

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 607 467**

51 Int. Cl.:

A23L 33/12 (2006.01)

A23L 33/18 (2006.01)

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 8/11 (2006.01)

A61K 9/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.06.2008 PCT/US2008/067383**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.12.2008 WO08157629**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2008 E 08771394 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.09.2016 EP 2166874**

54 Título: **Composiciones de microencapsulación, métodos para hacerlas, métodos de uso y productos de las mismas**

30 Prioridad:

19.06.2007 US 945040 P

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

31.03.2017

73 Titular/es:

**DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)
Het Overloon 1
6411 TE Heerlen, NL**

72 Inventor/es:

**WILLS, TODD;
CONNOLLY, BRIAN, J. y
SUBRAMANIAN, SRINIVASAN**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 607 467 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones de microencapsulación, métodos para hacerlas, métodos de uso y productos de las mismas.

Campo de la invención

5 Esta invención se refiere a composiciones de encapsulación y métodos para hacerlas, así como a su uso para hacer composiciones encapsuladas que contienen materiales de núcleo, que incluyen ácidos grasos poliinsaturados.

Antecedentes de la invención

La encapsulación de compuestos puede protegerlos del cambio químico, físico o biológico indeseable o la rotura mientras retienen su eficacia, tal como la eficacia biológica o fisiológica. La encapsulación también es eficaz para mejorar las propiedades de manipulación de un material pegajoso, proporcionar liberación controlada de sustancias tales como fármacos o plaguicidas, enmascarar el sabor u olor del compuesto, por ejemplo. La microencapsulación de un líquido, tal como un aceite, permite la formación de una partícula que presenta una superficie externa seca con un aceite ocluido. A menudo las partículas son un polvo fluido. Por lo tanto, la microencapsulación permite de forma eficaz la conversión de líquidos en polvos. Las microcápsulas comprenden partículas aproximadamente esféricas que contienen una sustancia encapsulada (atrapada). La partícula normalmente tiene algún tipo de cubierta, a menudo una cubierta polimérica, tal como una cubierta de polipéptido o polisacárido, y el producto activo encapsulado se encuentra dentro de la cubierta. Algunos compuestos y composiciones, tales como ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), vitaminas, minerales, antioxidantes, hormonas, aminoácidos, proteínas, hidratos de carbono, coenzimas, y agentes de sabor, sensibles a una serie de factores, pueden perder la actividad biológica u otra actividad deseada cuando no están protegidos. Además, los productos (por ejemplo, productos de descomposición, productos de degradación y productos de oxidación) que son resultado del cambio químico, físico o biológico o la rotura de compuestos y composiciones lábiles, pueden carecer de la función biológica deseada y/o tener características no deseadas, tales como sabores desagradables, olores indeseados, actividad que promueve la irritación, y similares. A menudo es necesario introducir compuestos y composiciones lábiles, que son susceptibles al cambio químico, físico o biológico o la rotura, en productos farmacéuticos, nutricionales, incluyendo nutracéuticos y productos industriales. En algunos casos, es deseable la protección de dichos compuestos y composiciones. Con respecto a los PUFA en particular, es conveniente proteger dichos lípidos en alimentos del oxígeno, metales en trazas y otras sustancias que atacan los dobles enlaces de los PUFA. Dicha protección reduce la probabilidad de problemas organolépticos, es decir, problemas relacionados con los sentidos (sabor, color, olor, sensación), tales como sabores desagradables y olores indeseados, y otros problemas, tales como la pérdida de la actividad fisiológica. Dicha protección podría aumentar potencialmente la vida en anaquel de los productos que los contienen.

Se conocen numerosas técnicas para la microencapsulación dependiendo de la naturaleza de la sustancia encapsulada y del tipo de material de cubierta usado. Los métodos típicamente implican solidificar pequeñas gotas de líquido emulsionado cambiando la temperatura, evaporando el disolvente o añadiendo agentes de reticulación química. Dichos métodos incluyen, por ejemplo, secado por atomización, polimerización interfacial, encapsulación por fusión en caliente, encapsulación por separación de fases (separación del disolvente y evaporación del disolvente), emulsión espontánea, microencapsulación por evaporación del disolvente, microencapsulación por separación del disolvente, coacervación, y formación de microesferas a baja temperatura y nanoencapsulación por inversión de fase (PIN). La microencapsulación es adecuada para fármacos, vitaminas y complementos alimenticios puesto que este proceso es adaptable variando los ingredientes y las condiciones de la encapsulación.

40 Hay una necesidad particular de proporcionar formas microencapsuladas de grasas o aceites, tales como aceites vegetales y marinos, que contienen PUFA. Dichas formas microencapsuladas beneficiarían las propiedades de digeribilidad, estabilidad, resistencia a cambio químico, físico o biológico o la rotura. Los aceites microencapsulados se podrían proporcionar convenientemente en una forma en polvo fluida. Dicho polvo se puede mezclar fácilmente con otros componentes secos o líquidos para formar un producto útil.

45 Sin embargo, la capacidad de microencapsulación puede estar limitada por factores debido a la naturaleza del procedimiento de microencapsulación o el compuesto o composición que se va a encapsular. Dichos factores podrían incluir pH, temperatura, uniformidad, viscosidad, hidrofobicidad, peso molecular y similares. Además, un procedimiento de microencapsulación dado puede tener limitaciones inherentes. Por ejemplo, en las técnicas de microencapsulación en las que se usa calor para el secado, los compuestos aromáticos de bajo punto de ebullición pueden perderse durante el procedimiento de secado. Además, el núcleo puede adherirse a la superficie del material de encapsulación, presentando potencial para la mayor oxidación y cambios en el equilibrio de sabores del producto terminado. En algunos casos, las condiciones de almacenamiento deben controlarse con cuidado para evitar un aumento de la actividad con el agua y por lo tanto la estabilidad de la cápsula y retención de compuestos volátiles dentro de la cápsula. Durante la microencapsulación de secado por atomización, la temperatura de entrada de la alimentación puede no ser suficientemente alta y dar como resultado el secado incompleto y la pegajosidad en la cámara de secado y formación de aglomerados en el almacenamiento. También se puede producir la inconsistencia de las partículas en algunas condiciones del procedimiento. A temperaturas que son demasiado bajas, las partículas pueden hincharse y se pueden formar grietas en la superficie de las partículas. Esto puede producir la pérdida de

compuestos volátiles y compromete la calidad del producto final. Otro inconveniente más es que los recubrimientos producidos a menudo son solubles en agua y sensibles a la temperatura. Los autores de la presente invención han reconocido los problemas anteriores y que, por lo tanto, es necesario proporcionar materiales y procedimientos adicionales para la encapsulación de compuestos y composiciones susceptibles al cambio químico, físico o biológico o la rotura.

El documento US 2006/286205 describe la preparación de un polvo de emulsión de hidrolizado usando hidrólisis enzimática y reacciones de oscurecimiento para modificar el sabor del polvo resultante. El caldo de fermentación que comprende microorganismos *Schizochytrium* se hidrolizó enzimáticamente con alcalasa, lo que dio como resultado la hidrólisis parcial. Después, la mezcla se calentó a una temperatura de 95°C y el pH se llevó a un valor de 9,5. Una vez alcanzada la temperatura, se añadieron lactosa, maltodextrina y jarabe de maíz con alto contenido en fructosa. Esta etapa inactiva las enzimas, promueve la hidrólisis adicional de proteínas, y la combinación de los productos de hidrólisis de proteínas con los azúcares produce productos de reacciones de oscurecimiento (p. ej., productos de la reacción de Maillard y productos de caramelización). Esta mezcla se dejó reaccionar durante 2 horas y después se dejó enfriar a 60°C. Tras el enfriamiento, se añadió aceite DHA Martek, así como caseína. Esta mezcla se homogeneizó a 750 bar en un homogeneizador Panda 2 k (Niro-Soavi) manteniendo una temperatura de 60°C. El caldo resultante después se secó por pulverización en un secador por pulverización Buchi B-290 con una temperatura interior de 170°C y una temperatura exterior de 70°C.

El documento WO 01/74175 A1 describe un método de formación de una emulsión de un aceite sensible al oxígeno por encapsulación del mismo, que incluye las etapas de: a) preparar una mezcla acuosa de una proteína y un hidrato de carbono que contiene un grupo azúcar reductor; b) calentar la mezcla de 60°C a 160°C durante un periodo para permitir suficientes productos de reacción de Maillard para formar sin coagulación; c) dispersar dicho aceite en la fase acuosa; d) homogeneizar la mezcla para obtener una emulsión. Estos productos de la reacción de Maillard formados con materiales proteínicos formadores de película seleccionados producen materiales de encapsulación superiores para aceites e ingredientes solubles en aceite sensibles al oxígeno. La proteína preferiblemente es soluble y es necesario que sea estable en el intervalo de calentamiento de la reacción de Maillard e incluye caseína, proteínas de soja y lactosuero, gelatina, albúmina de huevo y proteínas hidrolizadas con más grupos aminoácidos libres, incluyendo hidrolizado de proteína de soja. El hidrato de carbono preferido es un azúcar con un grupo reductor, preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en monosacáridos (p. ej., glucosa, fructosa), disacáridos (p. ej., maltosa, lactosa), trisacáridos, oligosacáridos y jarabes de glucosa. El pH de la fase acuosa es entre 4 y 10. Los aceites incluyen los que contienen ácidos grasos poliinsaturados tales como aceite de canola, aceite de borraja, aceite de onagra, aceite de cártamo, aceite de girasol, aceite de linaza, aceite de germen de trigo y aceite de pepita de uva, y aceites marinos obtenidos de peces tales como atún, arenque, caballa, sardina, hígado de bacalao y tiburón. Las grasas lácteas y otras grasas que son sensibles al oxígeno también se pueden encapsular. Los ingredientes solubles en aceites que necesitan protección del oxígeno incluyen vitamina A [retinol], vitamina D [calciferol], vitamina E, tocoferoles, tocotrienoles, vitamina K [quinona] y beta-caroteno [pro-vitamina-A].

Resumen de la invención

La presente invención proporciona un método para preparar una composición de encapsulación, que comprende hacer reaccionar una solución que comprende proteína y azúcar reductor a un pH inicial de al menos aproximadamente 10, para lograr un grado de hidrólisis de proteínas de entre aproximadamente 1% y aproximadamente 15%, como se reivindica.

La invención proporciona además un producto encapsulado, que comprende una composición que comprende un material de núcleo; y un material de encapsulación en la composición, en donde el material de encapsulación se forma a partir de proteína hidrolizada que tiene un grado de hidrólisis de proteína de entre aproximadamente 1% y aproximadamente 15% y a partir de productos de caramelización, como se reivindica.

La invención proporciona además un producto seleccionado del grupo que consiste en un alimento, un producto cosmético, un producto farmacéutico, un producto nutricional y un producto industrial, en donde el producto comprende el producto encapsulado descrito antes, como se reivindica.

La invención también proporciona un método para preparar un producto encapsulado, que comprende hacer reaccionar una solución que comprende al menos una proteína y al menos un azúcar reductor a un pH inicial de al menos aproximadamente 10, para lograr un grado de hidrólisis de proteínas de entre aproximadamente 1% y aproximadamente 15%; combinar la solución que ha reaccionado con una composición que comprende un material de núcleo; en donde la solución que ha reaccionado forma un material de encapsulación sobre la composición que comprende el material de núcleo, como se reivindica.

La invención también proporciona productos encapsulados preparados por este método, que incluyen un alimento, un producto cosmético, un producto farmacéutico, un producto nutricional o un producto industrial, como se reivindica.

En algunas realizaciones, la proteína hidrolizada tiene una distribución uniforme de los productos de hidrólisis.

La proteína se selecciona del grupo que consiste en caseína, sólidos de lactosuero, aislado de proteínas de lactosuero, proteína de soja. El azúcar reductor se selecciona del grupo que consiste en glucosa y maltosa.

En algunas realizaciones, el grado de hidrólisis de proteínas es entre aproximadamente 2% y aproximadamente 10%, y en otras realizaciones, entre aproximadamente 3% y aproximadamente 8%.

5 En algunas realizaciones, los productos de caramelización se producen durante la etapa de reacción.

En algunas reacciones, los productos de la reacción de Maillard se producen durante la etapa de reacción.

En algunas realizaciones, la reacción es a una temperatura de al menos aproximadamente 90°C durante aproximadamente 1 hora.

En algunas realizaciones, la hidrólisis de proteínas es no enzimática.

10 El material de encapsulación se forma haciendo reaccionar una solución que comprende proteína y azúcar reductor a un pH inicial de al menos aproximadamente 10, para lograr un grado de hidrólisis de proteínas de entre aproximadamente 1% y aproximadamente 15%.

En algunas realizaciones de los productos, el material de encapsulación comprende productos de caramelización, y en otras realizaciones, el material de encapsulación comprende productos de la reacción de Maillard.

15 El material de núcleo puede ser un ácido graso poliinsaturado.

La planta puede ser una planta oleaginosa y/o planta de cultivo. Cuando la planta es una planta oleaginosa, la fuente puede ser la semilla oleaginosa de la planta oleaginosa.

20 La fuente de la planta y/o semilla oleaginosa puede ser soja, maíz, cártamo, girasol, canola, lino, cacahuete, mostaza, colza, garbanzo, algodón, lenteja, trébol blanco, oliva, palma, borraja, onagra, linaza y tabaco, o mezclas de los mismos.

La fuente también puede ser una planta genéticamente modificada, una semilla oleaginosa genéticamente modificada y un microorganismo genéticamente modificado, en donde la modificación genética preferiblemente comprende la introducción de genes de policétido sintasa.

25 La fuente también puede ser un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en Thraustochytriales, dinoflagelados, y *Mortierella*. Los Thraustochytriales pueden incluir *Schizochytrium* y *Thraustochytrium*. Los dinoflagelados pueden ser del género *Cryptothecodinium*.

La fuente animal puede ser un animal acuático.

30 El material de núcleo comprende un ácido graso poliinsaturado seleccionado del grupo que consiste en ácido docosahexaenoico (DHA), ácido docosapentaenoico (DPA), ácido araquidónico (ARA), ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido estearidónico (SDA), ácido linoléico (LA), ácido alfa-linoleico (ALA), ácido gamma linoléico (GLA), ácido linoléico conjugado (CLA) y mezclas de los mismos.

35 En algunas realizaciones de los productos, el material de encapsulación se prepara por un método que se selecciona del grupo que consiste en secado en lecho fluido, secado en tambor (película), coacervación, polimerización interfacial, procesamiento en lecho fluido, recubrimiento en paila, gelificación por pulverización, mezcla horizontal en cinta helicoidal, disco de centrifugación, coextrusión centrífuga, complejación de inclusión, estabilización de emulsión, recubrimiento por pulverización, extrusión, nanoencapsulación en liposomas, microencapsulación en fluido supercrítico, polimerización en suspensión, procedimiento de deshidratación en frío, y procedimientos de dispersión por evaporación.

40 En algunas realizaciones, se pueden formar un segundo y adicionales materiales de encapsulación sobre el producto encapsulado. En algunas realizaciones, el segundo material de encapsulación es un recubrimiento de granulación y se puede aplicar por granulación.

En algunas realizaciones de los productos, el producto es insoluble en agua, físicamente estable durante al menos aproximadamente 30 días, y/o oxidativamente estable durante al menos aproximadamente 30 días.

45 En algunas realizaciones de los productos, el producto tiene un tamaño de partículas de entre aproximadamente 10 µm y aproximadamente 3000 µm.

En algunas realizaciones de los productos, el producto comprende material de núcleo en una cantidad entre aproximadamente 1 por ciento en peso y aproximadamente 50 por ciento en peso.

En algunas realizaciones de los productos, el producto está en una forma seleccionada del grupo que consiste en un

polvo fluido, una perla, un chip y una escama.

El alimento puede ser un alimento líquido y/o un alimento sólido. Los alimentos líquidos incluyen bebidas, bebidas energéticas, fórmulas infantiles, comidas líquidas, zumos de frutas, huevos líquidos, leche, productos lácteos, y jarabes multivitamínicos.

- 5 Los alimentos incluyen alimentos infantiles, yogurt, queso, cereales, mezclas en polvo, productos horneados, barras de comida y carnes procesadas.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra un esquema de un procedimiento descrito en el ejemplo 3.

- 10 La figura 2 muestra la distribución del tamaño de partículas (volumen frente a log de tamaño de partículas) después del primer y segundo paso de homogeneización para la emulsión nº 2 que también es representativo para la emulsión 1 y 3. (◆ = emulsión nº 2, primer paso; ▲ = emulsión nº 2, segundo paso).

- 15 La figura 3 muestra la distribución del tamaño de partículas (volumen frente a log de tamaño de partículas) de polvos secados por pulverización. También se muestra el polvo secado por pulverización recogido después de ciclón para el polvo 1. (■ = Polvo 1, recogido del punto de recolección principal de la secadora; ▲ = Polvo 1, recogido del ciclón; ◆ = Polvo 3, recogido del punto de recolección principal del secador; O = Polvo 3, recogido del punto de recolección principal del secador)

Descripción detallada de la invención

- 20 La presente invención proporciona composiciones de encapsulación y métodos relacionados para su preparación, así como su uso para hacer composiciones encapsuladas que contienen materiales de núcleo. Las composiciones de encapsulación de la presente invención tienen excelentes propiedades formadoras de película para la encapsulación eficaz. Los productos encapsulados resultantes incluyen productos en polvo altamente estables con altas capacidades de carga (es decir, la relación de producto a la composición total de producto más material de encapsulación). Como se usa en la presente memoria, el término "un" o "una" se refiere a uno o más de esa entidad, por ejemplo, un PUFA se refiere a uno o más PUFA o al menos un PUFA. Como tal, los términos "un" (o "una"), "uno o más" y "al menos uno" se pueden usar de forma intercambiable en la presente memoria. También hay que indicar que los términos "comprender", "incluir" y "tener" se pueden usar de forma intercambiable.

- 30 En una primera realización, la invención proporciona un método para preparar una composición de encapsulación haciendo reaccionar una solución que contiene proteína y azúcar reductor y que tiene un pH inicial de al menos aproximadamente 10. Como se usa en la presente memoria, hacer reaccionar se refiere a añadir o mezclar dos o más reactivos en condiciones adecuadas para producir el producto indicado y/o deseado. Debe apreciarse que la reacción que produce el producto indicado y/o deseado puede no resultar necesariamente directamente de la combinación de los dos reactivos que se añadieron inicialmente, es decir, que puede haber uno o más productos intermedios que se producen en la mezcla que finalmente conducen a la formación del producto indicado y/o deseado. La solución se hace reaccionar para lograr un grado de hidrólisis de proteína de entre aproximadamente 1% y aproximadamente 15%. El grado de hidrólisis se puede determinar de varias formas, incluyendo análisis de pesos moleculares de los fragmentos hidrolizados o la distribución de los mismos, p. ej., por cromatografía por exclusión de tamaños; determinación de la viscosidad de la preparación; determinación de la dispersibilidad de la preparación; determinación de la cantidad de grupos finales de proteína; o cualquier combinación de estas y otras técnicas adecuadas. En general, no es necesario medir realmente el grado de hidrólisis, puesto que la reacción de hidrólisis es autolimitante. Como se explica con detalle en otra parte en la presente memoria, la reacción de hidrólisis empieza a un pH inicial alto y al avanzar la reacción el pH disminuye y se aproxima a neutro, momento en el que la reacción se detiene.

- 45 Las proteínas que se pueden usar para producir la composición de encapsulación o el producto encapsulado incluyen sólidos de lactosuero, aislado de proteínas de lactosuero, proteína de soja. En algunas realizaciones, la proteína puede ser una proteína hidrolizada por enzima. Una proteína hidrolizada por enzima se puede preparar por métodos conocidos para los expertos en la técnica o se puede obtener de una fuente comercial. Merece la pena señalar que una proteína hidrolizada por enzima se somete a hidrólisis adicional como se describe en la presente memoria (p. ej., a pH de inicio alto durante una etapa de reacción), pero en general no es adecuada como material de encapsulación por sí misma. Sin estar limitado por la teoría, se cree que una composición que resulta de una hidrólisis de proteínas como se describe en la presente memoria, contribuye a las características deseables del producto encapsulado resultante. La hidrólisis de proteínas a pH inicial alto da como resultado productos de hidrólisis que tienen una distribución uniforme de longitudes de productos de hidrólisis, puesto que los sitios de hidrólisis son más o menos aleatorios. Como se usa en la presente memoria, los productos de hidrólisis de proteínas con una distribución relativamente uniforme de longitudes de proteínas se refiere a productos de hidrólisis de proteínas que se producen por hidrólisis de una proteína o péptido de una forma aleatoria. En cambio, las proteínas hidrolizadas por enzima no son hidrolizadas aleatoriamente y no producen una distribución uniforme de longitudes

de productos de hidrólisis. Una composición que tiene una distribución uniforme de longitudes de productos de hidrólisis, cuando se analiza por SDS-PAGE, típicamente produce una estela de productos de pesos moleculares de bajos a altos, sin fragmento particular dominante. Las proteínas hidrolizadas por enzima, por otra parte, típicamente muestran varios fragmentos dominantes en SDS-PAGE.

- 5 La distribución uniforme de pesos moleculares de la proteína se puede definir como sigue: la proteína hidrolizada tendrá un intervalo de pesos moleculares. A lo largo de un intervalo de pesos moleculares en una distribución uniforme de productos de hidrólisis, si el intervalo se divide en 10 partes iguales, cada parte representa 5-15% de la muestra o población.

10 En otra realización, la proteína hidrolizada preferiblemente tiene una distribución de pesos moleculares que es esencialmente igual a una distribución de pesos moleculares de aislado de proteína de soja hidrolizada obtenido cuando el aislado de proteína de soja hidrolizada y el hidrato de carbono se hidratan en agua, el pH se ajusta a 10,5-11,0 con NaOH y se calienta a reflujo a 90-95°C durante 60 minutos. En otra realización, la distribución de pesos moleculares es esencialmente igual a una distribución de pesos moleculares de aislado de proteína de soja hidrolizada obtenido cuando la proteína se hidrata a un nivel de 5-15% con hidrato de carbono, el pH se ajusta a 10,5-11,0 con NaOH y se calienta a reflujo a 90-95°C durante 60 minutos. En otra realización, la distribución de pesos moleculares es esencialmente igual a una distribución de pesos moleculares de aislado de proteína de soja hidrolizada obtenido cuando la proteína se hidrata a un nivel de 8-12% con hidrato de carbono, el pH se ajusta a 10,5-11,0 con NaOH y se calienta a reflujo a 90-95°C durante 60 minutos. En otra realización, la distribución de pesos moleculares es esencialmente igual a una distribución de pesos moleculares de aislado de proteína de soja hidrolizada obtenido cuando la proteína se hidrata a un nivel de 10%. La distribución uniforme de los pesos moleculares de la proteína se puede obtener modificando el tiempo y la temperatura de la reacción de forma adecuada. Cuando la temperatura se reduce, el tiempo de reacción aumenta.

25 El azúcar reductor es un azúcar con un grupo funcional cetona o aldehído, que permite que el azúcar actúa como una agente reductor. En diferentes realizaciones, el azúcar reductor puede incluir glucosa y maltosa. Como se usa en la presente memoria, la expresión azúcar reductor también incluye fuentes complejas de azúcares reductores. Por ejemplo, las fuentes complejas adecuadas incluyen jarabe de maíz, sólidos de jarabe de maíz y almidones modificados tales como almidones químicamente modificados y almidones hidrolizados o dextrinas, tales como maltodextrina. Los almidones hidrolizados (dextrinas) se usan en algunas realizaciones. En algunas realizaciones, el azúcar reductor se forma in situ, por ejemplo, un compuesto que no es por sí mismo un azúcar reductor, pero que comprende azúcares reductores. Por ejemplo, el almidón no es un azúcar reductor, pero es un polímero de glucosa, que es un azúcar reductor. La hidrólisis del almidón, por medios químicos o enzimáticos, da glucosa. Esta hidrólisis de almidón, por medios químicos o enzimáticos, da glucosa. Esta hidrólisis puede tener lugar in situ, para proporcionar el azúcar reductor glucosa.

35 La cantidad relativa de azúcares y proteína usados para formar el material de encapsulación de la presente invención puede variar. En realizaciones preferidas, la relación de azúcar: proteína puede estar en el intervalo de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 1:5, de aproximadamente 3:1 a aproximadamente 1:3 y puede ser aproximadamente 1:1. Además, la cantidad total de azúcar y proteína en la solución puede variar y puede estar en el intervalo hasta los límites de solubilidad para un conjunto de condiciones dado.

40 En algunas realizaciones, la proteína y el azúcar reductor están presentes en el mismo material fuente. Por ejemplo, el concentrado de proteínas de lactosuero contiene tanto proteína como azúcar reductor (en forma de lactosa). Los sólidos de leche deshidratada también contienen proteína y azúcar reductor (en forma de lactosa). Una mezcla de hidrolizado de biomasa o células lisadas también puede contener proteínas y azúcares reductores. En algunos casos, los azúcares reductores se proporcionan en el medio de cultivo y no son completamente metabolizados por los microorganismos, y por lo tanto permanecen en la mezcla de hidrolizado de biomasa o células lisadas.

45 Como se usa en la presente memoria, un pH inicial alto es un pH de al menos aproximadamente 10 y puede ser cualquier pH superior a aproximadamente 10. Por ejemplo, se puede usar un pH inicial de aproximadamente 10,1, 10,2, 10,3, 10,4, 10,5, 10,6, 10,7, 10,8, 10,9, etc., en la presente invención. Además, el pH inicial típicamente puede ser por debajo de aproximadamente 12, y en algunas realizaciones a o por debajo de aproximadamente 11.

50 En varias realizaciones, el grado de hidrólisis de proteínas logrado durante la etapa de reacción puede ser entre aproximadamente 2% y aproximadamente 10% o entre aproximadamente 3% y aproximadamente 8%. La hidrólisis de proteínas se produce en el procedimiento de la invención como resultado de las condiciones de pH y temperatura en los procedimientos de la invención y por lo tanto, es hidrólisis no enzimática.

55 En algunas realizaciones, los productos de caramelización se producen durante la etapa de reacción. La caramelización se refiere a la degradación térmica de azúcares que conduce a la formación de compuestos volátiles (que en general producen un aroma de caramelo) y productos de color marrón (que proporcionan un color de caramelo). Como la reacción de Maillard (véase más adelante), la caramelización es un tipo de oscurecimiento no enzimático. La generación de aromas y colores en la caramelización térmicamente inducida requiere que los azúcares, normalmente estructuras de monosacáridos, experimenten primero transposiciones intramoleculares. La

reacción produce la liberación de H⁺ y, por lo tanto, el pH de la disolución que experimenta la caramelización disminuirá al avanzar la reacción. Como se ha indicado antes, la etapa de reacción en las realizaciones de la presente invención tiene lugar a un pH inicial de al menos aproximadamente 10. Sin embargo, a lo largo del transcurso de la reacción de caramelización, el pH disminuirá por debajo de aproximadamente 10. En algunas realizaciones, la reacción de caramelización avanzará hasta completarse. Cuando se complete, el pH de la reacción se acercará a pH neutro y estará en el intervalo de aproximadamente pH 6 a aproximadamente pH 8.

En una realización adicional, el método para preparar una composición de encapsulación o producto encapsulado comprende además producir productos de reacción de Maillard (MRP) durante la etapa de reacción. La reacción de Maillard ocurre cuando reaccionan azúcares reductores y aminoácidos. El azúcar reductor en la reacción puede actuar como un agente reductor en la reacción de Maillard. Esta reacción ocurre en la mayoría de los alimentos al calentarlos. La química de la reacción de Maillard puede afectar de forma conveniente a los sabores y colores de una amplia variedad de alimentos y bebidas. Sin estar limitado por la teoría, se cree que la formación de los MRP en los productos de la invención produce aromas y sabores que son convenientes para la inclusión en alimentos u otros productos que se consumen. Los MRP también pueden tener actividad antioxidante, y sin estar limitados por la teoría, se cree que esta propiedad que imparten los MRP aumentaba la estabilidad y vida en anaquel de los productos de la presente invención. Las reacciones de Maillard son bien conocidas y a partir de la memoria descriptiva detallada de la presente memoria, se pueden determinar la temperatura y el tiempo requeridos para llevar a cabo la reacción en la extensión deseada.

Los MRP se pueden incluir en los métodos y productos de la presente invención en una serie de formas. En el procedimiento de hacer reaccionar una disolución que incluye proteína y azúcar reductor, la temperatura y el tiempo de reacción se pueden ajustar para promover la formación de MRP. En general, la temperatura de dicha reacción puede estar en el intervalo de aproximadamente 20°C a aproximadamente 150°C, siendo preferido de aproximadamente 80°C a aproximadamente 110°C. El tiempo de la reacción puede estar en el intervalo de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente varias horas, dependiendo de la temperatura. Al intervalo de temperatura más alto preferido, el tiempo de reacción es preferiblemente de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 20 minutos.

En una segunda realización, la invención proporciona un método para preparar un producto encapsulado, preparando la composición de encapsulación descrita antes (haciendo reaccionar una solución que contiene proteína y azúcar reductor a un pH inicial de al menos aproximadamente 10 para lograr un grado de hidrólisis de proteínas entre aproximadamente 1% y aproximadamente 15%). La solución que ha reaccionado se combina con una composición que comprende un material de núcleo. Este método incluye además formar un material de encapsulación a partir de la solución que ha reaccionado sobre la composición que comprende el material de núcleo.

El material de núcleo es un compuesto lábil.

El compuesto lábil es un PUFA. El PUFA puede ser ácido docosahexaenoico C22:6(n-3) (DHA), ácido docosapentaenoico omega-3 C22:5(n-3) (DPA), ácido docosapentaenoico omega-6 C22:5(n-6) (DPA), ácido araquidónico C20:4(n-6) (ARA), ácido eicosapentaenoico C20:5(n-3) (EPA), ácido estearidónico, ácido linolénico, ácido alfa-linoleico (ALA), ácido gamma linolénico (GLA), ácido linolénico conjugado (CLA) o mezclas de los mismos. Los PUFA pueden estar en cualquiera de las formas comunes encontradas en lípidos naturales que incluyen, pero no se limitan a triacilgliceroles, diacilgliceroles, monoacilgliceroles, fosfolípidos, ácidos grasos libres o en formas derivadas naturales o sintéticas de estos ácidos grasos (p. ej., sales de calcio de ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, incluyendo ésteres de metilo, ésteres de etilo y similares). La referencia a un aceite u otra composición que comprende un PUFA LC, como se usa en la presente memoria, puede referirse a una composición que comprende un solo PUFA LC tal como el DHA o una composición que comprende una mezcla de PUFA LC tales como DHA y EPA; o DHA y ARA; o DHA, EPA y ARA, etc.

Los PUFA se pueden obtener a partir de o derivar de una planta (incluyendo oleaginosas), un microorganismo, un animal, o mezclas de los anteriores. Los microorganismos pueden ser algas, bacterias, hongos o protistas. Las fuentes microbianas y los métodos de crecimiento de microorganismos que comprenden nutrientes y/o PUFA se conocen en la técnica (Industrial Microbiology and Biotechnology, 2ª edición, 1999, American Society for Microbiology). Por ejemplo, los microorganismos se pueden cultivar en un medio de fermentación en un fermentador. Los PUFA producidos por microorganismos se pueden usar en los métodos y composiciones de la presente invención. En algunas realizaciones, los organismos incluyen los seleccionados del grupo que consiste en algas doradas (tales como microorganismos del reino Stramenopiles), algas verdes, diatomeas, dinoflagelados (tales como microorganismos del orden Dinophyceae que incluye miembros del género *Cryptothecodinium* tales como, por ejemplo, *Cryptothecodinium cohnii*), levaduras, y hongos del género *Mucor* y *Mortierella*, que incluyen, pero no limitados a *Mortierella alpina* y *Mortierella* sect. *schmuckeri*. Los miembros del grupo microbiano Stramenopiles incluyen microalgas y microorganismos de tipo algas, que incluyen los siguientes grupos de microorganismos: Hamatores, Proteromonads, Opalines, Develpayella, Diplophrys, Labrinthulids, Thraustochytrids, Biosecids, Oomycetes, Hypochytridiomycetes, Commation, Reticulosphaera, Pelagomonas, Pelagococcus, Ollicola, Aureococcus, Parmales, Diatoms, Xanthophytes, Phaeophytes (algas marrones), Eustigmatophytes, Raphidophytes,

Synurids, Axodines (que incluyen Rhizochromulinales, Pedinellales, Dictyochales), Chrysomeridales, Sarcinochrysidales, Hydrurales, Hibberdiales, y Chromulinales. Los Thraustochytrids incluyen los géneros *Schizochytrium* (las especies incluyen *aggregatum*, *limnaceum*, *mangrovei*, *minutum*, *octosporum*), *Thraustochytrium* (las especies incluyen *arudimentale*, *aureum*, *benthicola*, *globosum*, *kinnei*, *motivum*, *multirudimentale*, *pachydermum*, *proliferum*, *roseum*, *striatum*), *Ulkenia* (las especies incluyen *amoeboidea*, *kerquelensis*, *minuta*, *profunda*, *radiate*, *sailens*, *sarkariana*, *schizochytrids*, *visurgensis*, *yorkensis*), *Aplanochytrium* (las especies incluyen *haliotidis*, *kerquelensis*, *profunda*, *stocchinoi*), *Japonochytrium* (las especies incluyen *marinum*), *Althornia* (las especies incluyen *crouchii*), y *Elina* (las especies incluyen *marisalba*, *sinoriffica*). Los Labrinthulids incluyen los géneros *Labyrinthula* (las especies incluyen *algeriensis*, *coenocystis*, *chattonii*, *macrocystis*, *macrocystis atlantica*, *macrocystis macrocystis*, *marina*, *minuta*, *roscoffensis*, *valkanovii*, *vitellina*, *vitellina pacifica*, *vitellina vitellina*, *zopfi*), *Labyrinthomyxa* (las especies incluyen *marina*), *Labyrinthuloides* (las especies incluyen *haliotidis*, *yorkensis*), *Diplophrys* (las especies incluyen *archeri*), *Pyrrhosorus** (las especies incluyen *marinus*), *Sorodiplophrys** (las especies incluyen *stercorea*), *Chlamydomyxa** (las especies incluyen *labyrinthuloides*, *montana*). (* = no hay un consenso general de la situación taxonómica exacta de estos géneros).

Los microorganismos adecuados incluyen los que son capaces de producir lípidos que comprenden los materiales de núcleo de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y/o omega-6, y en particular se describirán microorganismos que son capaces de producir DHA, DPA, EPA o ARA). Más en particular, los microorganismos preferidos son algas, tales como Thraustochytrids del orden Thraustochytriales, que incluyen *Thraustochytrium* (que incluye *Ulkenia*) y *Schizochytrium* e incluyendo Thraustochytriales que se describen en las patentes de EE.UU. n° 5.340.594 y 5.340.742, concedidas a varios concesionarios. Más preferiblemente, los microorganismos se seleccionan del grupo que consiste en microorganismos que tienen las características de identificación en ATCC número 20888, ATCC número 20889, ATCC número 20890, ATCC número 20891 y ATCC número 20892. Aunque hay algún desacuerdo entre expertos de si *Ulkenia* es un género separado del género *Thraustochytrium*, para los fines de esta solicitud, el género *Thraustochytrium* incluirá *Ulkenia*. También se prefieren cepas de *Mortierella schmuckeri* (p. ej., incluyendo ATCC 74371) y *Mortierella alpina*. También se prefieren cepas de *Crypthecodinium cohnii*, que incluyen microorganismos que tienen las características identificadoras de ATCC N° 30021, 30334-30348, 30541-30543, 30555-30557, 30571, 30572, 30772-30775, 30812, 40750, 50050-50060, y 50297-50300. También se prefieren microorganismos oleaginosos. Como se usa en la presente memoria, "microorganismos oleaginosos" se definen como microorganismos capaces de acumular más de 20% del peso seco de sus células en forma de lípidos. Los microorganismos genéticamente modificados que producen PUFA también son adecuados para la presente invención. Estos pueden incluir microorganismos productores de PUFA naturales que se han modificado genéticamente, así como microorganismos que no producen PUFA de forma natural, pero que se han modificado genéticamente para que lo hagan.

Los organismos adecuados se pueden obtener a partir de una serie de fuentes disponibles, incluyendo la recolección del entorno natural. Por ejemplo, la American Type Culture Collection indica actualmente muchas cepas disponibles al público de microorganismos identificados antes. Como se usa en la presente memoria, cualquier organismo, o cualquier tipo específico de organismos, incluye cepas de tipo natural, mutantes o tipos recombinantes. Las condiciones de crecimiento en las que cultivar o multiplicar estos organismos son conocidos en la técnica, y se describen condiciones de crecimiento adecuadas para al menos algunos de estos organismos, por ejemplo, en la patente de EE.UU. n° 5.130.242, patente de EE.UU. n° 5.407.957, patente de EE.UU. n° 5.397.591, patente de EE.UU. n° 5.492.938, y patente de EE.UU. n° 5.711.983.

Los aceites microbianos preferidos que son útiles en la presente invención incluyen los que se describen en la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n° 2007-0003686 (titulada "Polyunsaturated Fatty Acid-Containing Oil Product and Uses and Production Thereof,"), Algunos de dichos aceites no están sometidos a congelación. Un aceite microbiano preferido se conoce como Martek DHA™-HM y se produce mediante un procedimiento como se describe en las solicitudes de patente anteriores, que incluye un procedimiento de extracción con propanol y agua que produce un producto con características semisólidas.

Otra fuente de PUFA en las composiciones y métodos de la presente invención incluye una fuente vegetal, tal como plantas oleaginosas. Las plantas productoras de PUFA, en realizaciones alternativas, pueden incluir las modificadas genéticamente para expresar genes que producen PUFA y las que producen PUFA de forma natural. Dichos genes pueden incluir genes que codifican proteínas implicadas en las rutas de síntesis de ácidos grasos clásicas, o genes que codifican proteínas implicadas en la ruta de la PUFA policétido sintasa (PKS). Los genes y proteínas implicados en las rutas de síntesis de ácidos grasos clásicas, y organismos genéticamente modificados, tales como plantas transformadas con dichos genes, se describen, por ejemplo, en Napier y Sayanova, *Proceedings of the Nutrition Society* (2005), 64:387-393; Robert et al., *Functional Plant Biology* (2005) 32:473-479; o publicación de solicitud de patente de EE.UU. n° 2004/0172682. La ruta de PUFA PKS, los genes y proteínas incluidos en estas rutas, microorganismos genéticamente modificados y plantas transformadas con dichos genes para la expresión y producción de PUFA, se describen en detalle en: patente de EE.UU. n° 6.140.486, patente de EE.UU. n° 6.566.583; patente de EE.UU. n° 7.247.461, patente de EE.UU. n° 7.211.418, patente de EE.UU. n° 7.217.856, patente de EE.UU. n° 7.271.315, publicación PCT n° WO 05/097982, y patente de EE.UU. n° 7.208.590.

Los cultivos de oleaginosas adecuados para usar en la presente invención incluyen soja, maíz, cártamo, girasol, canola, lino, cacahuete, mostaza, colza, garbanzo, algodón, lenteja, trébol blanco, oliva, palma, borraja, onagra, linaza y tabaco, que se han modificado genéticamente para producir PUFA como se ha descrito antes.

5 Las técnicas de transformación genética para microorganismos y plantas son bien conocidas en la técnica. Las técnicas de transformación para microorganismos son bien conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Sambrook et al., 1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Labs Press. Se describe con detalle una técnica general para la transformación de dinoflagelados, que se pueden adaptar para usar con *Cryptothecodinium cohnii*, en Lohuis and Miller, *The Plant Journal* (1998) 13(3): 427-435. Se describe con detalle una técnica general para la transformación genética de Thraustochytrids en la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n° 20030166207, publicada el 4 de septiembre, 2003. Los métodos para la modificación genética de plantas son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, se han desarrollado numerosos métodos para la transformación de plantas, incluyendo protocolos de transformación biológica y física. Véase, por ejemplo, Miki et al., "Procedures for Introducing Foreign DNA into Plants" en *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, Glick, B.R. y Thompson, J.E. Eds. (CRC Press, Inc., Boca Raton, 1993) pág. 67-88. Además, están disponibles vectores y métodos de cultivo in vivo para transformación de tejidos o células vegetales y regeneración de plantas. Véase, por ejemplo, Gruber et al., "Vectors for Plant Transformation" en *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, Glick, B.R. y Thompson, J.E. Eds. (CRC Press, Inc., Boca Raton, 1993) pág. 89-119. Véase también, Horsch et al., *Science* 227:1229 (1985); Kado, C.I., *Crit. Rev. Plant. Sci.* 10:1 (1991); Moloney et al., *Plant Cell Reports* 8:238 (1989); patente de EE.UU. n° 4.940.838; patente de EE.UU. n° 5.464.763; Sanford et al., *Part. Sci. Technol.* 5:27 (1987); Sanford, J.C., *Trends Biotech.* 6:299 (1988); Sanford, J.C., *Physiol. Plant* 79:206 (1990); Klein et al., *Biotechnology* 10:268 (1992); Zhang et al., *Bio/Technology* 9:996 (1991); Deshayes et al., *EMBO J.*, 4:2731 (1985); Christou et al., *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 84:3962 (1987); Hain et al., *Mol. Gen. Genet.* 199:161 (1985); Draper et al., *Plant Cell Physiol.* 23:451 (1982); Donn et al., En Abstracts of VIIIth International Congress on Plant Cell and Tissue Culture IAPTC, A2-38, p. 53 (1990); D'Halluin et al., *Plant Cell* 4:1495-1505 (1992) y Spencer et al., *Plant Mol. Biol.* 24:51-61 (1994).

30 Cuando las plantas oleaginosas son la fuente de PUFA, las semillas se pueden recoger y procesar para separar cualquier impureza, desecho o partes indigeribles de las semillas recogidas. Las etapas de procesamiento varían dependiendo del tipo de oleaginosa y son conocidas en la técnica. Las etapas de procesamiento pueden incluir trillado (tal como, por ejemplo, cuando las semillas de soja se separan de las vainas), descascarado (separar la cubierta exterior seca o cáscara de un fruto, semilla o nuez), secado, limpieza, trituración, molienda y descascarillado. Después de que las semillas se han procesado para eliminar cualquier impureza, desecho o material indigerible, se pueden añadir a una disolución acuosa y después mezclar para producir una suspensión. En algunas realizaciones, la molienda, trituración o descascarillado se llevan a cabo antes de mezclar con agua. Una suspensión producida de esta forma se puede tratar y procesar de la misma forma descrita para un caldo de fermentación microbiano.

35 Otra fuente de biomasa de nutrientes, que incluyen PUFA, en las composiciones y métodos de la presente invención incluyen una fuente animal. Los ejemplos de fuentes animales incluyen animales acuáticos (p. ej., peces, mamíferos marinos y crustáceos tales como krill y otros eufáusidos) y tejidos animales (p. ej., cerebro, hígado, ojos, etc.) y productos animales tales como huevos o leche. Se conocen técnicas para recuperar aceites que contienen PUFA de dichas fuentes.

40 En el caso de una célula entera, biomasa o semillas oleaginosas, se reconocerá que estos pueden incluir un PUFA, una vitamina y otro compuesto beneficioso. Las células enteras y semillas oleaginosas incluyen las descritas antes como fuentes de PUFA. Como se usa en la presente memoria, la biomasa se puede referir a múltiples células enteras que, en agregado constituyen una biomasa. Una masa microbiana puede referirse a una biomasa que no se ha separado del medio de cultivo en el que se cultivó el organismo de biomasa. Un ejemplo de un medio de cultivo es un caldo de fermentación. En una realización adicional, la biomasa se separa de su medio de cultivo por una separación de sólido/líquido anterior al tratamiento por métodos de la presente invención. Las técnicas de separación de sólido/líquido típicas incluyen centrifugación, filtración y prensado con filtro de membrana (placa y marco de filtro prensa con membranas de prensado). Esta biomasa (recogida) normalmente tiene un contenido de materia seca que varía entre 5% y 60%. Si el contenido de agua es demasiado alto, se puede eliminar agua de la biomasa por cualquier método conocido en la técnica, tal como, por ejemplo, secado por atomización, secado en lecho fluidizado, liofilización, congelación-secado, secado en bandejas, secado en bandejas con vacío, secado en tambor, secado por disolvente, secado por excipiente, secado en mezclador/reactor de vacío, secado usando secado por atomización en lecho, secado por atomización fluidizado, secado en transportador, ultrafiltración, evaporación, deshidratación osmótica, congelación, extrusión, adición de absorbente, u otros métodos similares o combinaciones de los mismos. Las técnicas de secado a las que se hace referencia en la presente memoria son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, el secado por excipiente se refiere a un procedimiento donde un disolvente miscible con agua, se usa para sustituir el agua. La biomasa opcionalmente se puede lavar con el fin de reducir los componentes extracelulares. El caldo de fermentación se puede secar y después reconstituir hasta un contenido de humedad de cualquier nivel deseado antes de tratamiento por cualquiera de los métodos de la presente invención.

Los materiales de núcleo de células enteras, biomasa o semillas oleaginosas se pueden encapsular usando los métodos de la presente invención, siempre que las células enteras, biomasa o semillas oleaginosas sean procesadas en una forma que es físicamente adecuada para la encapsulación. Típicamente, esto requiere el procesamiento de las células enteras o biomasa, de modo que el tamaño medio de partículas sea submicrométrico, y preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 0,1 μm a aproximadamente 0,5 μm . Los métodos de procesamiento para semillas oleaginosas se describen en otra parte en la presente memoria. Además, se pueden aplicar enzimas hidrolizadoras a la biomasa seca para formar un hidrolizado de biomasa.

En una realización adicional, la composición encapsulada comprende un hidrolizado de biomasa emulsionado. Dichas composiciones y métodos para hacer estas, se describen en detalle en la solicitud de patente provisional de EE.UU. n° de serie 60/680.740, presentada el 12 de mayo, 2005; solicitud de patente provisional de EE.UU. n° de serie 60/781.430, presentada el 10 de marzo, 2006; y solicitud de patente de EE.UU. n° de serie 11/433.752, presentada el 12 de mayo, 2006. Brevemente, se obtiene un hidrolizado de biomasa emulsionado por hidrólisis de una biomasa que contiene nutrientes para producir una biomasa hidrolizada, y emulsión de la biomasa hidrolizada para formar un producto estable. El producto estable típicamente es una emulsión o una composición seca que resulta del posterior secado de la emulsión.

La etapa de formación de un material de encapsulación a partir de la solución que ha reaccionado sobre la composición que comprende el material de núcleo, se puede hacer por cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, la solución que ha reaccionado y la composición que comprende un material de núcleo se pueden secar por atomización. Se conocen otros métodos de encapsulación, tales como secado en lecho fluido, secado en tambor (película), coacervación, polimerización interfacial, procesamiento en lecho fluido, recubrimiento en paila, gelificación por pulverización, mezcla horizontal en cinta helicoidal, disco de centrifugación, coextrusión centrífuga, complejación de inclusión, estabilización de emulsión, recubrimiento por pulverización, extrusión, nanoencapsulación en liposomas, microencapsulación en fluido supercrítico, polimerización en suspensión, procedimientos de deshidratación en frío, procedimientos de dispersión por evaporación, y métodos que aprovechan la solubilidad diferencial de recubrimientos a diferentes temperaturas.

Sin querer estar limitado por ninguna teoría, se cree que el material de encapsulación protege la composición que comprende el material de núcleo para reducir la probabilidad de o el grado con el que el material de núcleo experimenta un cambio químico, físico o biológico o se rompe. El material de encapsulación puede formar un recubrimiento continuo sobre la composición que comprende el material de núcleo (encapsulación 100%) o alternativamente, forma un recubrimiento no continuo (p. ej., a un nivel que proporciona cubrimiento sustancial del material del núcleo, por ejemplo, cubrimiento del 80%, 90%, 95%, o 99% de la superficie específica). En otras realizaciones, el material de encapsulación puede ser una matriz en la que está atrapado el material de núcleo.

Se resumen a continuación algunas técnicas de encapsulación de ejemplo. Debe reconocerse que la referencia a diferentes técnicas resumidas a continuación incluye la descripción de la presente memoria y variaciones de las descripciones conocidas por los expertos en la técnica. También están contempladas otras técnicas de encapsulación en la presente invención.

En general, para la microencapsulación de un producto de aceite, tal como un aceite que contiene PUFA descrito en la presente memoria, es importante formar una emulsión del aceite por combinación con la fase acuosa que contienen los materiales de núcleo. En general se desea una emulsión que contiene pequeñas gotas de aceite de aproximadamente 200 nm de diámetro, denominada emulsión final, para el fin de la microencapsulación. Se puede preparar una emulsión gruesa de aceite en una fase acuosa, caracterizada por pequeñas gotas de aceite de tamaño de aproximadamente 1000 nm de diámetro como etapa intermedia para preparar una emulsión fina. Una emulsión gruesa se puede preparar por métodos conocidos, que incluyen tratamiento con ultrasonidos y mezclado con alta cizalladura. Una vez formada una emulsión adecuada, un experto en la materia puede determinar los métodos de microencapsulación adecuados basados en las características de emulsión tales como el contenido de sólidos.

En el secado por atomización, el material de núcleo que se va a encapsular se dispersa o disuelve en una solución que incluye un material de cubierta. En aplicación de alimentos, típicamente la solución es acuosa y la solución incluye un polímero u otro material de cubierta. Una vez que se ha formado una emulsión estable, la solución o dispersión se bombea a través de un inyector de micronización dirigido por un flujo de gas comprimido, y el aerosol resultante se suspende en un ciclón de aire calentado. La temperatura de entrada a menudo es tan alta como es posible sin causar daño a los ingredientes y otros efectos indeseables. En estas condiciones, la suspensión atomizada forma micelas. El pequeño tamaño de las gotas (en promedio 100 micrómetros de diámetro) da una superficie específica relativamente grande que seca rápidamente. Al secarse el agua, el vehículo forma una cubierta endurecida alrededor del material de núcleo. Las micropartículas solidificadas, deshidratadas, pasan a una segunda cámara y son atrapadas en un matraz de recolección.

Se usa la policondensación interfacial para encapsular un material de núcleo de la siguiente forma. Se disuelven un monómero y el material de núcleo en un disolvente. Se disuelve un segundo monómero en un segundo disolvente (típicamente acuoso) que es inmiscible con el primero. Se forma una emulsión suspendiendo la primera solución en la segunda solución mediante agitación. Una vez que la emulsión se estabiliza, se añade un iniciador a la fase

acuosa produciendo la polimerización interfacial en la interfase de cada pequeña gota de emulsión.

En la encapsulación por fusión en caliente el material de núcleo se añade al polímero fundido. Esta mezcla se suspende como pequeñas gotas fundidas en un no disolvente para el polímero (a menudo basado en aceite) que se ha calentado a aproximadamente 10°C por encima del punto de fusión del polímero. La emulsión se mantiene mediante agitación enérgica, mientras que el baño de no disolvente se enfría rápidamente por debajo de la temperatura de transición vítrea del polímero, haciendo que las pequeñas gotas fundidas solidifiquen y atrapen el material de núcleo.

En la encapsulación por evaporación de disolvente, un polímero típicamente se disuelve en un disolvente orgánico inmiscible con el agua y el material que se va a encapsular se añade a la solución del polímero como una suspensión o solución en disolvente orgánico. Se forma una emulsión añadiendo esta suspensión o solución a un recipiente de agua agitada enérgicamente (que a menudo contiene un agente tensioactivo para estabilizar la emulsión). El disolvente orgánico se evapora mientras se continúa agitando. La evaporación produce la precipitación del polímero, formando microcápsulas de sólido que contienen el material de núcleo.

El procedimiento de evaporación del disolvente está diseñado para atrapar un material de núcleo líquido en polímero, copolímero o microcápsulas de copolímero. El polímero o copolímero se disuelve en una mezcla miscible de disolvente y no disolvente, a una concentración del no disolvente que es intermedia entre la concentración que produciría separación de fase (es decir, punto de turbidez). El material de núcleo líquido se añade a la solución mientras se agita para formar una emulsión y se dispersa el material como pequeñas gotas. El disolvente y no disolvente se vaporiza, vaporizándose el disolvente a una velocidad más rápida, haciendo que el polímero o copolímero se separe de la fase y migre hacia la superficie de las pequeñas gotas del material de núcleo. Esta solución de fases separadas después se transfiere a un volumen agitado de no disolvente, haciendo que cualquier polímero o copolímero disuelto que quede precipite y extrayendo cualquier disolvente residual de la membrana formada. El resultado es una microcápsula compuesta de polímero o cubierta de copolímero con un núcleo de material líquido.

En la encapsulación por separación de disolvente, típicamente un polímero se disuelve en un disolvente orgánico miscible con aceite y el material que se va a encapsular se añade a la solución de polímero en forma de una suspensión o solución en un disolvente orgánico. Se forma una emulsión añadiendo esta suspensión o solución a un recipiente de aceite enérgicamente agitado, en el que el aceite es un no disolvente para el polímero y la solución de polímero/disolvente es inmiscible en el aceite. El disolvente orgánico se separa por difusión en la fase de aceite mientras se continúa agitando. La separación del disolvente produce la precipitación del polímero, formando microcápsulas sólidas que contienen material de núcleo.

En la encapsulación por separación de fase, el material que se va a encapsular se dispersa en una solución de polímero mediante agitación. Mientras se continúa suspendiendo uniformemente el material mediante agitación, se añade lentamente el no disolvente para el polímero, a la disolución para disminuir la solubilidad del polímero. Dependiendo de la solubilidad del polímero en el disolvente y el no disolvente, el polímero o bien precipita o se separan las fases en una fase rica en polímero y una fase pobre en polímero. En condiciones adecuadas, el polímero en la fase rica en polímero migrará a la interfase con la fase continua, encapsulando el material de núcleo en una pequeña gota con una cubierta de polímero exterior.

La emulsión espontánea implica solidificar las pequeñas gotas de polímero líquido emulsionado cambiando la temperatura, evaporando el disolvente o añadiendo agentes químicos de reticulación. Las propiedades físicas y químicas del material de encapsulación y el material que se va a encapsular, dictan los métodos de encapsulación adecuados. Factores tales como la hidrofobicidad, peso molecular, estabilidad química y estabilidad térmica afectan a la encapsulación.

La coacervación es un procedimiento que implica la separación de disoluciones coloidales en dos o más capas líquidas inmiscibles (Dowben, R. General Physiology, Harper & Row, New York, 1969, pág. 142-143). Mediante el procedimiento de coacervación, se pueden producir composiciones compuestas de dos o más fases y conocidas como coacervados. Los ingredientes que comprende el sistema coacervado de dos fases están presentes en ambas fases; sin embargo, la fase rica en coloide tiene una mayor concentración de los componentes que la fase pobre en coloide.

Se ha descrito la formación de microesferas a baja temperatura, véase, p. ej., la patente de EE.UU. nº 5.019.400. El método es un procedimiento para preparar microesferas que implica el uso de temperaturas muy bajas para congelar mezclas de polímero-agente biológicamente activo en microesferas polímeras. El polímero en general se disuelve en un disolvente junto con un agente activo que puede estar disuelto en el disolvente o disperso en el disolvente en forma de micropartículas. La mezcla de polímero/agente activo se atomiza en un recipiente que contiene un no disolvente, solo o congelado y se recubre con un gas licuado, a una temperatura inferior al punto de congelación de la solución de polímero/agente activo. El gas licuado frío o líquido congela inmediatamente las pequeñas gotas de polímero. Cuando las pequeñas gotas y el no disolvente para el polímero se calientan, el disolvente en las pequeñas gotas se descongela y es extraído en el no disolvente, produciendo en endurecimiento

de las microesferas.

La encapsulación por separación de fase en general procede más rápidamente que los procedimientos descritos en los párrafos precedentes. Se disuelve un polímero en el disolvente. Después, un agente que se va a encapsular se disuelve o dispersa en ese disolvente. Después la mezcla se combina con un exceso de no disolvente y se emulsiona y estabiliza, de modo que el disolvente de polímero ya no es la fase continua. Se aplican condiciones de emulsión agresivas con el fin de producir microgotas del disolvente de polímero. Después de emulsión, la emulsión estable se introduce en un volumen grande de no disolvente para extraer el disolvente de polímero y formar micropartículas. El tamaño de las micropartículas se determina por el tamaño de las microgotas del disolvente de polímero.

- 5
- 10 Otro método de encapsulación es por nanoencapsulación por inversión de fase (PIN). En la PIN, un polímero se disuelve en una cantidad eficaz de un disolvente. El agente que se va a encapsular se disuelve o dispersa también en la cantidad eficaz del disolvente. El polímero, el agente y el disolvente juntos forman una mezcla que tiene una fase continua, en donde el disolvente es la fase continua. La mezcla se introduce en una cantidad eficaz de un no disolvente para producir la formación espontánea del producto microencapsulado, en donde el disolvente y el no disolvente son miscibles.
- 15

En la preparación de un material de encapsulación de una composición que comprende un material de núcleo, las condiciones las puede controlar el experto en la técnica para dar el material encapsulado con las características deseadas. Por ejemplo, el experto en la técnica puede variar el tamaño medio de partículas, la hidrofobicidad, biocompatibilidad, relación de material de núcleo a material de encapsulación, estabilidad térmica, y similares.

- 20 En algunas realizaciones, este método incluye además manipular el material de núcleo en condiciones que reducen la degradación oxidativa antes de la encapsulación. Dicha manipulación puede incluir, por ejemplo, mantener el producto en una atmósfera inerte, la adición de antioxidantes al material de núcleo, etc.

- Materiales de encapsulación adicionales, por ejemplo, un segundo material de encapsulación, un tercer material de encapsulación, un cuarto material de encapsulación, un quinto material de encapsulación, etc., también están contemplados en la presente invención. Los materiales de encapsulación adicionales se pueden aplicar por métodos descritos en la presente memoria, y pueden proporcionar propiedades deseables adicionales a los productos. Por ejemplo, los materiales de encapsulación adicionales pueden potenciar además la vida en anaquel de los productos, o modificar las propiedades de liberación del producto para proporcionar la liberación controlada o liberación retrasada del material de núcleo. Sin pretender estar limitados por la teoría, un segundo (o más) material de encapsulación se cree que protege más la composición que comprende el material de núcleo para reducir la probabilidad o el grado con el que experimenta un cambio químico, físico o biológico o se rompe. El segundo material de encapsulación puede formar un recubrimiento continuo sobre el material de encapsulación (encapsulación de 100%) o alternativamente, forma un recubrimiento no continuo (p. ej., a un nivel que proporciona el cubrimiento sustancial del material de encapsulación, por ejemplo cubre 80%, 90%, 95% o 99% de la superficie específica del material de encapsulación). En otras realizaciones, el segundo material de encapsulación puede ser una matriz en la que está atrapado el material de encapsulación.
- 25
- 30
- 35

- El segundo material de encapsulación se puede aplicar por cualquier método conocido en la técnica, tal como secado por atomización, secado en lecho fluido, secado en tambor (película), coacervación, polimerización interfacial, procesamiento en lecho fluido, recubrimiento en paila, gelificación por pulverización, mezcla horizontal en cinta helicoidal, disco de centrifugación, coextrusión centrífuga, complejación de inclusión, estabilización de emulsión, recubrimiento por pulverización, extrusión, nanoencapsulación en liposomas, microencapsulación en fluido supercrítico, polimerización en suspensión, procedimiento de deshidratación en frío, enfriamiento/refrigeración por atomización (granulación), procedimientos de dispersión por evaporación, y métodos que aprovechan la solubilidad diferencial de recubrimientos a diferentes temperaturas. Aunque un segundo material de encapsulación puede encapsular una sola partícula discreta (es decir, una partícula que es un material de encapsulación de una composición que comprende un material de núcleo), un segundo material de encapsulación puede encapsular alternativamente una pluralidad de partículas discretas dentro de una segunda partícula encapsulada sola. Es decir, la presente invención contempla un producto encapsulado de múltiples núcleos que comprende una colección de productos encapsulados primarios, comprendiendo cada producto encapsulado primario un material de núcleo y un primer material de encapsulación sobre el material de núcleo; y un segundo material de encapsulación que rodea la colección.
- 40
- 45
- 50

- En realizaciones preferidas, el segundo material de encapsulación del material de encapsulación es un recubrimiento de granulado. El granulado es un procedimiento de encapsulación de compuestos en una matriz fundida a alta temperatura, en donde el material granulado pasa de sólido a líquido por encima de temperatura ambiente. Los materiales y métodos preferidos para la granulación se describen en la publicación de solicitud de patente internacional n° WO 2007/150047, titulada "Encapsulated Labile Compound Compositions And Methods Of Making The Same".
- 55

En una tercera realización, la presente invención proporciona productos que se pueden obtener por los métodos de

la invención. En una realización, la invención proporciona un producto encapsulado que incluye una composición que comprende un material de núcleo; y un material de encapsulación sobre la composición. El material de encapsulación se forma a partir de proteína hidrolizada que tiene un grado de hidrólisis de proteínas entre aproximadamente 1% y aproximadamente 15% y a partir de productos de caramelización. Dicho producto se puede preparar haciendo reaccionar una disolución que comprende proteína y azúcar reductor a un pH inicial de al menos aproximadamente 10 para lograr un grado de hidrólisis de proteínas entre aproximadamente 1% y aproximadamente 15%, como se reivindica.

Los productos de la presente invención se pueden caracterizar en general por parámetros tales como tamaño y distribución de partículas, geometría de partículas, contenido activo y distribución, mecanismo de liberación y estabilidad en el almacenamiento. En algunas realizaciones en las que el producto está en forma de un polvo, el producto tiene un tamaño de partículas de entre aproximadamente 10 μm y aproximadamente 3000 μm , y en otra realización entre aproximadamente 40 μm y 300 μm . La mayoría de las técnicas de medición de tamaños de partículas suponen que el material que se está midiendo es esférico. Para partículas de formas irregulares, la aproximación a la esfera equivalente es útil en cuanto que simplifica el modo en que se representan las distribuciones de tamaños de partículas, pero diferentes técnicas de medición de tamaños de partículas pueden producir resultados diferentes. En el caso de partículas no esféricas, el tamaño de partículas se puede dar como, por ejemplo, el tamaño de una esfera de la misma longitud máxima, el tamaño de una esfera de la misma longitud mínima, el tamaño de una esfera del mismo peso, el tamaño de una esfera del mismo volumen, el tamaño de una esfera de la misma superficie específica, el tamaño de una esfera que pasa por el mismo aparato de tamiz, y el tamaño de una esfera con la misma velocidad de sedimentación. Los productos de la presente invención son solubles en agua; sin embargo, se pueden hacer insolubles en agua por la adición de un segundo material de encapsulación tal como un recubrimiento por granulación.

Los productos de la invención en general son físicamente estables. En algunas realizaciones, el producto es físicamente estable durante al menos aproximadamente 30 días, al menos aproximadamente 60 días, al menos aproximadamente 90 días, al menos aproximadamente 120 días, al menos aproximadamente 1 año, al menos aproximadamente 3 años, o al menos aproximadamente 5 años. La estabilidad física se refiere a la capacidad de un producto para mantener su aspecto físico a lo largo del tiempo. Por ejemplo, la estructura de un producto con el material de encapsulación de la composición, se mantiene sustancialmente, por ejemplo, sin migración de la composición a través del material de encapsulación.

En algunas realizaciones, los productos de la invención son oxidativamente estables. Como se usa en la presente memoria, la estabilidad oxidativa se refiere a la falta de oxidación significativa en el material de núcleo a lo largo de un periodo de tiempo. La estabilidad oxidativa de las grasas y aceites la puede determinar el experto en la técnica. Por ejemplo, los valores de peróxido indican la cantidad de peróxidos presentes en la grasa y en general se expresan en miliequivalentes de oxígeno por kg de grasa o aceite. Además, los valores de anisidina miden componentes carbonilo (aldehídos y cetonas) que se forman durante el deterioro de los aceites. Los valores de anisidina se pueden determinar como se describe en "IUPAC, Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives", 6ª Ed. (1979), Pergamon Press, Oxford, Método 2.504, página 143. Los productos de la invención, en algunas realizaciones, tienen un valor de peróxido menor de aproximadamente 2, o menor de aproximadamente 1. En otras realizaciones, los productos de la invención tienen un valor de anisidina menor de aproximadamente 1. En algunas realizaciones, el producto es oxidativamente estable durante al menos aproximadamente 30 días, al menos aproximadamente 60 días, al menos aproximadamente 90 días, al menos aproximadamente 120 días, al menos aproximadamente 1 año, al menos aproximadamente 3 años, o al menos aproximadamente 5 años.

En otras realizaciones de la invención, los productos tienen aromas o sabores deseados. En algunas realizaciones, un aroma o sabor deseado se debe a la presencia de productos de la reacción de Maillard. En otras realizaciones, se imparte al producto un aroma o sabor deseable, o falta de un aroma o sabor indeseable, por la estabilidad física y oxidativa del producto. La presencia de aromas y sabores deseables la puede evaluar el experto en la técnica. Por ejemplo, las características de olor en la habitación de aceites de cocina se pueden caracterizar de forma reproducible mediante paneles de prueba entrenados en las pruebas de olor en habitación (Mounts, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56:659-663, 1979). Una prueba normalizada para la evaluación sensorial de aceites vegetales comestibles se presenta en "AOCS' Recommended Practice Cg 2-83 for the Flavor Evaluation of Vegetable Oils" (Methods and Standard Practices of the AOCS, 4ª Edición (1989)). La técnica abarca la preparación y presentación de muestras convencionales, así como de patrones de referencias y el método para puntuar los aceites. Se puede pedir a los integrantes del panel que clasifiquen los productos en una escala hedónica. Dicha escala puede ser una escala de 1-10 usada para el olor y sabor general en la que 10 se asigna a "insípido completo" y 1 a "detestable fuerte". La puntuación más alta indica mejor producto en términos de aroma y sabor. En algunas realizaciones, los productos de la presente invención tendrán una puntuación de al menos aproximadamente 5, al menos aproximadamente 6, al menos aproximadamente 7, al menos aproximadamente 8, al menos aproximadamente 9 o aproximadamente 10 en dicha prueba. Dichas evaluaciones se pueden llevar a cabo en diferentes marcos de tiempo, tal como tras la producción del producto, al menos aproximadamente 60 días después de la producción, al menos aproximadamente 90 días después de la producción, al menos aproximadamente 120 días después de la producción, al menos aproximadamente 1 año después de la producción, al menos aproximadamente 3 años

después de la producción, o al menos aproximadamente 5 años después de la producción.

Otra escala para evaluar las propiedades sensoriales es la escala Spectrum para la intensidad, una escala sensorial para aromas y sabores desarrollada por Sensory Spectra. Meilgaard, et al. (1999), SENSORY EVALUATION TECHNIQUES, 3ª ed., CRC Press, Florida; Apéndice 11.2., y descrito con más detalle en los ejemplos.

- 5 La cantidad de material de núcleo en los productos de la invención variará dependiendo del tipo de compuestos, los materiales de encapsulación usados y los métodos usados para formar el producto. En algunas realizaciones, el producto comprende material de núcleo en una cantidad de al menos aproximadamente 1 a 20 por ciento en peso, en incrementos de 1% hasta de aproximadamente 40 a 80 por ciento en peso, en incrementos de 1%, por ejemplo, entre aproximadamente 1 por ciento en peso y aproximadamente 80 por ciento en peso, entre aproximadamente 5 por ciento en peso y aproximadamente 70 por ciento en peso, entre aproximadamente 10 por ciento en peso y aproximadamente 60 por ciento en peso, entre aproximadamente 15 por ciento en peso y aproximadamente 50 por ciento en peso, o entre aproximadamente 1 por ciento en peso y aproximadamente 50 por ciento en peso.

- 15 Los productos de la presente invención se pueden incorporar en productos nutricionales (que incluyen alimentos, complementos de alimentación, piensos, complementos de piensos y productos nutricéuticos), productos cosméticos, productos farmacéuticos y productos industriales. Los productos pueden estar en forma de comprimidos masticables, comprimidos de disolución rápida, comprimidos efervescentes, polvos reconstituibles, elixires, líquidos, soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, comprimidos de múltiples capas, comprimidos de bicapa, cápsulas, cápsulas de gelatina blanda, cápsulas de gelatina dura, comprimidos oblongos, pastillas para chupar, pastillas masticables, perlas, polvos, gránulos, partículas, gránulos dispersables, complementos dietéticos, alimentos genéticamente modificados, productos a base de hierbas, y alimentos procesados.

- 20 Un producto nutricional se puede usar directamente como un alimento, complemento de alimento, pienso, complemento de pienso, o como un ingrediente en cualquiera de los anteriores. Los alimentos pueden ser alimentos líquidos o alimentos sólidos. Los alimentos líquidos incluyen, por ejemplo, fórmulas infantiles, comidas líquidas, huevos líquidos, jarabes multivitamínicos, sustitutos de comidas, alimentos medicinales, sopas y jarabes y bebidas. Como se usa en la presente memoria, una bebida es cualquiera de diferentes líquidos para beber. Las bebidas incluyen, por ejemplo, bebidas energéticas, zumos de frutas, leche y productos lácteos. Los alimentos sólidos incluyen alimentos infantiles, yogurt, queso, cereales, mezclas en polvo, productos horneados, que incluyen, por ejemplo, artículos tales como pasteles, pasteles de queso, tartas, bizcochos pequeños, galletas, barritas, panes, panecillos, galletas, magdalenas, bollos, tortas y picatostes, barritas de comida que incluyen barritas energéticas y carnes procesadas. También están incluidas pastas, batidos, helados; postres congelados; yogures helados; mezclas de barquillos de helados; aderezos para ensaladas; y mezclas de sustitutos de huevo, productos horneados tales como galletas, galletas saladas, productos dulces, pasteles de tentempié, tartas, barritas de granola/aperitivo y pasteles para tostador; aperitivos salados tales como patatas fritas, chips de maíz, chips de tortilla, aperitivos extruidos, palomitas, pretzeles, patatas fritas, y nueces; aperitivos para especialidades tales como salsas, aperitivos de frutos secos, aperitivos de carne, cortezas de cerdo, barritas de comida saludable y pasteles de arroz/maíz; y aperitivos dulces como caramelos. En algunas realizaciones, que incluyen en particular algunos alimentos sólidos, el producto se puede procesar en forma de partículas. Por ejemplo, la forma en partículas se puede seleccionar del grupo que consiste en una perla, un chip y un copo.

- 35 Los piensos o complementos de piensos se pueden preparar para cualquier animal, incluyendo cualquier animal de compañía o mascota, o para cualquier animal cuyos productos sean consumidos por los seres humanos. El término "animal" significa cualquier organismo que pertenece al reino animal e incluye, sin limitación, cualquier animal del cual se obtenga carne de aves de corral, pescado, vaca, cerdo o cordero. El pescado se obtiene, sin limitación de peces, gambas y mariscos. Los productos animales incluyen cualquier producto derivado de dichos animales, incluyendo, sin limitación, carne, huevos, leche u otros productos. Cuando se alimenta a dichos animales, se pueden incorporar nutrientes tales como PUFA LC en la carne, leche, huevos y otros productos de dichos animales para aumentar el contenido de esos nutrientes.

Un producto cosmético es un producto que se aplica a la piel y puede funcionar para mejorar el aspecto de la piel o para proporcionar algún beneficio dermatológico a la piel.

- 50 Un producto industrial es un producto tal como una materia prima para la fabricación de pinturas, combustibles, aceite, fluidos para trabajar el caucho o fluidos para trabajar metales.

Objetos, ventajas y nuevas características adicionales de esta invención serán evidentes para los expertos en la técnica tras examinar los siguientes ejemplos de la misma, que no se pretende que sean limitantes.

Ejemplos

Ejemplo 1

- 55 Este ejemplo describe un método general para la preparación de los aceites microencapsulados y el ejemplo 2

describe además la preparación de aceites microencapsulados específicos.

Los niveles de uso de los ingredientes se indican en la tabla 1. Una fuente de proteína y una fracción de hidrato de carbono para la caramelización, se hidratan en agua durante 30 minutos a 55-60°C con agitación constante. Una vez que los ingredientes se han hidratado y dispersado completamente, el pH se ajusta a 10,5-11,0 con NaOH. La solución ajustada se calienta a reflujo a 90-95°C durante 60 minutos (el tiempo empieza a 90°C). Después de la reacción de hidrólisis/caramelización, la solución se enfría y se mide el pH. Si el pH es mayor que 7, se añade gota a gota solución de ácido cítrico hasta que se obtiene un pH final de aproximadamente 7,0. Finalmente, se añaden aceite microalgal Martek DHA™-HM obtenido *Schizochytrium*, hidrato de carbono adicional y ascorbato sódico, a la solución enfriada y se mezcla durante 3 minutos a 4.000 rpm para formar una emulsión gruesa. El tamaño de partículas de la emulsión gruesa se reduce más mediante homogenización 1 paso a 500 bar. La emulsión se secó por atomización a una temperatura de entrada de 180°C y una temperatura de salida de 80°C mediante una unidad de secado por atomización Büchi 190 con dos inyectores de fluido.

Tabla 1. Lista típica de ingredientes

Ingrediente	Nivel de uso (%)
Agua	50
Hidrato de carbono para la caramelización (p. ej., glucosa)	30
Proteína (p. ej., aislado de proteína de soja)	10
Aceite Martek DHA™-HM	5
Hidrato de carbono adicional (p. ej., glucosa)	3,5
Ascorbato sódico	1,5
Total	100%

15 Ejemplo 2

Este ejemplo describe la preparación de aceites microencapsulados por el método del ejemplo 1 y variaciones del método.

A. El método del ejemplo 1 se llevó a cabo con aislado de proteína de soja (SPI) y glucosa (un azúcar reductor) para preparar aceite Martek DHA™-HM microencapsulado.

20 B. El método del ejemplo 1 para preparar aceite Martek DHA™-HM microencapsulado se llevó a cabo con SPI y glucosa, excepto que el SPI no se hidrolizó. Es decir, la reacción de caramelización se llevó a cabo en ausencia de SPI. El SPI e hidrato de carbono adicional se añadieron después de la etapa de caramelización y enfriamiento, pero antes de la adición del aceite para emulsión.

25 C. El método del ejemplo 1 para preparar aceite Martek DHA™-HM microencapsulado se llevó a cabo con SPI y sacarosa (un azúcar no reductor).

D. El método del ejemplo 1 para preparar aceite Martek DHA™-HM microencapsulado se llevó a cabo con un aislado de proteínas de soja hidrolizado (HSPI) disponible en el comercio que tenía 28% de hidrólisis, y glucosa.

30 E. El aceite Martek DHA™-HM microencapsulado se preparó con SPI y glucosa. Este procedimiento se llevó a cabo de forma similar al ejemplo 1; excepto que el protocolo de hidrólisis se llevó a cabo con adición de ácido y se separó el azúcar de la disolución para determinar si la adición de ácido exógeno catalizaría la hidrólisis de proteína. El aislado de proteínas de soja se hidrató, el pH se ajustó a 10,7 y se calentó (90-95°C) durante 60 minutos. A lo largo de la etapa de calentamiento, se añadió una solución de ácido cítrico al 10% de forma exógena. Se tuvo cuidado para imitar el procedimiento del ejemplo 1, en el que se cree que los ácidos se forman lentamente durante la reacción de hidrólisis/caramelización. El pH se siguió constantemente y al final del ciclo de calor de 60 minutos, el pH final era aproximadamente 7,0. Siguiendo el procedimiento modificado, se añadieron el resto de los ingredientes.

35 F. Resultados

La estabilidad final del polvo y características del método y alternativas se indican a continuación en la tabla 2.

Tabla 2. Características de estabilidad y prototipos seleccionados

Ejemplo nº	Muestra	Aceite libre (%)	Periodo de inducción (semanas)	
			Espacio de cabeza	Sensorial
2A	Hidrólisis de SPI / Glucosa	0,71	11	9
2B	No hidrólisis de SPI / Caramelización de glucosa	8,97	3	6
2C	Hidrólisis de SPI / Sacarosa	2,16	5	2
2D	HSPI comercial (28% de hidrólisis) / Glucosa	N/A	N/A	N/A
2E	Hidrólisis modificada de SPI (adición de ácido) / Glucosa	1,10	2	7

Nota: N/A: Emulsión inestable, sin procesado adicional

5 El rendimiento y estabilidad de los productos finales se evaluaron midiendo el aceite libre, espacio de cabeza y características sensoriales del producto (polvo). El aceite libre es una medida cuantitativa que demuestra la eficacia de la encapsulación. La eficacia se evalúa determinando la cantidad de aceite superficial fácilmente extraíble presente en el polvo. El bajo contenido de aceite libre indica que los ingredientes y los procedimientos de la encapsulación son suficientes para producir un producto muy uniforme; sin embargo, la eficacia de la encapsulación solo no puede predecir la estabilidad del producto. Puesto que la oxidación de lípidos es el mayor factor que contribuye a la estabilidad del propio producto, la medida de productos de oxidación proporciona un método útil de evaluación de las matrices de encapsulación. Las medidas de los productos de oxidación secundarios tales como hexanal y propanal se usan ampliamente como marcadores para controlar la oxidación de los ácidos grasos omega-3. Dichas medidas acopladas con el análisis sensorial proporcionan un método reproducible para predecir con precisión la vida en anaquel. Los resultados del espacio de cabeza presentados se obtienen de muestras en condiciones de almacenamiento aceleradas (40°C). Dichas condiciones aceleran los tiempos de reacción, acortando así la cantidad de tiempo necesaria para evaluar la vida en anaquel. El periodo de inducción del espacio de cabeza se define por la presencia inicial de productos de oxidación (propanal o hexanal), de modo que un periodo de inducción mayor indica un producto oxidativamente más estable.

15 El ejemplo 2A ilustra los resultados obtenidos típicamente con el método de hidrólisis de la presente invención. Los datos de estabilidad en la tabla 2 indican la funcionalidad de la presente invención. Los resultados indican que mejora mucho el rendimiento del polvo cuando se usa dicho método. Una comparación directa entre el ejemplo 2A y el ejemplo 2B, que tiene los mismos ingredientes que el ejemplo 2A pero sin hidrólisis, demuestra la eficacia del procedimiento de hidrólisis de la presente invención. La muestra no hidrolizada contiene un contenido de aceite libre mucho mayor, así como espacio de cabeza y periodos de inducción sensoriales limitados. Puesto que las muestras se prepararon con los mismos ingredientes, las diferencias de rendimiento se pueden atribuir a la mayor funcionalidad de la proteína impartida por el método de hidrólisis.

20 Los productos microencapsulados preparados con el azúcar no reductor sacarosa en el ejemplo 2C presentan cantidad elevada de aceite libre y estabilidad limitada. La pérdida de la funcionalidad de los ingredientes en este ejemplo está relacionada directamente con la falta de hidrólisis de proteínas como indica la falta de cambio de pH. Se cree que debido a la incapacidad de la sacarosa para actuar como un azúcar reductor, no se forman los productos de oscurecimiento de Maillard y de caramelización de naturaleza ácida. La falta de formación de producto ácido probablemente prevenía que se produjera la reacción de hidrólisis.

25 Cuando la proteína de soja se sustituyó por un aislado de proteínas de soja hidrolizado disponible en el comercio caracterizado por 28% de grado de hidrólisis (DH) en el ejemplo 2D, se observaron características de emulsión malas. Tras la mezcla con cizalladura y posterior homogeneización, se produjo la separación inmediata. Dicha inestabilidad de la emulsión evita el procesamiento posterior puesto que los ingredientes no están uniformemente dispersos. La falta de estabilidad de la emulsión en este caso es más que la debida probablemente a la excesiva hidrólisis de proteína. Sin querer estar limitado por la teoría, el método de hidrólisis química en el ejemplo 1, se cree que escinde proteínas aleatoriamente produciendo fragmentos peptídicos de tamaños uniformes. La naturaleza limitada y la escisión aleatoria de la hidrólisis química producen una distribución de tamaños de fragmentos peptídicos grande, creando una red compleja entrelazada de diferentes longitudes de proteínas cuando se usa como un emulsionante. Se cree que las proteínas hidrolizadas enzimáticamente contienen péptidos mucho más pequeños y una distribución de péptidos más pequeños en general que lo que se encuentra en los productos hidrolizados químicamente. La funcionalidad de dichos péptidos se reduciría mucho puesto que afecta a la capacidad de los fragmentos más pequeños para formar un recubrimiento estable alrededor de las pequeñas gotas de aceite.

30 Se investigó un procedimiento de hidrólisis modificado como se describe en el ejemplo 2E para determinar si la adición de ácido exógeno catalizaría la hidrólisis de proteínas. Se logró hidrólisis limitada con el método modificado; sin embargo, el polvo tenía ligeramente mayor cantidad de aceite libre y periodos de inducción menores. Se cree que la reacción compleja de hidrólisis de proteínas, el oscurecimiento de Maillard y la caramelización obtenidos usando el método del ejemplo 1 y 2A proporcionan un sistema de recubrimiento único. Los resultados indican que los polvos producidos con el método del ejemplo 2A presentan características de producto superiores cuando se comparan con los métodos alternativos investigados en los ejemplos 2B-2E.

Ejemplo 3

A. Formulaciones

Las formulaciones y composiciones calculadas de las emulsiones para hacer polvos secados por atomización se enumeran en la tabla 3.

5 Tabla 3. Formulaciones y composiciones de emulsiones para hacer polvos liofilizados

Formulación	Emulsión nº 1 (%)	Emulsión nº 2 (%)	Emulsión nº 3 (%)	Proveedor
DHA™-HM	23,4	16,2	16,2	Martek HM 75-4088
Aceite de maíz	0	7,2	0	Mazola
Stable-Flake® S	0	0	7,2	Cargill
Monoglicéridos	0,234	0,234	0,234	Danisco
Agente de enmascaramiento	0,351	0,351	0,351	Firmenich
Vitablend™ TAP1010	0	0,0288	0,0288	Vitablend
Aislado de proteínas de soja BiPRO®	4	4	4	Davisco
Jarabe de maltosa 65% (caramelizado)	3,5	3,5	3,5	Cargill
Jarabe de maltosa 65%	8	8	8	Cargill
Jarabe de glucosa 95%	2,3	2,3	4,6	Cargill
Ascorbato sódico	1,2	1,2	1,2	Weisheng
Agua	57,015	56,986	54,686	
Total	100	100	100	

Composiciones calculadas de las emulsiones	nº 1	nº 2	nº 3
Sólidos totales (%)	38,87	38,90	39,65
Proteína total (%)	3,60	3,60	3,60
Grasa total (%)	23,68	23,71	23,71
DHA total (%)	8,19	5,67	5,67
Hidratos de carbono totales (%)	11,45	11,45	12,20
Cenizas totales (%)	0,13	0,13	0,13
Sólidos totales (%) - medidos	NA	41,17	41,00

10 Como se muestra en la tabla 3, la carga de aceite total en la formulación es 24%. La diferencia entre las tres formulaciones está en la cantidad de aceite DHA™-HM. Se añadió una pequeña cantidad de TAP 1010 a la nº 2 y 3 para compensar la ausencia de antioxidantes en el aceite de maíz y Stable-flake S. El tamaño del lote de la emulsión era 230 kg. El contenido de sólidos totales de las emulsiones era 40% antes del secado por atomización.

15 Las etapas básicas llevadas a cabo en estas formulaciones eran 1) hidrólisis de proteínas en una fase de agua que contiene azúcares en agua, proteína e hidróxido sódico, 2) mezcla de la fase de aceite que contiene aceite microbiano que contiene DHA, monoglicéridos, Vitablend™ TAP1010 (una mezcla antioxidante que contiene 10% de toxoferoles mixtos, 10% de palmitato de ascorbilo, 40% de lecitina de soja y 40% de aceite de girasol alto oleico) y agente de enmascaramiento con fase de agua hidrolizada para formar una emulsión gruesa, 3) formación de una emulsión fina por homogeneización, y 4) secado por atomización. El diagrama del procedimiento para ilustrar el procedimiento se muestra en la figura 1.

B. Hidrolisis de proteínas de lactosuero

20 Se combinaron agua, aislado de proteínas de lactosuero y porciones de jarabe de maltosa en el tanque de la fase de agua. La proteína se hidrató durante 30 minutos a 55°C con mezcla lenta antes de ajustar el pH de la mezcla a 10,7 usando hidróxido sódico al 50% (p/p). Después la mezcla se calentó a 90-95°C y se mantuvo a esta temperatura durante 40-45 minutos antes de retirar el calentamiento. El proceso tardó aproximadamente 1 hora para calentar la mezcla a la temperatura, Después de enfriar, el pH de la mezcla era aproximadamente 7,2-7,5 a 60°C. Se añadió

25 ascorbato sódico para neutralizar más el pH. La maltosa y jarabe de glucosa restante se añadieron en este momento. Después se añadió ácido cítrico para disminuir el pH entre 6,8 y 7,0 antes de combinar con la fase de aceite. Las cantidades reales usadas de hidróxido sódico al 50% y ácido cítrico se pueden encontrar en la tabla 4.

Tabla 4. Cantidad de hidróxido sódico y ácido cítrico usados para la hidrólisis de proteínas de lactosuero

Emulsiones	nº 1	nº 2	nº 3
NaOH al 50% (p/p) usado (kg)	1,18	1,22	1,12
Ácido cítrico usado (kg)	0,436	0,410	No disponible

C. Formación de una emulsión

5 Emulsión gruesa. Se llevó a cabo mezclado con alta cizalladura en la mezcla de la fase acuosa y fase de aceite durante 15 minutos a 3550 rpm a aproximadamente 65°C. La formulación nº 3 usó Stable-flake® S en la formulación, que tenía un punto de fusión de 70°C. Durante los 15 minutos de alta cizalladura antes de homogeneización, a la temperatura de 60°C, el Stable-flake® S solidificó y salió a flote en la superficie del tanque de emulsión. Esta mezcla se calentó a 71°C para volver a fundir la grasa en el tanque y producir una emulsión gruesa homogénea antes de homogeneización.

10 Emulsión fina. La emulsión gruesa nº 1 se mantuvo en el tanque a 60,5°C durante ligeramente más tiempo que la emulsión nº 2 o la emulsión nº 3 antes de homogeneizar. Se llevó a cabo un primer paso de homogeneización a aproximadamente 65°C y 360 bar. Se llevó a cabo un segundo paso de homogeneización a aproximadamente 45°C y 50 bar. La temperatura puede subir más que estos objetivos, por lo tanto, la temperatura se controla con cuidado durante este procedimiento. Las distribuciones de tamaños de partículas de la emulsión después del primer paso y segundo paso de homogeneización se muestran en la tabla 5 y figura 2. Un segundo paso de la emulsión por la homogeneización disminuyó el tamaño de partículas d(0,5) de 0,161 a 0,145 µm y estrechó la distribución de tamaños comparado con el tamaño de partículas después del primer paso. Esto podría ser beneficioso para reducir el contenido de aceite libre en polvos secados por atomización y mejora la estabilidad del polvo.

Tabla 5. Influencia del número de pasos de homogeneización en los tamaños de partículas de la emulsión

Emulsiones	nº 1	nº 2	nº 3
Paso de homogeneización	1 ^{er} Paso	1 ^{er} Paso	1 ^{er} Paso
Tamaño de partículas d(0,5)	0,163	0,161	0,157
D[3,2]	0,136	0,135	0,133
D[4,3]	0,223	0,221	0,219
Uniformidad	0,719	0,719	0,734
Temperatura entrada (°C)	72	66,1	76,7
Temperatura salida (°C)	70,5	57,8	72,2

Emulsiones	nº 1	nº 2	nº 3
Paso de homogeneización	2º Paso	2º Paso	2º Paso
d(0,5)	No disponible	0,145	0,149
D[3,2]	No disponible	0,122	0,129
D[4,3]	No disponible	0,183	0,194
Uniformidad	No disponible	0,606	0,623
Temperatura entrada (°C)	68,9	61,1	72,2
Temperatura salida (°C)	59,4	55,6	63,9

20 Nota:

1. El instrumento usado para las mediciones de partículas era Malvern Mastersizer Hydro2000
2. d (0,5) - diámetro medio promedio; D[3,2] - diámetro medio ponderado en superficie; D[4,3] - diámetro medio ponderado en volumen
3. Uniformidad - una medida de las desviaciones absolutas de la mediana
4. Temperatura entrada/salida eran la temperatura real medida durante la homogeneización

D. Secado por atomización

30 Después de homogeneizar la emulsión, se puso en un tambor y se transportó a un secador por atomización. La emulsión se secó por atomización a una temperatura de entrada de 150°C y una temperatura de salida de 75°C mediante el aparato Niro Tall Form Spray Dryer™ capaz de procesar 500 kilogramos de material por hora. La presión del inyector era 138 bar con un inyector SE60 y el caudal era 7,5 kg/min.

35 Para cada ejecución, se recogieron aproximadamente 72 kg de polvo del punto de recolección principal del secador y de los ciclones. El polvo recogido del punto de recolección principal estaba caliente (65°C) cuando se recogió. Aunque los polvos se pusieron en un refrigerador tan pronto como fue posible después del secado, este polvo se sometió a más tensión que los polvos que estaban fríos cuando se recogieron. La distribución de los tamaños de partículas de los polvos se puede encontrar en la tabla 7 y figura 3. Como se esperaba, el polvo recogido del ciclón es mucho más fino que el polvo recogido por el punto de recolección principal.

Tras el secado, suponiendo que la cantidad de adición de fosfato tricálcico era 2% y el contenido de humedad alcanzado era 3%; las composiciones de los 3 polvos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Composiciones calculadas de polvo secado por atomización y rendimiento

Contenido en polvo - núcleo (%)	Polvo nº 1	Polvo nº 2	Polvo nº 3
Humedad total (%)	3,00	3,00	3,00
Sólidos totales (%) - TCP	95,00	95,00	95,00
Proteína total (%)	8,81	8,80	8,63
Grasa total (%)	57,88	57,90	56,81
DHA total (%)	20,02	13,85	13,59
Hidratos de carbono totales (%)	27,99	27,97	29,23
Fosfato tricálcico (TCP)	2,00	2,00	2,00
Cenizas totales (%) - TCP	0,32	0,32	0,32
Total (%)	100,00	100,00	100,00
Rendimiento teórico del polvo (kg)	92,17	92,23	94,01
Contenido de humedad medido del polvo (%)	3,04	2,89	2,68

5 Tabla 7. Distribuciones de tamaños de partículas de polvos secados por atomización

Polvos	Polvo nº 1	Polvo nº 1	Polvo nº 2	Polvo nº 3
Código	0514_1C	0514_1C cyclone	0514_2C	0514_3C
Tamaño de partículas d(0,1)	27,062	17,33	32,865	27,038
D(0,5)	65,21	47,906	74,61	65,33
D(3,2)	47,86	30,823	56,37	47,23
D(4,3)	72,63	53,967	82,35	72,38
d(0,5) objetivo	60	N/A	60	60

Nota:

1. d (0,1) - 10% de las partículas tienen tamaño de partículas menor que este diámetro; d(0,5) - diámetro medio promedio; D[3,2] - diámetro medio ponderado en superficie; D[4,3] - diámetro medio ponderado en volumen

10 Los resultados analíticos de los polvos secados por atomización para la potencia de DHA y el contenido de aceite libre se muestran en la tabla 8. Hay algunas discrepancias entre el contenido potencia de DHA medido por diferentes laboratorios debido a los diferentes métodos de extracción. Los tres polvos tenían contenido bajo de aceite libre (por debajo de 0,8%).

Tabla 8. Potencia de DHA y contenido de aceite libre para los polvos secados por atomización

Nombre del polvo	Contenido de DHA (mg/g)			Aceite libre medido (%)
	Esperado	Medido (Lab 1)	Medido (Lab 2)	
nº 1	200,2	201,70	205,2	0,72
nº 2	138,5	140,82	124,4	0,67
nº 3	135,9	138,23	162,0	0,57

15 Se evaluaron los aromas de los tres polvos usando la escala de intensidad Spectrum, una escala sensorial para los aromas y sabores desarrollada por Sensory Spectra, Meilgaard, et al, (1999), SENSORY EVALUATION TECHNIQUES, 3ª ed., CRC Press, Florida; Appenidix 11.2. Brevemente, esta es una escala de 0-15 para compuestos aromáticos en la que 0 representa nada, 2 representa bajo, 5 represente bajo-medio, 7,5 representa medio, 10 representa medio-alto, 12 representa alto y 15 representa muy alto. Los resultados se muestran en la

20 tabla 9. No se percibieron notas malolientes; sin embargo, se percibieron notas artificiales junto con olor dulce de tipo caramelo/azúcar moreno. Los tres polvos tienen características de aromas similares.

Tabla 9. Evaluación sensorial de polvos secados por atomización (aromas)

Propiedades	Polvo nº 1	Polvo nº 2	Polvo nº 3
Impacto total	4,5	4,5	4,5
Maloliente	0	0	0
Artificial	3	2	2
Dulce (tipo caramelo/azúcar moreno)	1,5	2	2

También se llevó a cabo un estudio de la evaluación sensorial a largo plazo en los polvos 1-3. Se pidió a los

integrantes de los paneles que clasificaran el olor en una escala de 1 a 5, siendo 3 rancio y siendo mejor la puntuación más baja. Se eligió un punto de corte de 3 como referencia para una buena característica sensorial. Los polvos 1-3 tenían una puntuación sensorial de menos de 3 durante 6 semanas, indicando la capacidad del polvo para proteger los componentes del aceite frente a la oxidación y otras reacciones que producen sabores.

5 E. Estudio de estabilidad a 40°C

Se puso cada polvo en un vial para análisis del espacio de cabeza por GC y se almacenó a 40°C durante varias semanas. Después se analizó el espacio de cabeza de cada muestra por GC para determinar la cantidad de compuestos analizados indicativos de oxidación de PUFA en el aceite que contiene DHA. Los cinco compuestos de análisis elegidos era: propanal, 2-pentenal, hexanal, 1-octa-3-ono y 1-octen-3-ol. Se analizaron los compuestos de análisis en el espacio de cabeza por cromatografía de gases del espacio de cabeza semanalmente. Se eligió un punto de corte de 1 ppm para los compuestos volátiles (compuestos de análisis) como referencia. Los polvos 1-3 tenían menos de 1 ppm de compuestos volátiles durante 16-17 semanas, indicando la capacidad del polvo para proteger los componentes del aceite de la oxidación.

En resumen, los polvos hechos tenían un tamaño medio $d(0,5)$ de 60 micrómetros, contenido de aceite libre inferior a 0,8%. Los tres polvos tenían propiedades sensoriales similares, que incluyen olores artificial junto con dulce/de tipo azúcar moreno, con una puntuación de impacto global de 4,5. Además, los polvos son estables a la oxidación. Este procedimiento es robusto y se puede llevar a mayor escala.

REIVINDICACIONES

- 1.- Un método de preparación de un producto encapsulado, que comprende
 hacer reaccionar una solución que comprende al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en
 5 sólidos de lactosuero, aislado de proteínas de lactosuero y proteína de soja y al menos un azúcar reductor
 seleccionado del grupo que consiste en glucosa y maltosa, a un pH inicial de al menos aproximadamente 10, para
 lograr un grado de hidrólisis de proteínas de entre aproximadamente 1% y aproximadamente 15%, en donde la
 reacción es a una temperatura de al menos 90°C;
- combinar la disolución que ha reaccionado con una composición que comprende un material de núcleo;
- 10 en donde la disolución que ha reaccionado forma un material de encapsulación sobre la composición que
 comprende el material de núcleo, y en donde
- el material de núcleo comprende un ácido graso poliinsaturado seleccionado del grupo que consiste en ácido
 docosahexaenoico (DHA), ácido docosapentaenoico (DPA), ácido araquidónico (ARA), ácido eicosapentaenoico
 (EPA), ácido estearidónico (SDA), ácido linolénico (LA), ácido alfa-linoleico (ALA), ácido gamma linolénico (GLA),
 ácido linolénico conjugado (CLA) y mezclas de los mismos.
- 15 2.- El método de la reivindicación 1, en donde el grado de hidrólisis de proteínas es entre aproximadamente
 2% y aproximadamente 10%.
- 3.- El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde la reacción es durante aproximadamente una
 hora.
- 4.- El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la hidrólisis de proteínas es no enzimática.
- 20 5.- El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el pH inicial se selecciona del grupo que
 consiste en un pH entre 10 y 14, un pH entre 11 y 12, y un pH entre 10 y 11.
- 6.- El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que además comprende aplicar un segundo material
 de encapsulación al producto encapsulado.
- 7.- El método de la reivindicación 6, en donde la aplicación de un segundo material de encapsulación es por
 25 granulación.
- 8.- Un producto encapsulado, que comprende:
- una composición que comprende un material de núcleo de compuesto lábil seleccionado del grupo que consiste en
 un ácido graso poliinsaturado seleccionado del grupo que consiste en ácido docosahexaenoico (DHA), ácido
 30 docosapentaenoico (DPA), ácido araquidónico (ARA), ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido estearidónico (SDA),
 ácido linolénico (LA), ácido alfa-linoleico (ALA), ácido gamma linolénico (GLA), ácido linolénico conjugado (CLA) y
 mezclas de los mismos; y
- un material de encapsulación sobre la composición, en donde el material de encapsulación se forma de proteína
 hidrolizada que tiene un grado de hidrólisis de proteínas entre aproximadamente 1% y aproximadamente 15% y de
 productos de caramelización,
- 35 en donde el material de encapsulación se puede obtener haciendo reaccionar una disolución que comprende
 proteína seleccionada del grupo que consiste en sólidos de lactosuero, aislado de proteínas de lactosuero y proteína
 de soja, y azúcar reductor seleccionado del grupo que consiste en glucosa y maltosa, a un pH inicial de al menos
 aproximadamente 10 para lograr un grado de hidrólisis de proteínas de entre aproximadamente 1% y
 aproximadamente 15%, y la reacción es a una temperatura de al menos aproximadamente 90°C.
- 40 9.- El producto encapsulado de la reivindicación 8, en donde la reacción es durante al menos
 aproximadamente una hora.
- 10.- El producto encapsulado de cualquiera de las reivindicaciones 8-9, en donde el pH inicial se selecciona del
 grupo que consiste en un pH entre 10 y 14, un pH entre 11 y 12 y un pH entre 10 y 11.
- 11.- El producto encapsulado de cualquiera de las reivindicaciones 8-10, en donde el grado de hidrólisis de
 45 proteínas es entre aproximadamente 2% y aproximadamente 10%.
- 12.- El producto encapsulado de cualquiera de las reivindicaciones 8-11, en donde el material de encapsulación
 comprende productos de la reacción de Maillard.
- 13.- Un producto seleccionado del grupo que consiste en un alimento, un producto cosmético, un producto

farmacéutico, un producto nutricional y un producto industrial, en donde el producto comprende el producto de cualquiera de las reivindicaciones 8-12.

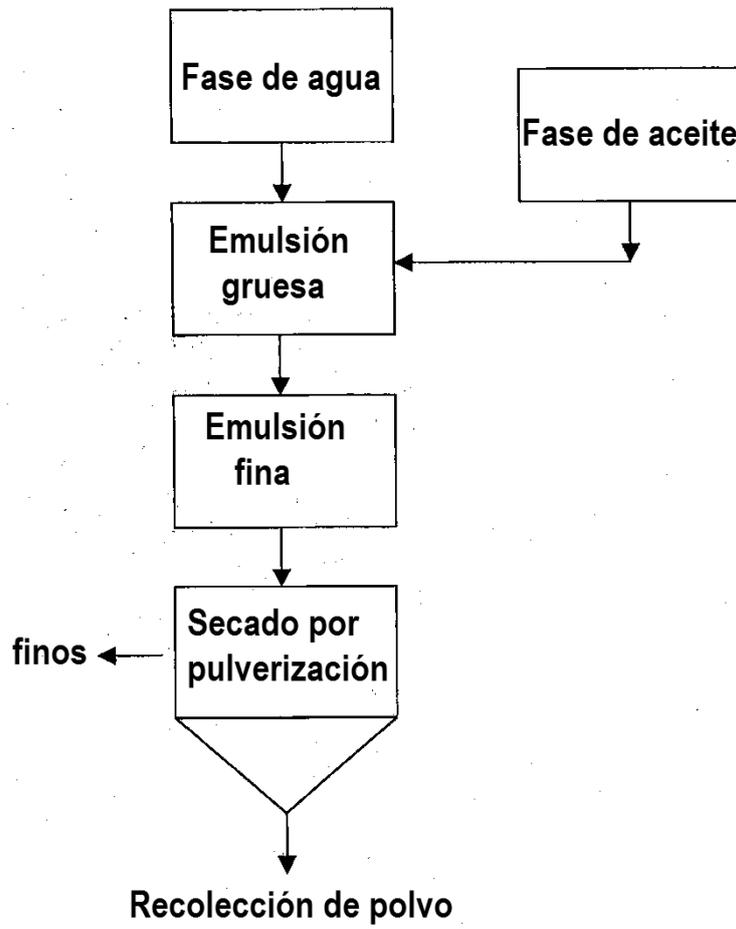


Figura 1

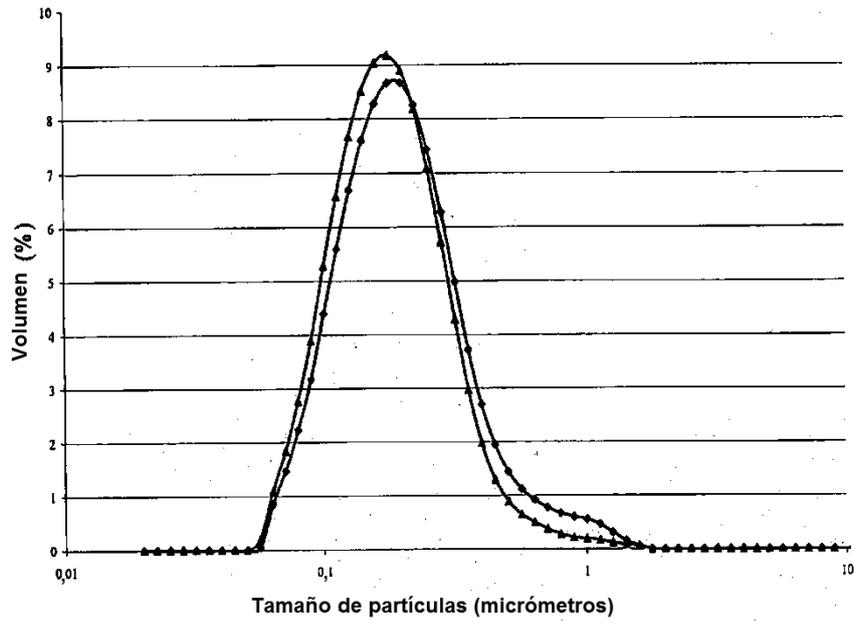


Figura 2

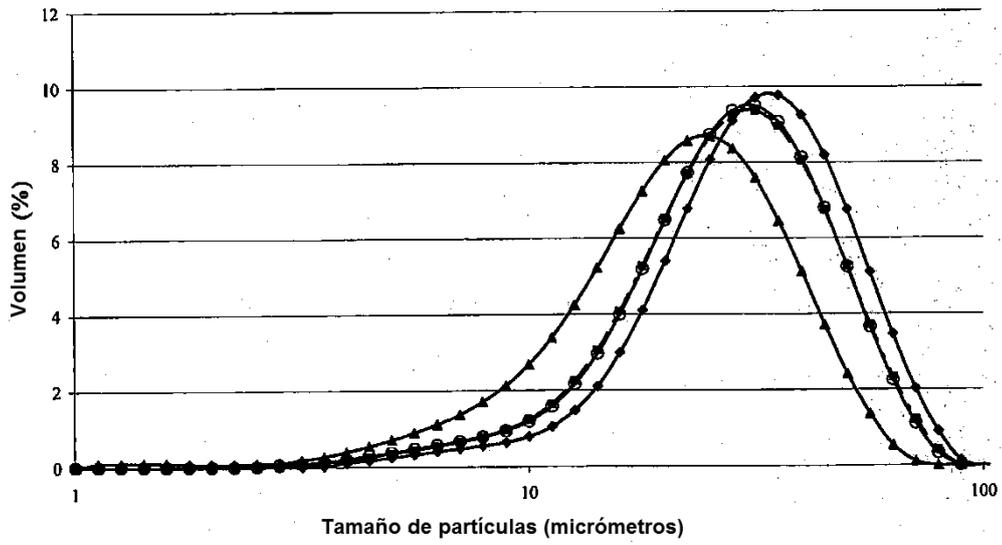


Figura 3