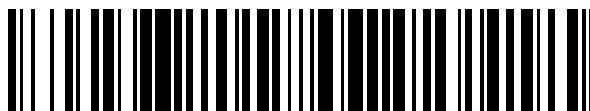


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 527 815**

51 Int. Cl.:

**B01J 13/02** (2006.01)

**B01J 13/22** (2006.01)

**A23P 1/04** (2006.01)

**C09B 67/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.11.2011 E 11802481 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.10.2014 EP 2640506**

54 Título: **Nuevo material híbrido de secuestro de principios activos de uso alimentario y su proceso de fabricación**

30 Prioridad:

**18.11.2010 FR 1059491**

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

**30.01.2015**

73 Titular/es:

**LABORATOIRES PHODÉ (50.0%)  
Z.I. Albipôle Avenue de la Martelle  
81150 Terssac, FR y  
INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE  
TOULOUSE (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ECLACHE, DANIEL;  
ETIENNE, PIERRE;  
NOIROT, VIRGINIE;  
MOULOUNGUI, ZÉPHIRIN y  
BACHAR, ZÉBIB**

74 Agente/Representante:

**VEIGA SERRANO, Mikel**

ES 2 527 815 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

Nuevo material híbrido de secuestro de principios activos de uso alimentario y su proceso de fabricación

5 **Sector de la técnica**

La presente invención concierne a un nuevo material híbrido que permite la protección y la vectorización de los principios activos que presentan interés en el ámbito de la alimentación. Son igualmente objeto de la presente invención un procedimiento que permite la obtención de dicho material, la utilización de este material para la elaboración de productos alimentarios, así como los productos alimentarios que comprenden dicho material.

**Estado de la técnica**

15 Las compañías industriales de nutrición animal desarrollan permanentemente productos innovadores con el fin de mejorar la producción y la salud del animal. La orientación actual en este ámbito es sustituir los principios activos utilizados en la nutrición animal y responsables de las resistencias observadas en el animal y potencialmente en el hombre a través de los residuos presentes en los productos animales, por sustancias de origen natural o "idénticas naturales", que limitan los riesgos para el hombre y son ecológicamente inertes.

20 Una clase de compuestos particularmente interesantes en el ámbito alimentario que permiten mejorar la calidad de los productos terminados está representada por los antioxidantes. Estas moléculas son capaces de neutralizar o de reducir los daños causados por los radicales libres en el organismo, responsables de la oxidación de las células y de los procesos de envejecimiento.

25 Los antioxidantes presentan interés a diferentes niveles. En el ámbito de la alimentación y de las propiedades organolépticas impiden el enranciamiento de los productos alimentarios (Liger J. (1991)"The use of antioxydants in foods. In Free Radicals and food Additives. Edited by O.I. Aruoma and B. Halliwell. págs.121 - 150. Taylor and Francis, London). En el ámbito biológico pueden ayudar a proteger el cuerpo humano frente a daños por especies de oxígeno reactivas ROS (siendo ROS un término colectivo empleado para incluir los radicales del oxígeno ( $O_2^-$ ,  $OH^\cdot$ ,  $RO_2^\cdot$ ,  $RO^\cdot$  etc.) y diversos oxidantes no radicales, tales como  $HOCl$ ,  $H_2O_2$ ,  $O_3$  and  $ONOO^-$ . El término "reactivo" es un término relativo, el  $O_2^-$  es por ejemplo más reactivo que el  $O_2$  pero mucho menos que el radical hidroxilo  $OH^\cdot$  o  $HOCl$ ).

35 Los aceites esenciales contienen antioxidantes. Se presentan en forma de líquidos oleosos aromáticos obtenidos a partir de plantas (flores, brotes, granos, hojas, ramitas, corteza, hierbas, madera, frutas y raíces). Un extenso cuerpo de investigación ha demostrado que los aceites esenciales y sus componentes principales poseen una gama de actividad biológica, que puede ser de gran importancia en diversos ámbitos desde la química alimentaria hasta la farmacia (Cristiani, M., D'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M. G., & Micieli, D., y col. (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 6300 - 6308).

45 Es bien conocido que los aceites esenciales obtenidos a partir del orégano (*Origanum vulgare*, *Lippia* spp.), una hierba mediterránea tradicional, poseen una fuerte actividad antimicrobiana debido a su contenido muy elevado en monoterpenos y compuestos oxigenados, tales como el c-terpineno, y el p-cimeno, el timol y el carvacrol (Chorianopoulos, N., Kalpoutzakis, E., Aligianis, N., Mitaku, S., Nychas, G. J., & Haroutounian, S. (2004). Essential oils of Satureja, Origanum and Thymus species chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogen. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 8261 - 8267). Esta actividad antimicrobiana se traduce a la vez por un efecto letal o bactericida, pero también por una inhibición del crecimiento o efecto bacteriostático.

50 El carvacrol es igualmente un componente habitual de los aceites de orégano, de tomillo y de mejorana, generalmente reconocidos como aditivos sanitarios no tóxicos. Se emplea frecuentemente en diversos productos como aderezo y/o como agente antimicrobiano, presenta un amplio espectro de actividad contra bacterias, levaduras y micetos (Knowles, J. R., Roller, S., Murray, D. B., & Naidu, A. S. (2005). Antimicrobial action of carvacrol at different stages of dual species biofilm development by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. Applied and Environmental Microbiology, 71 (2), 797 - 803).

60 Los aceites esenciales son hidrófobos y su principal sitio de actividad es la membrana microbiana. Estos sitios se acumulan en la bicapa lipídica de las células según un coeficiente de cerramiento que es específico para cada compuesto aplicado, produciendo la ruptura de la estructura de la membrana y su disfunción (Pol, I. E., & Smid, E. J. (1999). Combined action of nisin and carvacrol on *Bacillus cereus* and *Listeria monocytogenes*. Letters in Applied Microbiology, 29, 166 - 170). La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales relacionada con su contenido en monoterpenos es el resultado del carácter lipófilo de estos compuestos, que actúan alterando la membrana citoplasmática microbiana, que pierde así su elevada impermeabilidad para los protones y los iones grandes.

65 Un gran número de estudios *in vitro* han demostrado que el aceite de orégano y sus constituyentes más activos, el carvacrol y el timol, destruyen un amplio abanico de bacterias y hongos, produciendo unos efectos equivalentes e

incluso superiores a los de ciertos antibióticos tales como la anfotericina B y la nistatina frente a infecciones por *Candida albicans* (Baratta M.T. y col., Chemical composition and antioxidative activity of laurel, sage rosemary, oregano and coriander essential oils, J. Essent. oil Res., 1998, 10: 618-27).

- 5 Desafortunadamente estos compuestos naturales son biológicamente inestables, insolubles en agua y están mal distribuidos para dirigirse a los sitios de acción, localizados generalmente a nivel intestinal, lo que supone un paso estomacal, sinónimo de degradación de las propiedades de estos compuestos. Se han presentado algunos métodos originales con el fin de mejorar la estabilidad y la disponibilidad biológica de estos compuestos, entre los cuales está la encapsulación liposómica (Shoji, Y., & Nakashima, H. (2004). Nutraceuticals and delivery systems. Journal of Drug Targeting, 12 (6), 385 - 391).

15 La microencapsulación reduce la reactividad con el entorno exterior (el agua, el oxígeno, la luz), disminuye la evaporación y la velocidad de transferencia con estos. También favorece la capacidad de controlar, enmascarar el sabor y aumentar la dilución para realizar una distribución uniforme en los productos terminados una vez que el compuesto natural (aceite esencial) es utilizado en pequeñas cantidades (Gibbs, B. F., Kermasha, S., Alli, I., & Mulligan, C. N. (1999). Encapsulation in food industry: A review. International Journal of Food Science and Nutrition, 50 (3), 213 - 224). La utilización de liposomas es por lo tanto una solución ventajosa que permite conservar el sabor de los alimentos y asegurar la protección contra los fenómenos de oxidación.

20 También se han realizado trabajos dirigidos a la identificación de soportes que permitan la conservación de las propiedades de los compuestos activos de los aceites esenciales y la obtención de un efecto óptimo a nivel de los sitios de acción.

25 También se ha estudiado la adsorción de las moléculas de tipo fenólico en soportes básicos de tipo carbonato de cesio ( $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ ) en el marco de la reacción de Wittig-Horner en condiciones de interfases sólido-líquido (J. V. Sinisterra, J. Barrios, Z. Mouloungui, M. Delmas and A. Gaset, Bull. Soc. Chim Belg., vol. 100 / n° 3 / 1991). Los autores describen con detalle las condiciones de adsorción de moléculas de tipo fenólico, aldehídos fenólicos y aldehídos lineales sobre 3 tipos de soportes: carbonato de cesio ( $\text{Cs}_2\text{CO}_3 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ ), carbonatos de potasio ( $\text{K}_2\text{CO}_3 \cdot 1 \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ) e hidróxido de bario activado (C-200). Resulta que la estructura que microcristalina del soporte utilizado es el factor determinante de la actividad catalítica, por consiguiente, del rendimiento de la reacción estudiada. También concluyen que los carbonatos hidratados presentan unos sitios fuertemente reductores ( $\text{OH}^-$  u  $\text{O}^-$ ) debido a la presencia de agua en su malla cristalina, lo que significa un proceso catalítico de transferencia de electrones (ETC), que producirá la reacción parásita de Cannizzaro.

35 La encapsulación del carvacrol en formulaciones galénicas, y su liberación *in vitro* y/o *in vivo* ha sido ampliamente estudiada (S. Boisen and J. A. Fernandez, Amin. Feed Sci. Techn. 1995, 51, 29 - 43), (N. A. Cave, Poult. Sci., 1988, 67, 78 - 87), (M. Clunies and S. Leeson, Poult. Sci., 1984, 63, 89 - 96), (V. Malathi and G. Devegowda, Poult. Sci., 2001, 80, 302 - 305), (K. Sakamoto and T. Asano, Br. J. Nutri. 1980, 43, 389). Se han desarrollado diversas técnicas de encapsulación del carvacrol por parte de compañías químicas industriales. El carvacrol ha sido encapsulado mediante soportes de tipo almidón modificado (compañía INNOV'IA-17042 La Rochelle-Francia), sílice amorfa (compañía POLARIS-29170 Pleuven-Francia) o incluso polímero termoplástico. En este ámbito pueden mencionarse las solicitudes de patente FR 2 872 683, FR 2 900 940 o incluso el documento WO 2006/000032.

45 El carvacrol y el timol son agentes antiquelantes en presencia de cationes bimetálicos de tipo  $\text{Fe}^{2+}$ . Otros estudios demuestran que el carvacrol y el timol pueden ser complejados en sistemas orgánicos de tipo  $\beta$ -ciclodextrina (N. Mulinacci y col., International Journal of Pharmaceutics, 1996, 128, 81 - 88) por un lado con el objetivo de probar su complejación, y por otro lado para mejorar sus propiedades biofarmacéuticas. Además, otros autores demuestran que el carvacrol y el timol son oxidados por el agua oxigenada  $\text{H}_2\text{O}_2$  en presencia de catalizadores de tipo Mn (III) porfirina complejos (R. L. Rosalia y col., Journal of molecular Catalysis A: Chemical, 1999, 137, 41 - 47) para formar el derivado de hidroquinona y de timoquinona respectivamente, de los productos precursores de interés comercial.

55 Se ha estudiado la adsorción de moléculas fenólicas (mono, di y triclorofenol) en zeolita natural a unos valores de pH variables (4, 6, y 10,5) (Rushdi I. Yousef and Bassam El-Eswed, "The Effect of pH on the Adsorption of Phenol and Chlorophenols onto Natural Zeolite", Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects Volume 334, Issues 1 - 3, 20 February 2009, Pages 92 - 99). Los autores han determinado dos tipos de interacciones entre la molécula adsorbida y el soporte. El primer tipo es una interacción dependiente del pH de los fenoles con los sitios hidrófobos de la zeolita. El segundo tipo de interacción es la complejación, que depende del pH de los fenolatos formados, con los iones metálicos de los sitios hidrófilos de la zeolita. El número de sitios del primer tipo de interacción es más grande que el del segundo tipo. La adsorción aumenta al aumentar el pH debido al aumento de la complejación de los fenolatos con los iones metálicos de la zeolita. La adsorción de los monoclorofenoles por parte de la zeolita es por lo tanto más elevada que la de los diclorofenoles y los triclorofenoles.

65 Finalmente una revisión reciente (M. Ahmaruzzaman, "Adsorption of phenolic compounds on low-cost adsorbents: A review", Advances in Colloid and Interface Science, 143, 2008, 48 - 67) trata los detalles de la adsorción de los compuestos fenólicos en una amplia gama de soportes naturales (tales como arcillas, sílices, zeolitas, madera, biopolímeros, carbón activo y subproductos industriales como limos rojos, cenizas, limos de hidróxidos metálicos)

para el reciclado de aguas residuales.

El documento FR 2 937 507 A1 describe un procedimiento de protección de un principio activo caracterizado porque comprende las siguientes etapas: 1) mezclar un principio activo y una sal de ascorbato en presencia de agua para obtener un primer complejo; 2) mezclar este primer complejo y monolaurato de glicerol para obtener una emulsión. El principio activo es la curcumina. El documento FR 2 937 507 A1 describe también una emulsión micelar caracterizada porque comprende micelas que comprenden un núcleo que comprende un complejo de curcumina - ascorbato y una capa de monolaurato de glicerol. El documento FR 2 937 507 A1 describe también la utilización de esta emulsión como complemento alimentario para seres humanos o animales.

El conjunto de estas técnicas presenta no obstante un cierto número de inconvenientes. Los procedimientos implementados son a menudo poco económicos en energía y complejos de realizar, con unos tiempos de preparación a menudo largos, unos costes de realización elevados según la cantidad del tipo de compuestos utilizados, y unos rendimientos relativamente bajos en términos de cantidades de compuestos de interés protegidos. La repetibilidad de la organización molecular no es siempre verificada. Los resultados obtenidos con estas deferentes técnicas no son totalmente satisfactorios en lo que concierne a la vectorización de los sitios de acción en los que los compuestos son susceptibles de ser liberadas de forma dirigida, particularmente debido al tamaño de las partículas obtenidas y a su exposición a las diversas agresiones encontradas en su progresión en el seno del aparato digestivo.

La fragilidad de estos complejos representa igualmente un inconveniente debido a que necesitan unas condiciones de almacenamiento y/o de transporte particularmente controladas. El producto final obtenido se revela igualmente difícil de implementar en aplicaciones alimentarias debido a los problemas encontrados para mezclarlo e integrarlo de forma homogénea en un sustrato. El problema de los malos olores relacionado con los principios activos almacenados no está siempre resuelto, y la utilización del complejo final en un producto alimentario puede estar limitada a este respecto.

### **Objeto de la invención**

La presente invención contempla paliar estos inconvenientes proponiendo un nuevo material susceptible de almacenar un principio activo de interés en el ámbito de la alimentación en forma de una estructura organizada en varias capas, capaz de enmascarar los olores indeseables, y apto para suministrar el principio activo en los sitios de interés. El nuevo material según la invención se clasifica además como híbrido, ya que se puede presentar en una forma fluida estable, exenta o no de agua, pero igualmente en una forma pulverulenta estable, según las etapas del procedimiento, esto de forma reversible, lo que ofrece la posibilidad de adaptar el nuevo material a la utilización final contemplada y acondicionarlo en una forma ventajosa.

El nuevo material según la presente invención permite combinar de forma sinérgica la asociación de un principio activo con diferentes compuestos de naturaleza orgánica, basándose en interacciones electrostáticas así como en un soporte de naturaleza inorgánica que puede estar asociado de forma reversible según la forma deseada del nuevo material.

De forma más precisa, la presente invención concierne a un nuevo material híbrido de secuestro de principios activos en una emulsión fluida concentrada caracterizada porque comprende:

- un núcleo hidrófobo que comprende al menos un principio activo dotado de al menos un ciclo aromático,
- una capa de tensioactivo aniónico de tipo sales de ácidos carboxílicos lipófilos,
- una fase lipídica monodispersa dispersada en una fase acuosa continua, comprendiendo dicha fase lipídica al menos un tensioactivo anfótero lipídico que porta al menos dos cadenas de ácidos grasos, un grupo glicerilo y una cabeza ionizada,
- una capa superficial de tensioactivo no aniónico anfífilo que porta un elemento hidrófobo funcionalizado por uno, dos o tres grupos hidroxilo libres y un elemento hidrófilo mixto constituido por un grupo glicerilo y una cadena de polietilenglicol.

El núcleo hidrófobo del nuevo material según la invención comprende cualquier principio activo dotado de al menos un ciclo aromático capaz de formar un enlace de tipo electrostático fuerte con los compuestos del nuevo material que envuelven directamente este y los descritos a continuación. Preferiblemente, dicho al menos un ciclo aromático del principio activo está funcionalizado por un grupo hidroxilo y/o por un grupo formilo que permite establecer este tipo de enlace con la carga negativa del oxígeno del compuesto que envuelve el principio activo.

Los compuestos contemplados más particularmente por la presente invención como principios activos contenidos en el núcleo hidrófobo del nuevo material están presentes en los aceites esenciales extraídos del órgano, el tomillo, el clavo, la canela, la vainilla, la pimienta roja, el pimentón o una mezcla de estos. Preferiblemente se trata de moléculas elegidas de entre el carvacrol, el timol, el eugenol, el ácido cinámico, el aldehído cinámico, el ácido vanílico, la vainillina, la capsaicina, la piperina o una mezcla de estos.

Los compuestos presentan en efecto todas las características fisicoquímicas que permiten integrarlos en la estructura del nuevo material objeto de la presente invención. Además son particularmente ventajosos debido a los beneficios que pueden aportar tanto en el ámbito alimentario y gustativo, como desde un punto de vista biológico y de la salud.

5 La capa de tensioactivo aniónico de tipo sales de ácidos carboxílicos lipófilos directamente en contacto con el núcleo hidrófobo del nuevo material que contiene el o los principios activos está formada preferiblemente por sales de ácidos grasos cristalizables fusibles entre 30 y 70 °C. Los compuestos de esta capa pueden formar preferiblemente complejos con el principio activo de tipo quelato de varias cadenas, con una deslocalización de las cargas electrostáticas. La localización de las cargas preconiza una especie molecular de cabeza iónica con tendencia aniónica. En una forma de realización particular de la invención, esta capa está formada por sales de ácidos grasos con una cadena carbonada que comprende entre 12 y 18 átomos de carbono. Preferiblemente está formada por laurato de sodio u otra de sus sales.

15 Esta capa está recubierta por otra capa organizada en una bicapa lipídica, constituida por una fase lipídica monodispersa dispersada en una fase acuosa continua, comprendiendo dicha fase lipídica al menos un tensioactivo anfótero lipídico que tiene al menos dos cadenas de ácidos grasos, un grupo glicerilo y una cabeza ionizada. Preferiblemente, esta segunda capa está compuesta por un fosfolípido de tipo lecitina procedente de una fuente vegetal como la soja o la colza, por ejemplo, que presentan unas excelentes propiedades sanitarias.

20 La bicapa lipídica juega el papel de agente emulsionante, formando microvesículas multilaminares alrededor del complejo del tensioactivo aniónico - principio activo. Tiene el poder de enmascarar al menos parcialmente los olores que pueden ser desagradables de los principios activos secuestrados. Se aprecia que en ciertos casos según la invención, es posible invertir la bicapa lipídica de tensioactivo anfótero con la capa de tensioactivo aniónico de tipo sales de ácidos carboxílicos. La bicapa lipídica de tensioactivo anfótero se encuentra por tanto en contacto directo con el o los principios activos y el tensioactivo aniónico de tipo sales de ácidos carboxílicos se encuentra por tanto en la posición de segunda capa.

30 Una tercera capa envuelve el complejo ya descrito. Esta capa superficial está compuesta por un tensioactivo no iónico anfífilo que porta un elemento hidrófobo funcionalizado por uno, dos o tres grupos hidroxilos libres y un elemento hidrófilo mixto constituido por un grupo glicerilo y una cadena de polietilenglicol. Preferiblemente, el elemento hidrófobo de esta última capa es una molécula de ricinoleato; por tanto, está compuesta preferiblemente por gliceril ricinoleato de polietilenglicol, PEG-20.

35 Una de las ventajas de la presente invención es poder adaptar la forma del producto final en función de la utilización contemplada conservando las propiedades protectoras del nuevo material con respecto al principio activo almacenado y una liberación dirigida a nivel de los sitios de acción. Así, es posible asociar al nuevo material una fase acuosa con el fin de obtener una emulsión cuya fluidez será proporcional a la cantidad de fase acuosa añadida, manteniendo las propiedades del nuevo material. Se aprecia que la adición de agua permite además aumentar el poder de enmascaramiento del olor del nuevo material, lo que supone una ventaja en el caso de los principios activos volátiles dotados de un olor desagradable, como es el caso del carvacrol, por ejemplo.

45 De forma ventajosa, es posible adaptar la fluidez del nuevo material asociado a una fase acuosa exponiendo esta última a una etapa de liofilización. De esta forma se puede modificar de forma reversible la forma del nuevo material bien añadiendo una cantidad complementaria de fase acuosa con el fin de obtener una emulsión más fluida, o bien liofilizando el nuevo material con el fin de obtener una suspensión lipídica monodispersa fluida exenta de agua. Esta última forma ofrece la ventaja de permitir un almacenamiento del nuevo material sin la adición de conservante. Es posible volver al estado de emulsión fluida concentrada mediante la simple adición de agua.

50 En ciertos casos puede ser deseable utilizar el nuevo material según la invención no en forma fluida sino en una forma pulverulenta sólida. A este efecto, el nuevo material puede asociarse a un soporte inorgánico mediante adsorción, dando como resultado un complejo orgánico - inorgánico que se presenta en forma de un polvo homogéneo no pulverulento. El nuevo material según la invención puede comprender por tanto entre un 60 y un 80 % de una emulsión fluida concentrada como la descrita anteriormente, asociada a entre un 40 y un 20 % de un soporte inorgánico. Preferiblemente, el soporte inorgánico es de naturaleza silíceo.

60 La presente invención concierne igualmente a un procedimiento que permite la obtención de un nuevo material tal como el descrito anteriormente, que permite la protección y la vectorización de al menos un principio activo que presenta un interés en el ámbito de la alimentación mediante su secuestro en una emulsión fluida concentrada. El procedimiento objeto de la invención se caracteriza por su simplicidad, su bajo coste económico ligado al reducido número de reactivos utilizados y a la baja cantidad de energía necesaria, por la robustez del complejo obtenido y su rentabilidad en términos de activo protegido.

65 De forma más precisa, la presente invención concierne a un procedimiento de protección de un principio activo mediante su secuestro en una emulsión fluida concentrada en forma del nuevo material híbrido, caracterizado porque comprende las siguientes etapas:

a) fundir un tensioactivo aniónico de tipo sales de ácidos carboxílicos lipófilos mediante calentamiento a una temperatura cercana a la de fusión de dicho tensioactivo aniónico y con agitación,  
 b) añadir, manteniendo la temperatura y la agitación hasta su completa a disolución:

- 5
- al menos un principio activo hidrófobo dotado de al menos un ciclo aromático,
  - después al menos un tensioactivo anfótero lipídico que porta al menos dos cadenas de ácidos grasos, un grupo glicerilo y una cabeza ionizada,
  - después al menos un tensioactivo no iónico anfifílico que porta un elemento hidrófobo funcionalizado por uno, dos o tres grupos hidroxilos libres y un elemento hidrófilo mixto constituido por un grupo glicerilo y una
- 10 cadena de polietilenglicol,

c) añadir la fase acuosa hasta la obtención de una pasta fluida homogénea en las mismas condiciones de temperatura y agitación,

- 15 d) detener el calentamiento y dejar que dicha pasta así obtenida vuelva a la temperatura ambiente manteniendo la agitación,  
 c) detener la agitación.

20 En una forma de realización particular de la invención, el tensioactivo aniónico de tipo sales de ácidos carboxílicos lipófilos utilizados en el transcurso de la primera etapa está formado por sales de ácidos grasos cristalizables fusibles a entre 30 y 70 °C. Preferiblemente, se trata de de sales de ácidos grasos con una cadena carbonada que comprende entre 12 y 18 átomos de carbono, tal como el laurato de sodio u otra de sus sales.

25 Dicho al menos un principio activo hidrófobo utilizado en el procedimiento objeto de la invención está dotado preferiblemente de al menos un ciclo aromático funcionalizado por un grupo hidroxilo y/o por un grupo formilo. Los compuestos particularmente ventajosos en el marco de la invención proceden de aceites esenciales extraídos de orégano, tomillo, clavo, canela, vainilla, pimienta roja, pimentón o una mezcla de estos. Preferiblemente se trata de moléculas elegidas de entre el carvacrol, el timol, el eugenol, el ácido cinámico, el aldehído cinámico, el ácido vanílico, la vainillina, la capsaicina, la piperina o una mezcla de estos.

30 El tensioactivo anfótero lipídico que porta al menos dos cadenas de ácidos grasos, un grupo glicerilo y una cabeza ionizada está compuesto preferiblemente por un fosfolípido tal como lecitina de soja o de colza, por ejemplo.

35 En una forma variante del procedimiento objeto de la presente invención, se aprecia que eventualmente es posible asociar en un primer momento al menos un principio activo, tal como el definido anteriormente, con un tensioactivo anfótero lipídico que porta al menos dos cadenas de ácidos grasos, un grupo glicerilo y una cabeza ionizada, esto antes de poner en contacto el complejo así formado con el tensioactivo aniónico de tipo sales de ácidos carboxílicos lipófilos.

40 La última capa superficial del nuevo material según la presente invención se obtiene poniendo en contacto uno u otro de los dos complejos obtenidos según el procedimiento descrito anteriormente con al menos un tensioactivo no iónico anfifílico que porta un elemento hidrófobo funcionalizado por uno, dos o tres grupos hidroxilos libres y un elemento hidrófilo mixto constituido por un grupo glicerilo y una cadena de polietilenglicol. Preferiblemente, esta capa está compuesta por gliceril ricinoleato de polietilenglicol, PEG-20.

45 De manera opcional, según la forma en la que se desee utilizar el nuevo material según la invención, es posible proceder a una etapa complementaria del liofilización con vistas a eliminar la fase acuosa del complejo obtenido según el procedimiento descrito anteriormente; esta etapa es reversible ya que el nuevo material puede retomar su forma inicial de emulsión fluida concentrada mediante la simple adición de agua.

50 Con el fin de obtener un nuevo material en forma de un polvo, el procedimiento según la invención puede comprender todavía otra etapa complementaria que tendría lugar previamente o no a la liofilización, mediante la asociación del nuevo material con un soporte inorgánico, preferiblemente de naturaleza silíceo, en el transcurso de una etapa de adsorción. Las proporciones entre las fases orgánicas e inorgánicas puestas en contacto en el

55 transcurso de esta etapa son del orden del 60 al 80 % de emulsión fluida concentrada tal como la descrita anteriormente, asociada a entre un 40 y un 20 % de soporte inorgánico.

60 En el transcurso del procedimiento así descrito se mantiene una agitación permanente con el fin de obtener una mezcla lo más homogénea posible de cada uno de los reactivos puestos en contacto entre sí, y un tamaño conveniente del nuevo material final. Preferiblemente, la agitación se realiza por medio de una mezcladora de fuerte cizallamiento, de forma que se obtengan partículas cuyo tamaño esté comprendido 5 y 200 micrómetros.

65 El nuevo material así descrito según la presente invención constituye por tanto un excelente soporte que permite la protección y la vectorización de los principios activos que presentan un interés en el ámbito de la alimentación. El nuevo material según la invención es por lo tanto utilizado ventajosamente para la elaboración de productos alimentarios destinados a seres humanos y/o a animales. Los beneficios aportados por estos productos abarcan

tanto el ámbito gustativo como el de la salud del ser humano. Para el animal, permiten mejorar sus características zootécnicas. Un producto alimentario que comprende un nuevo material según la invención puede ser estabilizado mediante la adición de diversos aditivos que el experto en la materia sabrá seleccionar con el fin de preparar cualquier composición alimentaria destinada a seres humanos y/o a animales.

5

### Descripción detallada de la invención

#### Ejemplos

10 Los siguientes ejemplos ilustran la invención con el fin de hacer más apreciables las características y las ventajas, sin reducir no obstante de ninguna forma su ámbito a éstos.

#### **1 - Formulación de un nuevo material según la invención que integra moléculas de carvacrol, presentándose en forma de una emulsión fluida concentrada:**

15

Código MP	Designación	Orden	Cantidad %
EM2477	Laurato de sodio 20%	1	12,4
MP0415	Carvacrol	2	13,22
MP1945	Lecitina de soja (E322)	3	16,53
MP1902	Gliceril ricinoleato de polietilenglicol, PEG-20 (E484)	4	8,26
MP1875	Agua desmineralizada	5	49,59
Suma			100

Característica de **la emulsión**:

20 Físicas: aspecto pastoso, crema, color amarillento claro, estable termodinámicamente, estable a los choques exteriores (Ultrasonidos), tamaño medio de las partículas de 8 micrómetros, emulsión soluble en agua, soluble en disolventes orgánicos, emulsión reversible.

Químicas: emulsión fluida a un pH medio de 7,5, emulsión fluida estable térmicamente entre T = 25 - 60 °C, emulsión fluida estable a varios pH (5, 6 y 7).

25

Parámetros clave:

- la reducción del tamaño de las partículas de la emulsión fluida se realiza mediante agitación Ultra-turrax,
- la naturaleza de los lípidos utilizados (sales de ácidos grasos cristalizables a 25 °C) contribuye a la obtención de partículas sólidas en suspensión,
- la adición de la fase acuosa a la dispersión lipídica a 50 °C provoca un cambio en el aspecto y el color para formar una emulsión fluida de aceite en agua (O/W),
- la adición de la fase acuosa a la dispersión lipídica provoca un enmascaramiento del olor de fenol (carvacrol) mediante secuestro,
- el contenido en carvacrol en la emulsión fluida varía entre el 1 y el 50 %.

35

#### **2 - Formulación de un nuevo material según la invención que integra moléculas de carvacrol, presentándose en forma de un polvo homogéneo:**

40 La emulsión sintetizada a 46 °C es adsorbida físicamente en sílice en polvo inicialmente a 25 °C. La operación se realiza en una mezcladora. La temperatura de la mezcla en t = 0 es igual a 33 °C y cae con el tiempo hasta 25 °C. El nuevo material híbrido (orgánico / inorgánico) en polvo se obtiene así según las siguientes proporciones.

Código MP	Designación	Orden	Cantidad %
EM2477	Laurato de sodio 20%	1	8,523
MP0415	Carvacrol	2	9,091
MP1945	Lecitina de soja (E322)	3	11,36
MP1902	Gliceril ricinoleato de polietilenglicol, PEG-20 (E484)	4	5,682
MP1875	Agua desmineralizada	5	34,09
MP1554	Dióxido de sílice (sílice precipitada) (E551)	6	31,25
Suma			100

45 Característica de **la emulsión**:

Físicas: polvo sólido no pulverulento de color blanco sucio, estable termodinámicamente, estable térmicamente a 103 °C, estable a los choques exteriores (Ultrasonidos), tamaño medio de las partículas sólidas de 150 micrómetros.

50 Químicas: nuevo material estable en agua, estable en las condiciones fisiológicas a pH ácidos (< 3).

**3 - Acondicionamiento del nuevo material según la invención:**

El nuevo material puede ser acondicionado de dos formas:

- 5 La emulsión fluida concentrada que contiene agua (no liofilizada) puede ser estabilizada frente a la oxidación mediante la adición de un antioxidante natural, preferiblemente butilhidroxitolueno (BHT). La emulsión es estable en un medio aislado del exterior durante el almacenamiento (envase cerrado).
- 10 La suspensión lipídica fluida monodispersa exenta de agua (liofilizada) puede ser almacenada en un medio aislado del exterior (envase cerrado). La adición de agua después del almacenamiento provoca la reconstitución de la emulsión (partículas oleosas en agua).

**4 - Preparación de un nuevo material según la invención que integra moléculas de carvacrol como principio activo (PA), presentándose en forma de una emulsión fluida concentrada:**

1- Calentar el laurato de sodio a 50 °C y con agitación mecánica Recogidos:

T° de partida del laurato de sodio = 22.7 °C  
 Duración del calentamiento = 45 minutos  
 Consignación del calentamiento = 50 °C

2- Introducir en el laurato fundido el PA, y con agitación mecánica alcanzar los 46 °C Recogidos:

T °C del laurato de sodio = 52.2 °C  
 T °C del PA = 23.5 °C  
 T° de partida de la mezcla de de sodio + PA = 39.5 °C

3- La mezcla 2 se coloca en una placa calefactor a con agitación mecánica para mantener la mezcla a 46 °C

4- Introducir la lecitina de soja con el BHT (mezcla madre) a la T °C de 50 °C para fundir el BHT

Disolver el BHT  
 Esto contribuye a disminuir la viscosidad de la lecitina de soja y facilita su incorporación en la emulsión.

5- Añadir la mezcla de lecitina de soja y BHT (mezcla madre) a chorro bajo UT Recogidos:

6- Añadir el gliceril ricinoleato de polietilenglicol, PEG-20 a chorro:

7- Añadir agua desmineralizada a chorro  
 A una T° del agua desmineralizada = 23.4 °C

**5 - Efecto del pH sobre la estabilidad del nuevo material según la invención que integra moléculas de carvacrol, presentándose en forma de una emulsión fluida concentrada:**

Se ha realizado una emulsión fluida concentrada según el ejemplo 1. Se han llevado a cabo ensayos con el fin de determinar las cinéticas del análisis *in vitro* de la emulsión fluida concentrada en disoluciones tampón a pH variables (3, 5, 6, 7) a 39 °C. La dosis de carvacrol estudiada era de 6,6 g/l, es decir, una proporción (disolución tampón / carvacrol) de 151,15. La cinética de incubación se ha estudiado entre 0 y 24 h.

Los resultados de la cinética de incubación de la emulsión a 39 °C fueron seguidos por un análisis microscópico, y están ilustrados en las figuras 1A, 1B y 2.

La figura 1A representa las fotos de microscopía obtenidas con la emulsión fluida concentrada, denominada "formulación", incubada en una disolución tampón (pH = 3) a 39 °C antes y después de 2 h.

La figura 1B representa las fotos de microscopía de la misma emulsión fluida concentrada, denominada "formulación", incubada en una disolución tampón (pH = 7) a 39 °C antes y después de 6 h.

La figura 2 representa la cantidad residual de carvacrol en una emulsión fluida concentrada según la invención en función del pH de la disolución tampón.

A la vista de estos resultados, parece que:

- la formulación se degrada hasta un 95% en un medio ácido a pH = 3 al final de las 2 h cuando es liberado el carvacrol,



- la formulación es estable hasta un 50% en un medio a pH = 5, 6.
- la formulación es estable hasta un 70% en un medio a pH = 7.

5 La liberación del carvacrol está por lo tanto fuertemente relacionada con la estabilidad de la formulación. Este resultado obtenido demuestra que la liberación del carvacrol secuestrado en la emulsión fluida concentrada se obtiene más rápidamente en medio ácido pH = 3 que en medio ligeramente ácido (pH = 5 y 6) o neutro (pH = 7).

**6 - Efecto del pH sobre la estabilidad del nuevo material según la invención que integra moléculas de carvacrol, presentándose en forma de un polvo homogéneo:**

10 Se ha realizado un polvo homogéneo según el ejemplo 2. Los ensayos realizados en disolución tampón a pH variable para obtener las cinéticas del análisis *in vitro* de la emulsión fluida concentrada se han reproducido con el nuevo material según la invención que se presenta en forma de un polvo homogéneo.

15 Los resultados de estas cinéticas están ilustrados en las figuras 3 y 4.

La figura 3 representa a la izquierda una foto de microscopía obtenida con el polvo homogéneo según la invención, denominado "producto en polvo", incubado en una disolución tampón (pH = 3) a 39 °C después de 24 h. A la derecha se observa una foto de microscopía del mismo polvo homogéneo según la invención, denominado "producto en polvo", incubado en una disolución tampón (pH = 7) a 39 °C después de 16 h.

La figura 4 representa la cantidad residual de carvacrol en un nuevo material según la invención que se presenta en forma de un polvo homogéneo en función del pH de la disolución tampón.

25 A la vista de estos resultados, parece que:

- el producto terminado (polvo) es estable hasta el 100% en medio ácido a pH = 3 al final de las 24 h. Aquí no se observa liberación de carvacrol en el microscopio óptico.
- el producto terminado (polvo) posee una estabilidad decreciente en un medio neutro (pH = 7). Aquí, la liberación del carvacrol está controlada, se realiza con el tiempo.

35 La liberación del carvacrol está por lo tanto fuertemente relacionada con la estabilidad del producto terminado. Este resultado obtenido demuestra que la liberación del carvacrol secuestrado en el producto terminado se obtiene más rápidamente en un medio a pH = 7 que en un medio ácido (pH = 3) o ligeramente ácido (pH = 5 y 6).

Los resultados de estos estudios permiten constatar los siguientes elementos:

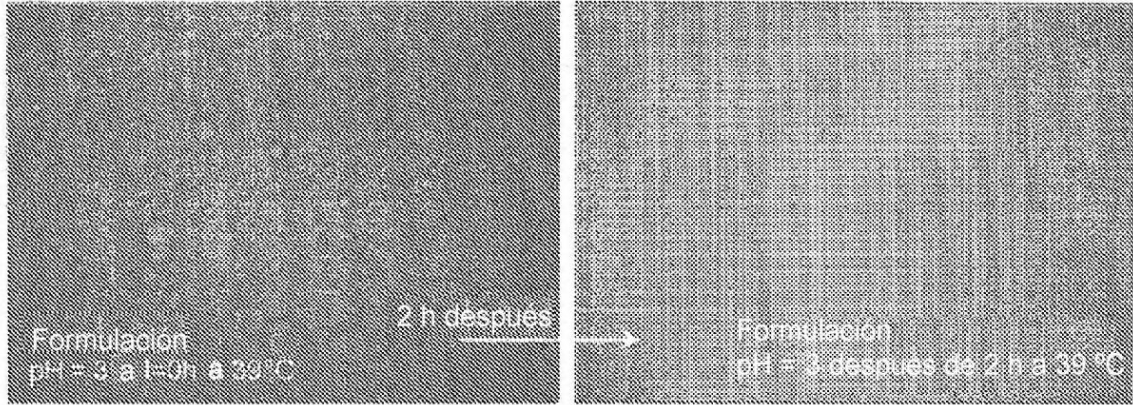
- la emulsión fluida concentrada según la invención es estable para un  $t < 2$  h en un medio ácido (pH = 3),
- la emulsión fluida concentrada según la invención es estable en un medio ligeramente ácido (pH = 5 y 6) y neutro (pH = 7) para un  $t < 6$  h,
- el nuevo material según la invención que se presenta en forma de un polvo homogéneo está estabilizado en medio ácido (pH = 3)
- el nuevo material según la invención que se presenta en forma de un polvo homogéneo permite la vectorización y la liberación de las microvesículas con el tiempo (de forma controlada).

45 Así, es posible adoptar la forma del nuevo material según la invención en función del sitio de acción contemplado, mediante un procedimiento simple y económico como el descrito en la presente solicitud, que ofrece la ventaja de permitir pasar de una forma a otra de una manera reversible.

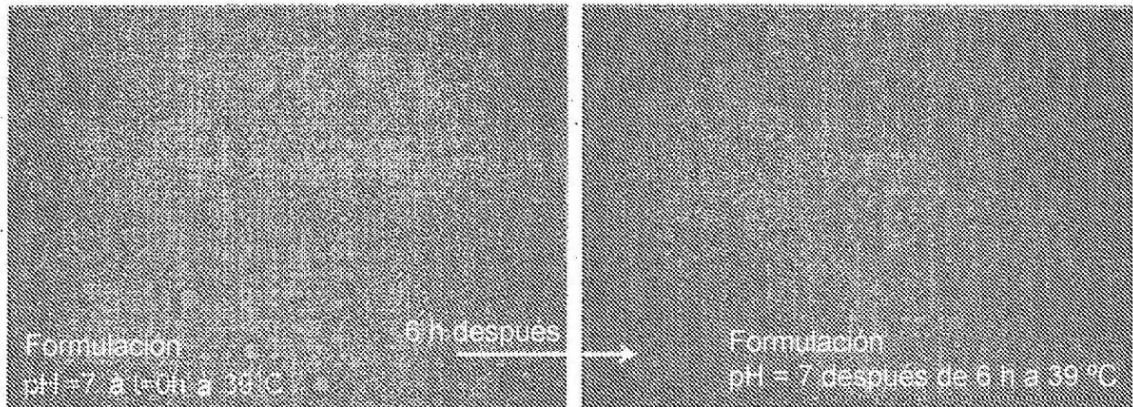
**REIVINDICACIONES**

1. Nuevo material híbrido de secuestro de principios activos en una emulsión fluida concentrada **caracterizado porque** comprende:
- 5
- un núcleo hidrófobo que comprende al menos un principio activo dotado de al menos un ciclo aromático,
  - una capa de tensioactivo aniónico de tipo sales de ácidos carboxílicos lipófilos,
  - una fase lipídica monodispersa dispersada en una fase acuosa continua, comprendiendo dicha fase lipídica al menos un tensioactivo anfótero lipídico que porta al menos dos cadenas de ácidos grasos, un grupo glicerilo y una cabeza ionizada,
  - una capa superficial de tensioactivo no iónico anfifílico que porta un elemento hidrófobo funcionalizado por uno, dos o tres grupos hidroxilos libres y un elemento hidrófilo mixto constituido por un grupo glicerilo y una cadena de polietilenglicol.
- 10
2. Nuevo material híbrido de secuestro de principios activos según la reivindicación 1, **caracterizado porque** dicho al menos un principio activo está dotado de al menos un ciclo aromático funcionalizado por un grupo hidroxilo y/o por un grupo formilo.
- 15
3. Nuevo material híbrido de secuestro de principios activos según la reivindicación 1, **caracterizado porque** dicho al menos un principio activo proviene de un aceite esencial extraído de orégano, de tomillo, de clavo, de canela, de vainilla, de pimienta roja, de pimentón o de una mezcla de estos, eligiéndose dicho al menos un principio activo de entre las siguientes moléculas: el carvacrol, el timol, el eugenol, el ácido cinámico, el aldehído cinámico, el ácido vanílico, la vainillina, la capsaicina, la piperina o una mezcla de estos.
- 20
4. Nuevo material híbrido de secuestro de principios activos según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado porque** la capa de tensioactivo aniónico de tipo sales de ácidos carboxílicos lipófilos está formada por sales de ácidos grasos cristalizables fusibles entre 30 y 70 °C, teniendo dichas sales de ácidos grasos una cadena carbonada que comprende entre 12 y 18 átomos de carbono.
- 25
5. Nuevo material híbrido de secuestro de principios activos según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado porque** la capa de tensioactivo aniónico de tipo sales de ácidos carboxílicos lipófilos está formada por laurato de sodio u otra de sus sales.
- 30
6. Nuevo material híbrido de secuestro de principios activos según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado porque** la fase lipídica monodispersa está formada por lecitina de soja o de colza.
- 35
7. Nuevo material híbrido de secuestro de principios activos según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado porque** el elemento hidrófobo de la capa superficial de tensioactivo no iónico anfifílico es una molécula de ricinoleato.
- 40
8. Nuevo material híbrido de secuestro de principios activos según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado porque** está asociado a una fase acuosa y/o a un soporte inorgánico.
- 45
9. Procedimiento de protección de principios activos mediante su secuestro en una emulsión fluida concentrada en forma de un nuevo material híbrido **caracterizado porque** comprende las siguientes etapas:
- 50
- a) fundir un tensioactivo aniónico de tipo sales de ácidos carboxílicos lipófilos mediante calentamiento a una temperatura cercana a la de fusión de dicho tensioactivo aniónico y con agitación,
  - b) añadir, manteniendo la temperatura y la agitación hasta su completa disolución:
- al menos un principio activo hidrófobo dotado de al menos un ciclo aromático,
  - después al menos un tensioactivo anfótero lipídico que porta al menos dos cadenas de ácidos grasos, un grupo glicerilo y una cabeza ionizada,
  - después al menos un tensioactivo no iónico anfifílico que porta un elemento hidrófobo funcionalizado por uno, dos o tres grupos hidroxilos libres y un elemento hidrófilo mixto constituido por un grupo glicerilo y una cadena de polietilenglicol,
- 55
- c) añadir la fase acuosa hasta la obtención de una pasta fluida homogénea en las mismas condiciones de temperatura y agitación,
  - d) detener el calentamiento y dejar que dicha pasta así obtenida vuelva a la temperatura ambiente manteniendo la agitación,
  - e) detener la agitación.
- 60
10. Procedimiento de protección de principios activos según la reivindicación 9 **caracterizado porque** dicho al menos un principio activo hidrófobo está dotado de al menos un ciclo aromático funcionalizado por un grupo hidroxilo y/o por un grupo formilo.
- 65

11. Procedimiento de protección de principios activos según la reivindicación 9 o 10 **caracterizado porque** el nuevo material obtenido se somete a un tratamiento de liofilización, estando el nuevo material obtenido adsorbido sobre un soporte inorgánico de naturaleza silíceo.
- 5 12. Procedimiento de protección de principios activos según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11 **caracterizado porque** la agitación se realiza por medio de una mezcladora de fuerte cizallamiento, de forma que se obtengan partículas cuyo tamaño esté comprendido entre 5 y 200 micrómetros.
- 10 13. Utilización del nuevo material según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para la elaboración de productos alimentarios destinados a seres humanos y/o a animales.
14. Producto alimentario que comprende un nuevo material según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 **caracterizado porque** es estabilizado mediante la adición de aditivos.



**Figura 1A**



**Figura 1B**

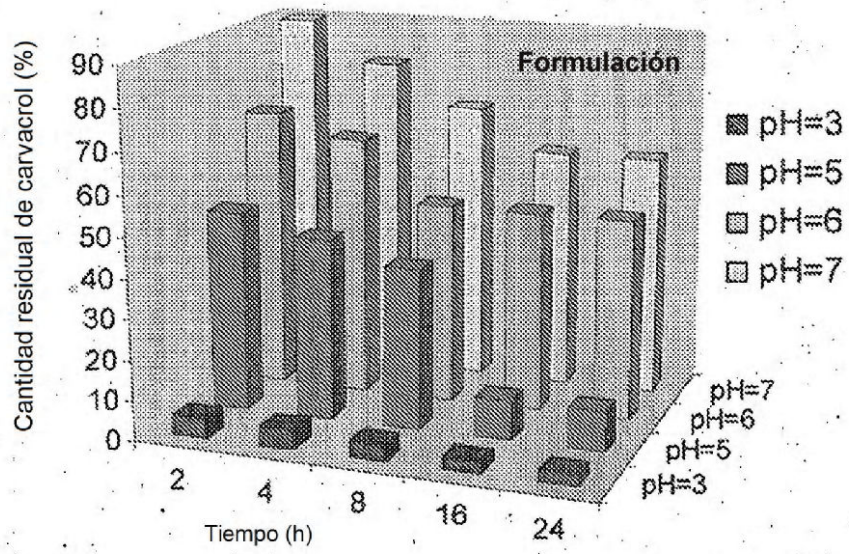


Figura 2

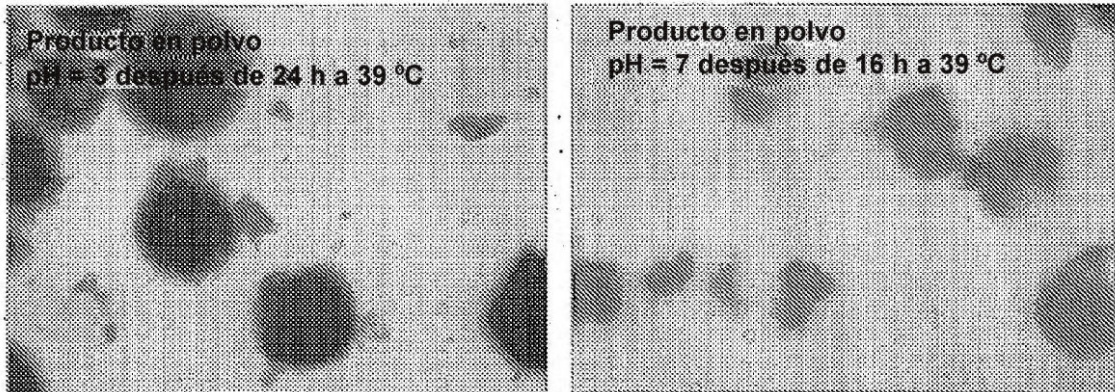


Figura 3

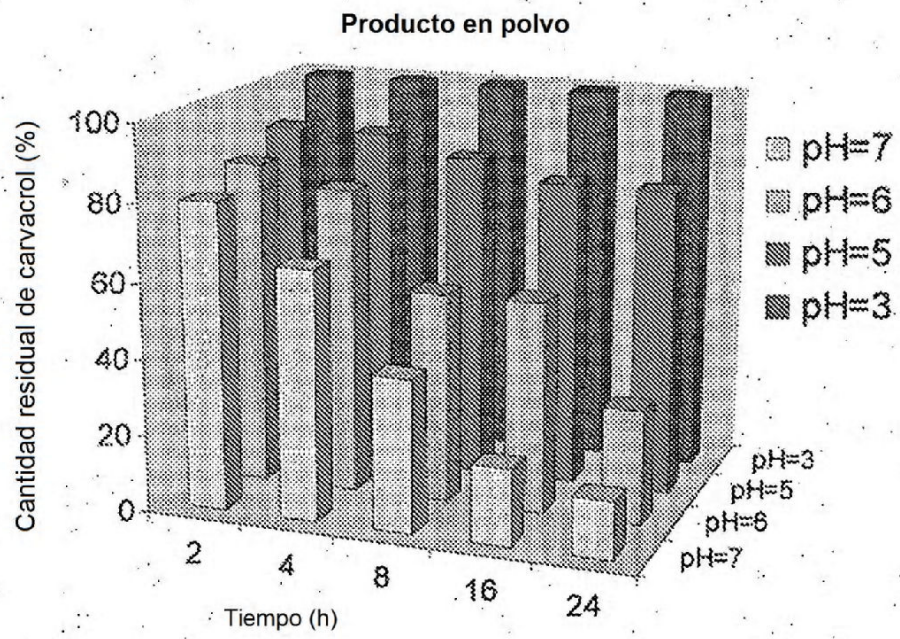


Figura 4