rumen. Si las cápsulas o gránulos flotan durante un período suficiente, serán regurgitados. La regurgitación aumenta la probabilidad de que el recubrimiento se vea comprometido o destruido durante la rumia. En consecuencia, muchas de las patentes anteriormente descritas proporcionan un ajuste de la densidad de la cápsula o gránulo mediante la adición de un agente de relleno de alta
15 densidad para asegurar que el gránulo se hunda. Sin embargo, como divulga Sibbald, la densidad no debe ser tan grande como para que la cápsula se hunda hasta el suelo del rumen y permanezca allí indefinidamente. Sibbald divulga una densidad ajustada de 0,8 a 2,0, preferiblemente de aproximadamente de 1,0 a 1,4, g/cc.

20 La patente US-6.013.286 de Klose reconocía que puede no ser suficiente ajustar sólo la densidad de la cápsula o gránulo, ya que las partículas recubiertas con material hidrófobo pueden flotar en el agua (y en el rumen), a pesar de que las partículas hayan sido demasiado densificadas hasta una gravedad específica mayor que la del agua (o el fluido del rumen). Como una solución a este problema, Klose divulga que se puede aplicar un tensioactivo a la superficie del recubrimiento hidrófobo en una cantidad suficiente para asegurar que las partículas no flotan en el
25 rumen.

La patente US-5.206.049 de Fielding divulga composiciones que contienen mezclas de cloruro de sodio y colina que contienen compuestos que son eficaces como sustitutos de la sal. En particular, se enseña que la vida útil de las composiciones, cuando están en forma granular o cristalina, se puede aumentar mediante el recubrimiento de los gránulos parcialmente con un material hidrófobo y que es importante no recubrir por completo el agregado de cloruro
30 de sodio y cloruro de colina con una capa insoluble en agua, ya que esto evitaría que el agua entre en contacto con el agregado y, por tanto, evitaría la disolución y la liberación del cloruro de sodio y del cloruro de colina cuando se utiliza en los alimentos o cuando estos se ingieren.

35 La patente US-5.807.594 de King divulga un método para mejorar el aumento de peso y la eficiencia de la alimentación en un rumiante. El método implica administrar al rumiante una cantidad que mejora la eficiencia de alimentación de una composición que contiene colina, donde la composición que contiene colina se encapsula con el fin de minimizar la descomposición de la composición que contiene colina en el rumen de los rumiantes cuando se administra.

40 La patente US-5.496.517 de Blagdon divulga un método para aumentar la producción de leche en un rumiante mediante la administración oral al rumiante de una cantidad efectiva de colina encapsulada que aumenta la producción de leche. El núcleo(s) del encapsulado contiene colina líquida y la envoltura protege el núcleo(s) en la porción del rumen del sistema digestivo.

45 La patente US-5.227.166 de Ueda divulga un aditivo para piensos para rumiantes. El aditivo para piensos incluye un núcleo recubierto que contiene una sustancia biológicamente activa que es estable en el rumen de los rumiantes y que se libera en el abomaso y en las porciones posteriores del tracto digestivo.

50 La patente US-5.635.198 de Nishimura divulga un pienso o un agente granular aditivo para piensos que contiene una sustancia fisiológicamente activa y una capa de recubrimiento que tiene una estructura laminar. La capa de recubrimiento contiene un ácido graso o éster del mismo, una grasa o ácido graso, una cera y cristales tubulares de una sustancia que es poco soluble en agua en condiciones neutras pero que es fácilmente soluble en condiciones ácidas.

55 La Publicación Internacional N° WO 02/11544 A1 de Redding, de la cual, la correspondiente solicitud europea correspondiente es un documento conforme al artículo 54 (3) EPC, divulga un producto alimenticio listo para el uso, que incluye una pasta, al menos un agente de fermentación y al menos un aceite, por ejemplo, un agente de fermentación de lípidos recubierto (como bicarbonato de sodio) en una masa líquida y métodos para preparar el mismo.
60

La patente 4.218.262 de Warren divulga un agente que aumenta la viscosidad de acción retardada, no aglutinante, que comprende partículas de núcleo de goma xantana y un recubrimiento de encapsulación de un derivado graso, donde el recubrimiento facilita la mezcla y evita la formación de grumos cuando el agente se añade a un medio acuoso.
65

Aunque la técnica ha logrado composiciones útiles para proporcionar sustancias bioactivas en una forma que pasen a través del rumen sin degradación significativa, por ejemplo, Klose (patente US-6.013.286), las composiciones que utilizan recubrimientos hidrófobos no ofrecen una protección adecuada contra el rumen si primero se expone a los alimentos húmedos durante cualquier período de tiempo significativo. Este es un problema particularmente significativo con sustancias bioactivas higroscópicas. En consecuencia, la técnica enseña en estos casos que el pienso animal debe ser revestido primero con el material de recubrimiento, es decir, las partículas recubiertas se deben agregar al pienso animal justo antes de la alimentación.

Problemas similares existen en general con cualquier ingrediente higroscópico que se expone a humedad o ambiente húmedo durante cualquier período de tiempo significativo. Es decir, que el material higroscópico recubierto será alterado o degradado si se expone a un entorno de este tipo durante un tiempo suficiente. Tal exposición generalmente cambia la función del encapsulado. Por ejemplo, una sal higroscópica encapsulada pierde su función de enmascaramiento del sabor después de una exposición prolongada en la composición húmeda.

Por lo tanto, sigue habiendo una necesidad de métodos y composiciones resultantes para la protección controlada de materiales higroscópicos que estarán expuestos a la humedad o a un ambiente húmedo durante períodos significativos de tiempo antes de su uso previsto. Más específicamente, hay una necesidad de métodos y composiciones para proporcionar protección controlada para las sustancias bioactivas higroscópicas en piensos húmedos para animales.

Resumen de la invención

La presente invención se refiere a un método para estabilizar una sustancia bioactiva higroscópica en un pienso húmedo para rumiantes durante un período de tiempo controlado, comprendiendo dicho método: (a) encapsular dicha sustancia bioactiva higroscópica con un recubrimiento de lípidos para formar un encapsulado, donde el recubrimiento de lípidos se aplica a dicha sustancia bioactiva higroscópica en una cantidad de 40 a 80 por ciento en peso basado en el peso total de dicho encapsulado para retener de ese modo al menos 60% en peso de dicha sustancia bioactiva higroscópica después de que dicho encapsulado se combine con dicho pienso húmedo para rumiantes durante un período de tiempo de al menos 1 semana y después de ello pase a través del rumen del sistema digestivo de un rumiante y (b) combinar dicho encapsulado con dicho pienso húmedo para rumiantes durante un período de tiempo de al menos una semana, donde la sustancia bioactiva higroscópica se selecciona de entre el grupo que consiste en nutrientes, vitaminas, minerales, fármacos, enzimas, proteínas, carbohidratos, péptidos, glicoproteínas, probióticos, prebióticos, hormonas, agentes de diagnóstico, aminoácidos, derivados de aminoácidos, y mezclas de los mismos.

El ingrediente higroscópico puede ser cloruro de colina o clorhidrato de lisina.

La composición del pienso húmedo normalmente tiene una actividad de agua de al menos 0,1. Preferiblemente, la composición del pienso húmedo tiene una actividad de agua en el intervalo de 0,2 a 0,9 y, más preferiblemente, en el intervalo de 0,3 a 0,7.

Preferiblemente, el ingrediente higroscópico encapsulado está en forma de partículas que tienen un núcleo, que incluye la sustancia bioactiva higroscópica y un recubrimiento de lípidos.

En una realización, el recubrimiento de lípidos consiste esencialmente en aceite vegetal hidrogenado, aceite de maíz hidrogenado, aceite de semilla de algodón hidrogenado, aceite de cacahuete hidrogenado, aceite de almendra de palma hidrogenado, aceite de girasol hidrogenado y mezclas de los mismos. El aceite vegetal hidrogenado es preferiblemente aceite de soja hidrogenado.

En otra realización, el recubrimiento de lípidos es principalmente aceite vegetal hidrogenado mezclado con cantidades menores de cera seleccionadas del grupo que consiste en cera de abejas, cera de parafina, cera de salvado de arroz, cera de ricino, cera microcristalina y mezclas de las mismas. Preferiblemente, el aceite vegetal hidrogenado es aceite de soja hidrogenado y la cera es cera de abejas.

En una realización, el recubrimiento de lípidos también incluye uno o más aditivos discretos que influyen en la liberación y/o estabilidad y/o densidad del encapsulado. Preferiblemente, los aditivos discretos se seleccionan del grupo que consiste en fosfato dicálcico, fosfato tricálcico, sales, hierro, aluminosilicato de sodio, quitosano, y combinaciones de los mismos.

En otra realización, el recubrimiento de lípidos también incluye un tensioactivo.

Preferiblemente, el recubrimiento de lípidos está presente en una cantidad suficiente para retener al menos 80% en peso y lo más preferiblemente, al menos 90% en peso de la sustancia bioactiva.

Preferiblemente, el período de tiempo está en el intervalo de 1 semana a 8 semanas y, más preferiblemente, en el intervalo de 2 semanas a 4 semanas.

La etapa de encapsulación se lleva a cabo preferiblemente mediante la aplicación de un recubrimiento de lípidos continuo a la sustancia bioactiva higroscópica en un proceso de una etapa.

Descripción detallada de la invención

5 La presente invención se refiere a métodos para proporcionar protección controlada de los ingredientes bioactivos higroscópicos que serán expuestos a la humedad o a ambientes húmedos durante periodos significativos de tiempo. Los métodos son particularmente útiles para la estabilización de una sustancia bioactiva higroscópica, tales como cloruro de colina o clorhidrato de lisina, en una composición de pienso animal y también para proporcionar una
10 protección adecuada en el rumen en los piensos de rumiantes.

Con el término "ingrediente higroscópico" se indica un ingrediente que va a absorber fácilmente la humedad o el agua del ambiente circundante o de otro modo va a ser alterado o degradado para su uso previsto por la presencia
15 de agua o humedad en el ambiente circundante. "Ingredientes higroscópicos" incluyen los materiales que aumentan más del 2% en peso después de la exposición a una humedad relativa del 66%, a temperatura ambiente durante 24 horas.

La presente invención es particularmente útil para ingredientes bioactivos que aumentan más de aproximadamente 5% en peso, más preferiblemente de aproximadamente 10% en peso y lo más preferiblemente aproximadamente
20 15% en peso, después de la exposición a una humedad relativa del 66%, a temperatura ambiente durante 24 horas o ingredientes que son muy solubles en agua, es decir, que tienen una solubilidad en agua superior a aproximadamente 40 g, más preferible aproximadamente 50 g y lo más preferiblemente de aproximadamente 60 g, por 100 gramos de agua a 25 °C.

Con el término "sustancia bioactiva" se indica cualquier sustancia o mezcla de sustancias que pueden tener cualquier uso alimenticio o medicinal y seleccionadas de nutrientes, vitaminas, minerales, medicamentos, enzimas, proteínas, carbohidratos, péptidos, glicoproteínas, probióticos, prebióticos, hormonas o agentes de diagnóstico, aminoácidos y derivados de aminoácidos. Los ejemplos de aminoácidos incluyen: metionina, lisina, treonina, leucina, isoleucina, triptófano, fenilalanina, valina y glicina. Los ejemplos de derivados de aminoácidos incluyen: ácidos N-acilamino, por ejemplo, N-estearoilmetionina, N-oleoilmetionina, la sal de calcio de N-hidroximetilmetionina, clorhidrato de lisina, análogos hidroxilados de metionina y glutamato de sodio. Los ejemplos de vitaminas incluyen: vitamina A, palmitato de vitamina A, acetato de vitamina A, beta-caroteno, vitamina D₂, vitamina D₃, vitamina E, bisulfito de sodio de menadiona, las vitaminas del grupo B, por ejemplo, tiamina, clorhidrato de tiamina, riboflavina, ácido nicotínico, amida del ácido nicotínico, pantotenato de calcio, pantotenato de colina, clorhidrato de piridoxina, cloruro de colina, cianocobalamina, biotina, ácido fólico y ácido p-aminobenzoico. Los ejemplos de enzimas incluyen: preparación de proteasa, preparación de amilasa, preparación de enzimas mezcladas y preparación de lipasa. Los ejemplos de hidratos de carbono incluyen almidón, glucosa, y sacarosa. Los ejemplos de medicamentos para uso animal incluyen: antibióticos como tetraciclinas, aminoglucósidos, macrólidos, polipéptidos, polisacáridos y poliéteres, vermífugos como Negphone y antiparasitarios tales como sales de piperazina. Los ejemplos de hormonas incluyen: hormonas estro tales como estrógeno, estilbestrol y hexestrol y hormonas tiroideas como tiroproteína y goitrógenos.
40

Aunque estas sustancias generalmente se utilizan solas, también se pueden usar en combinación como una mezcla.

45 En lo que respecta a los rumiantes, "sustancia bioactiva" incluye cualquiera de las sustancias bioactivas descritas anteriormente que son beneficiosas para el rumiante al pasar el rumen y alcanzar el abomaso y/o el intestino.

Con el término "ingrediente (o sustancia) bioactivo(a) higroscópico(a)" se indica cualquiera de las sustancias bioactivas descritas anteriormente, que absorben fácilmente la humedad o el agua del ambiente circundante o cuya actividad o utilidad se verá disminuida en un ambiente así.
50

Con el término "composición de pienso húmedo" que incluye piensos húmedos para rumiantes, se indica un material que tiene un contenido de humedad que alteraría el encapsulado que contiene el ingrediente o sustancia bioactiva higroscópica con el tiempo. En otras palabras, el pienso húmedo tiene una actividad de agua suficientemente alta para hacer que el encapsulado que contiene el ingrediente o sustancia bioactiva higroscópica absorba agua o de otra manera altere o disminuya el rendimiento de su propósito previsto durante un período de tiempo.
55

La actividad de agua de la composición de pienso húmedo es típicamente superior a 0,1. Preferiblemente, la actividad de agua de la composición de pienso está en el intervalo de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,9 y, más preferiblemente, aproximadamente 0,3 a aproximadamente 0,7. Los piensos para animales tienen generalmente un contenido de agua de hasta aproximadamente 15% de agua y una actividad de agua en el intervalo de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 0,7.
60

De acuerdo con la presente invención, las partículas o gránulos de la sustancia bioactiva higroscópica se encapsulan en una capa de lípidos. El recubrimiento de lípidos protege sustancialmente a los materiales bioactivos higroscópicos de la humedad o de un ambiente húmedo durante un período de tiempo determinado.
65

El recubrimiento de lípidos proporciona la protección requerida para la sustancia bioactiva higroscópica, en ausencia de cualquier otro recubrimiento protector requerido, tales como, por ejemplo, materiales poliméricos requeridos.

5 Un requisito para el material de recubrimiento de lípidos en un pienso para rumiantes es prevenir sustancialmente la liberación de las sustancias bioactivas dentro de la porción del rumen del sistema digestivo. El recubrimiento debe ser esencialmente insoluble e impermeable en el rumen y debe tener un punto de fusión superior a la temperatura del fluido del rumen (por ejemplo, aproximadamente 40 °C).

10 Otro requisito para el material de recubrimiento de lípidos en un pienso para rumiantes es la capacidad de soportar condiciones ambientales o de almacenamiento en una humedad relativamente alta y un amplio intervalo de temperaturas durante un período específico de tiempo sin una pérdida significativa de estabilidad en el rumen. Los intervalos típicos de temperatura incluyen -20 °C a 50 °C. Por lo tanto, la sustancia bioactiva higroscópica se debe proteger esencialmente del rumen después de haber sido almacenada en el material de pienso durante un período de tiempo específico.

15 Preferiblemente, el recubrimiento de lípidos tendrá como mínimo la capacidad de retener al menos aproximadamente 60% en peso de los ingredientes higroscópicos después de que el encapsulado se coloque en agua durante 5 horas a temperatura ambiente. Más preferiblemente, el recubrimiento retendrá al menos aproximadamente 70% en peso y, lo más preferiblemente, al menos aproximadamente 80% en peso, en tales condiciones.

20 Cualquier recubrimiento de lípidos, o mezcla de los mismos, que cumpla los requisitos anteriormente descritos se puede utilizar en esta invención. Generalmente, los lípidos o materiales lipídicos que cumplen con dichos requisitos son materiales que son sustancialmente, insolubles en agua, pero solubles en un disolvente de los denominados grasos y que son sólidos o de consistencia semisólida similar a la cera a la temperatura que se desea la protección. El material lipídico puede incluir materiales que se utilizan o no se utilizan por el animal de ingerirlo. Los ejemplos de tales materiales incluyen ceras, ácidos grasos, alcoholes grasos, ésteres de ácidos grasos, esteroides, fosfolípidos y aceites hidrogenados.

30 La cera puede ser cera de parafina; una cera de vaselina; una cera mineral, tal como ozoquerita, ceresina, cera utah o cera montana; una cera vegetal tal como, por ejemplo, cera de carnauba, cera de Japón, cera de baya de laurel o cera de lino; una cera animal, tal como, por ejemplo, esperma de ballena; o una cera de insectos, tal como cera de abejas, cera china o cera de goma laca.

35 Además, el material de la cera puede ser un éster de un ácido graso que tiene de 12 a 31 átomos de carbono y un alcohol graso que tiene de 12 a 31 átomos de carbono, teniendo el éster un contenido de átomos de carbono de 24 a 62, o una mezcla de los mismos. Los ejemplos incluyen palmitato de miricilo, palmitato de cetilo, cerotabo de miricilo, miristato de cetilo, palmitato de cerilo, certato de cirilo, melisato de miricilo, palmitato de estearilo, miristato de estearilo y lauril laurato.

40 Los ácidos grasos pueden tener de 10 a 22 átomos de carbono y pueden ser, por ejemplo, decenoico, docosanoico, ácido esteárico, palmítico, láurico o mirístico.

45 Los alcoholes grasos pueden tener de 14 a 31 átomos de carbono y pueden ser, por ejemplo, alcohol laurílico, cetílico, estearílico, miristílico, miricílico, araquílico, carnubílico o cerílico.

50 Los ésteres de ácidos grasos pueden ser ésteres de monoglicerilo, diglicerilo o triglicerilo formados a partir de ácidos grasos que tienen de 10 a 22 átomos de carbono, tales como por ejemplo diestearato de glicerilo, triestearato de glicerilo, monoestearato de glicerilo, dipalmitato de glicerilo, tripalmitato de glicerilo, monopalmitato de glicerilo, dilaurato de glicerilo, tripalmitato de glicerilo, monopalmitato de glicerilo, didocosanoato de glicerilo, tridocosanoato de glicerilo, monodocosanoato de glicerilo, monocaprato de glicerilo, dicaprato de glicerilo, tricaprato de glicerilo, monomiristato de glicerilo, dimiristato de glicerilo, trimiristato de glicerilo, monodecenoato de glicerilo, didecenoato de glicerilo o tridecenoato de glicerilo.

55 Los esteroides pueden ser, por ejemplo, colesterol, estigmasterol o sitosterol.

Los fosfátidos o fosfolípidos, pueden ser, por ejemplo, lecitina.

60 Los recubrimientos preferidos comprenden aceites vegetales hidrogenados incluyendo triglicéridos, tales como aceite de semilla de algodón hidrogenado, de maíz, de cacahuete, de soja, de palma, de almendra de palma, de babasú, de girasol y de cártamo. Los aceites vegetales hidrogenados preferidos incluyen aceite de palma, aceite de semilla de algodón y aceite de soja hidrogenados. El aceite vegetal hidrogenado más preferido es el aceite de soja hidrogenado. También son adecuadas otras grasas vegetales y animales y ceras.

65 El recubrimiento también puede incluir mezclas de diferentes lípidos. Por ejemplo, además de los aceites vegetales hidrogenados preferidos, otros ingredientes que se pueden incorporar en el recubrimiento de lípidos incluyen cera de

abejas, cera de parafina y mezclas de aceite vegetal hidrogenado de punto de fusión más bajo. Otras ceras y aceites tales como cera de salvado de arroz y cera de ricino también son ingredientes adecuados en el recubrimiento de lípidos.

5 El método de aplicación del recubrimiento para el gránulo no es crítico, no forma parte de la presente invención y se puede realizar de cualquier manera siempre que el recubrimiento cumpla con los requisitos mencionados anteriormente. Por ejemplo, los gránulos pueden ser suspendidos en el recubrimiento líquido y la suspensión pulverizada en una "cámara de congelación". Alternativamente, los gránulos pueden ser pulverizados con los recubrimientos de la presente invención, suspendiéndose los gránulos mediante un flujo de aire (lecho fluidizado). La
10 patente US-4.511.584 en las columnas 3-5 y la patente US-4.511.592 en la columna 4 enseñan métodos preferidos de aplicación de recubrimientos grasos a las partículas granulares. La patente US- 4.537.784 en las columnas 4-4, US-4.497.845 en la columna 4, US-3.819.838, US-3.341.446, US-3.279.994, US-3.159.874, US-3.110.626, US-3.015.128, US-2.799.241 y US-2.648.609 enseñan métodos adicionales y aparatos para la aplicación de recubrimientos que pueden ser usados para producir los gránulos revestidos utilizados en la presente invención.

15 En otro método, el material bioactivo higroscópico a recubrir se puede colocar en una bandeja de recubrimiento de comprimidos estándar y el material lipídico se funde y se vierte en el molde en rotación. La bandeja se calienta a una temperatura por encima del punto de fusión del material de lípidos con el fin de facilitar la distribución uniforme del material lipídico sobre la superficie del material a recubrir. Después de que el material lipídico se distribuye de
20 manera uniforme, la bandeja y su contenido se dejan enfriar, con rotación continua y el material lipídico se solidifica.

Preferiblemente, el recubrimiento de lípidos se aplica en un proceso de un paso y en ausencia de cualquier disolvente requerido.

25 Esta invención es particularmente útil para proporcionar las sustancias bioactivas higroscópicas cloruro de colina o clorhidrato de lisina a los rumiantes; sin embargo, la invención no está en modo alguno limitada a cloruro de colina o clorhidrato de lisina como las sustancias bioactivas.

30 El material bioactivo higroscópico se proporciona generalmente en una forma granular o de partículas antes de ser recubierto o encapsulado con el material lipídico. El gránulo o partícula pueden ser únicamente el material higroscópico o, alternativamente, el material higroscópico en un vehículo, por ejemplo, un vehículo de cereales. Los gránulos o partículas encapsuladas tienen generalmente diámetros en el intervalo de aproximadamente 50 micras a aproximadamente 1000 micras, aunque se incluyen otros tamaños fuera de este intervalo, dependiendo del uso. El encapsulado tiene generalmente un núcleo, que incluye la partícula o gránulo higroscópico y el recubrimiento de
35 lípidos.

Puede ser deseable, dependiendo de la aplicación, aplicar el recubrimiento de lípidos en una cantidad suficiente para retener sólo hasta una cantidad predeterminada del ingrediente bioactivo higroscópico después de que el ingrediente encapsulado se combine con la composición húmeda durante un período de tiempo específico. Por
40 ejemplo, con el fin de controlar la liberación de un ingrediente higroscópico bioactivo en una parte seleccionada del sistema digestivo de un animal, puede ser deseable aplicar un recubrimiento de lípidos que retenga una cantidad predeterminada, por ejemplo, 80% en peso, del ingrediente después de que el encapsulado se combine con un pienso húmedo para animales durante un período de tiempo específico, por ejemplo, 2 semanas.

45 Por lo tanto, de acuerdo con la presente invención, la cantidad predeterminada del ingrediente higroscópico retenido puede ser una cantidad en un intervalo de, por ejemplo, de al menos 60 hasta 95% en peso, 70 hasta 90% en peso o 70 hasta 80% en peso, dependiendo de la aplicación.

50 Con respecto a los ingredientes bioactivos de los piensos para rumiantes, es importante que al menos una parte del ingrediente bioactivo higroscópico del pienso para rumiantes se libere en la parte post-rumen del sistema digestivo del rumiante. Preferiblemente, prácticamente la totalidad de la sustancia bioactiva que atraviesa el rumen se liberará en la parte posterior del rumen. Generalmente, con el fin de lograr esto, la sustancia bioactiva encapsulada tendrá que ser expuesta a (o combinada con) la composición del pienso húmedo durante un período de tiempo antes de ser ingerido por el rumiante. Por lo tanto, el recubrimiento de lípidos se aplica generalmente en una cantidad que impida
55 cualquier liberación significativa de la sustancia bioactiva en el rumen o parte del post-rumen del sistema digestivo, si se ingiere sin exponer primero el encapsulado a un entorno húmedo. La cantidad del recubrimiento de lípidos aplicado se determina por el tiempo de almacenamiento del pienso, es decir, el período de tiempo durante el que el encapsulado se combina con el pienso húmedo antes de la ingestión por el rumiante.

60 En el caso de una sustancia bioactiva higroscópica contenida en un pienso húmedo para rumiantes, se aplica un recubrimiento de lípidos de protección controlada en una cantidad suficiente para retener el 60% en peso de la sustancia higroscópica después de que la sustancia encapsulada se combine con el pienso durante un período específico de tiempo y la cual posteriormente pasará a través de la porción del rumen del sistema digestivo del rumiante. El recubrimiento de lípidos está presente preferiblemente en una cantidad suficiente para retener al menos
65 80% en peso y, más preferiblemente, al menos 90% en peso del ingrediente higroscópico. El período de tiempo es de al menos 1 semana, más preferiblemente, en el intervalo de 1 semana a 8 semanas y, lo más preferiblemente, en

el intervalo de 2 semanas a 4 semanas.

Con el fin de lograr los resultados deseados discutidos anteriormente, el recubrimiento de lípidos se aplica al material higroscópico en el intervalo de 40 a 80 por ciento en peso, preferiblemente de 50 a 70 por ciento en peso basado en el peso total del encapsulado, dependiendo del material higroscópico particular. La sustancia bioactiva, y, opcionalmente, el vehículo, está en el intervalo de 20 a 60 por ciento en peso, preferiblemente de 30 a 50 por ciento en peso basado en el peso total del encapsulado.

Los encapsulados pueden contener aditivos cuya función es facilitar la aplicación de las técnicas para la preparación de estos encapsulados o para mejorar las características físico-químicas. Puede ser ventajoso añadir agentes emulsionantes, agentes para mejorar la compatibilidad, agentes que afectan a la liberación y/o la estabilidad, aditivos de densificación o agentes humectantes. Si se incluyen, estos aditivos generalmente representan sólo un pequeño porcentaje en peso del recubrimiento.

De los posibles aditivos, el recubrimiento de lípidos más probablemente incluirá uno o más aditivos discretos que influyen sobre la liberación y/o estabilidad y/o densidad del encapsulado. Preferiblemente, los aditivos discretos se seleccionan del grupo que consiste en fosfato dicálcico, fosfato tricálcico, sales, hierro, aluminosilicato de sodio, quitosano, y combinaciones de los mismos. Estos aditivos se añaden generalmente en el intervalo de 1 a 30 por ciento en peso.

En los piensos para rumiantes generalmente también se incluyen en la composición de encapsulado agentes humectantes adecuados. Los ejemplos de tales agentes humectantes incluyen, polisorbato 60, polisorbato 80, propilenglicol, dioctilsulfosuccinato de sodio y combinaciones de los mismos. Otros agentes tensioactivos, agentes humectantes y emulsionantes tales como, pero no limitados a, lauril sulfato de sodio, ésteres lactílicos de ácidos grasos, ésteres de poliglicerol de ácidos grasos, triacetina y lecitina, también son adecuados para uso en esta invención. Los agentes humectantes se añaden generalmente en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 por ciento en peso, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 3,0 por ciento en peso de polisorbato 60, polisorbato 80 y dioctilsulfosuccinato de sodio y preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 por ciento en peso de propilenglicol.

Los técnicos expertos reconocen también que los agentes de flujo, tales como sílice finamente dividida, se pueden mezclar con las partículas para facilitar su manejo.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos no limitantes se han llevado a cabo para ilustrar los encapsulados subyacentes a las realizaciones preferidas del presente método de la invención. Los ejemplos incluyen la preparación de encapsulados que contienen ingredientes bioactivos higroscópicos y la evaluación de la protección proporcionada por el recubrimiento encapsulado en diferentes entornos.

Todos los encapsulados se prepararon como se describe a continuación. Los componentes de recubrimiento se fundieron y mezclaron conjuntamente. El sustrato se revistió por pulverización del encapsulado. Se añadió el modificador de la densidad de hierro durante el proceso de recubrimiento y el agente humectante se añadió al final del proceso de recubrimiento. Después de enfriar, el producto encapsulado se pasó por un tamiz de malla de seis hasta la rotura del aglomerado.

Ejemplo 1

Composición del encapsulado	Peso %
Sustrato bioactivo – 70% de cloruro de colina sobre vehículo de cereal	27,5
Recubrimiento de lípidos	64,6
Modificador de la densidad de hierro reducido	7,5
Polisorbato 80	0,4

Ejemplo 2

Composición del encapsulado	Peso %
Sustrato bioactivo – 70% de cloruro de colina sobre vehículo de cereal	35
Recubrimiento de lípidos	57,1
Modificador de la densidad de hierro reducido	7,5
Polisorbato 80	0,4

Ejemplo 3

Composición del encapsulado	Peso %
Sustrato bioactivo – 70% de cloruro de colina sobre vehículo de cereal	42,5
Recubrimiento de lípidos	49,6
Modificador de la densidad de hierro reducido	7,5
Polisorbato 80	0,4

Ejemplo 4

5

Composición del encapsulado	Peso %
Sustrato bioactivo – Lisina HCl	39,0
Recubrimiento de lípidos	57,6
Modificador de la densidad de hierro reducido	3,0
Polisorbato 80	0,4

Ejemplo 5

Composición del encapsulado	Peso %
Sustrato bioactivo – Lisina HCl	42,0
Recubrimiento de lípidos	54,6
Modificador de la densidad de hierro reducido	3,0
Polisorbato 80	0,4

Ejemplo 6

10

Composición del encapsulado	Peso %
Sustrato bioactivo – Lisina HCl	50
Recubrimiento de lípidos	45,6
Modificador de la densidad de hierro reducido	4,0
Polisorbato 80	0,4

El recubrimiento de lípidos era una mezcla de aproximadamente 90% en peso de aceite de soja hidrogenado y aproximadamente 10% en peso de cera de abejas.

15

Se realizó un ensayo in vitro de bypass ruminal como se describe a continuación: Una muestra de 0,3 gramos del material encapsulado en una bolsa de polifibril Ankom 57 se añadió a una solución de 400 ml de fluido ruminal y 1.600 ml de un tampón in vitro, a 39 °C. Se prepararon tres bolsas para cada muestra. El tampón in vitro contenía lo siguiente en agua destilada: 1,6 g de NH_4HCO_3 , 14 g de NaHCO_3 , 2,28 g de Na_2HPO_4 , 2,48 g de KH_2PO_4 , 0,24 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,264 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g de $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, 0,02 g de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,16 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,002 g de resazurina, 0,49 g de cisteína-HCl, 0,532g de Na_2S , 0,16 g de NaOH. Después de 12 horas, la bolsa y el encapsulado se secaron a 60 °C. Se calculó el porcentaje de bypass ruminal en base a la cantidad de sustancia bioactiva higroscópica restante en la bolsa de polifibra Ankom 57.

20

La prueba de bypass ruminal se repitieron con una segunda muestra de los encapsulados, los ejemplos 1-3, excepto la segunda muestra que se colocó primero en una cámara de humedad a una humedad relativa (HR) del 66% a temperatura ambiente durante 4 semanas.

25

Los resultados de las dos pruebas se enumeran a continuación en la Tabla 1.

30

Para los encapsulados 4-6, se repitió la prueba de bypass ruminal. Con un segundo conjunto de muestras de encapsulados, ejemplos 4-6, se colocaron 20 gramos de cada encapsulado en una bolsa de forraje de nylon y se sumergieron en 1.000 g de pienso animal, en un recipiente sellado, durante 3 semanas a temperatura ambiente. El pienso animal era pienso de harina de maíz comercializado (Agway). El pienso animal tenía un contenido de 12% de agua, actividad de agua 0,64 y su humedad relativa a temperatura ambiente en el recipiente sellado utilizado para acondicionar los encapsulados fue 60%.

35

Los resultados de las dos pruebas se enumeran a continuación en la Tabla 2.

40

Tabla 1: Encapsulados de cloruro de colina

Encapsulado	Condiciones	Bypass ruminal %
1	No expuesto a condiciones de humedad	99
2	No expuesto a condiciones de humedad	98
3	No expuesto a condiciones de humedad	85
1	4 semanas a HR 66%	94
2	4 semanas a HR 66%	68
3	4 semanas a HR 66%	22

Tabla 2: Encapsulados de clorhidrato de lisina

Encapsulado	Condiciones	Bypass ruminal %
4	No expuesto a condiciones de humedad	98
5	No expuesto a condiciones de humedad	97
6	No expuesto a condiciones de humedad	95
4	3 semanas en el pienso	86
5	3 semanas en el pienso	81
6	3 semanas en el pienso	68

- 5 Una revisión de las tablas 1 y 2 revela que la exposición a condiciones de humedad reduce el bypass ruminal para todos los encapsulados. Aunque el encapsulado 3 tiene un 85% de bypass ruminal cuando no ha sido expuesto a condiciones de humedad, después de su almacenamiento en un ambiente de alta humedad, el porcentaje de bypass ruminal se redujo significativamente al 22%. Sólo los encapsulados que tienen un mayor bypass ruminal, >94% en estos ejemplos, antes de la exposición a un pienso animal húmedo o a un ambiente con elevada humedad, tienen >60% de bypass ruminal después de la exposición a un pienso animal húmedo o a un ambiente con elevada humedad.
- 10

REIVINDICACIONES

1. Un método para estabilizar una sustancia bioactiva higroscópica en un pienso húmedo para rumiantes durante un período de tiempo controlado, comprendiendo dicho método:
- 5 a) encapsular dicha sustancia bioactiva higroscópica con un recubrimiento de lípidos para formar un encapsulado, donde el recubrimiento de lípidos se aplica a dicha sustancia bioactiva higroscópica en una cantidad de 40 a 80 por ciento en peso basado en el peso total de dicho encapsulado para retener de ese modo al menos 60% en peso de dicha sustancia bioactiva higroscópica después de que dicho encapsulado se combine con dicho pienso húmedo para rumiantes durante un período de tiempo de al menos 1 semana y después de ello pase a través del rumen del sistema digestivo de un rumiante y
- 10 (b) combinar dicho encapsulado con dicho pienso húmedo para rumiantes durante un período de tiempo de al menos una semana,
- 15 donde la sustancia bioactiva higroscópica se selecciona de entre el grupo que consiste en nutrientes, vitaminas, minerales, fármacos, enzimas, proteínas, carbohidratos, péptidos, glicoproteínas, probióticos, prebióticos, hormonas, agentes de diagnóstico, aminoácidos, derivados de aminoácidos, y mezclas de los mismos.
2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicha sustancia bioactiva higroscópica es cloruro de colina o clorhidrato de lisina.
- 20 3. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho pienso húmedo para rumiantes tiene una actividad de agua de al menos 0,1.
- 25 4. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho pienso húmedo para rumiantes tiene una actividad de agua en el intervalo de 0,2 a 0,9.
5. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho pienso húmedo para rumiantes tiene una actividad de agua en el intervalo de 0,3 a 0,7.
- 30 6. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho encapsulado está en forma de partículas que comprenden un núcleo, que comprende dicha sustancia bioactiva higroscópica y un recubrimiento de lípidos.
- 35 7. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho recubrimiento de lípidos consiste esencialmente en aceite vegetal hidrogenado, aceite de maíz hidrogenado, aceite de semilla de algodón hidrogenado, aceite de cacahuete hidrogenado, aceite de almendra de palma hidrogenado, aceite de girasol hidrogenado y mezclas de los mismos.
- 40 8. Un método de acuerdo con la reivindicación 7, donde dicho aceite vegetal hidrogenado es aceite de soja hidrogenado.
9. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho recubrimiento de lípidos es principalmente aceite vegetal hidrogenado mezclado con cantidades menores de cera seleccionadas del grupo que consiste en cera de abejas, cera de vaselina, cera de salvado de arroz, cera de ricino, cera microcristalina y mezclas de las mismas.
- 45 10. Un método de acuerdo con la reivindicación 9, donde la cera es cera de abejas.
11. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho recubrimiento de lípidos comprende además uno o más aditivos discretos que influyen en la liberación y/o estabilidad y/o densidad del encapsulado, donde los aditivos discretos se seleccionan preferiblemente del grupo que consiste en fosfato dicálcico, fosfato tricálcico, sales, hierro, aluminosilicato de sodio, quitosano y combinaciones de los mismos.
- 50 12. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho recubrimiento de lípidos comprende además un tensioactivo.
- 55 13. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho recubrimiento de lípidos está presente en una cantidad suficiente para retener al menos 80% en peso de dicha sustancia bioactiva higroscópica.
- 60 14. Un método según la reivindicación 13, donde dicho recubrimiento de lípidos está presente en una cantidad suficiente para retener al menos 90% en peso de dicha sustancia bioactiva higroscópica.
15. Un método según la reivindicación 14, donde dicho recubrimiento de lípidos está presente en una cantidad suficiente para retener al menos 95% en peso de dicha sustancia bioactiva higroscópica.
- 65 16. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho período de tiempo está en el intervalo de 1 semana a 8 semanas.

17. Un método de acuerdo con la reivindicación 16, donde dicho período de tiempo está en el intervalo de 2 semanas a 4 semanas.