

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 610 907**

51 Int. Cl.:

A23L 2/38 (2006.01)

B01F 3/08 (2006.01)

A23L 2/68 (2006.01)

A23D 7/005 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.09.2011 PCT/IB2011/002743**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.03.2012 WO12032416**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.09.2011 E 11823131 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.10.2016 EP 2613652**

54 Título: **Emulsiones comestibles**

30 Prioridad:

07.09.2010 US 380577 P

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

04.05.2017

73 Titular/es:

**DSM NUTRITIONAL PRODUCTS AG (100.0%)
Wurmisweg 576
4303 Kaiseraugst, CH**

72 Inventor/es:

**TANG, DONGMING y
CLOUTIER, SYLVIE**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 610 907 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

Emulsiones comestibles

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

5 La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad a la solicitud provisional de EE.UU. N.º 61/380.577, presentada el 7 de septiembre de 2010, que se incorpora por referencia en el presente documento en su totalidad.

ANTECEDENTES

10 Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), que incluyen ácidos grasos omega-3, omega-6 y omega-9, son vitales para la vida y función diarias. Por ejemplo, los efectos beneficiosos de los ácidos grasos omega-3 como el ácido all-cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico (EPA) y el ácido all-cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico (DHA) sobre la reducción de los triglicéridos en suero están bien establecidos. El ácido all-cis-9,12,15-octadecatrienoico (ALA) es el ácido graso precursor esencial de EPA y DHA. Se ha mostrado que el ácido all-cis-5,8,11,14-eicosatetraenoico (AA) y sus precursores el ácido all-cis-6,9,12-octadecatrienoico (GLA) y el ácido all-cis-9,12-octadecadienoico (LA) son beneficiosos para lactantes.

15 Diversos de estos compuestos también son conocidos por otros beneficios cardioprotectores tales como prevenir arritmias cardíacas, estabilizar placas ateroscleróticas, reducir la agregación de plaquetas y reducir la tensión arterial. Véanse, por ejemplo, Dyrberg et al., en: Omega-3 Fatty Acids: Prevention and Treatment of Vascular Disease. Kristensen et al., eds., Bi & Gi Publ., Verona-Springer-Verlag, London, pp. 217-26, 1995; O'Keefe and Harris, Am J Cardiology 2000, 85:1239-41; Radack et al., "The effects of low doses of omega-3 fatty acid supplementation on blood pressure in hypertensive subjects: a randomized controlled trial". Arch Intern Med 20 151:1173-80, 1991; Harris, "Extending the cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids". Curr Atheroscler Rep 7:375-80, 2005; Holub, "Clinical nutrition: 4 omega-3 fatty acids in cardiovascular care," CMAJ 166(5):608-15, 2002. De hecho, la Asociación Americana del Corazón también ha informado de que los ácidos grasos omega-3 pueden reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular y cardíaca. Otros beneficios de los PUFAs son aquellos relacionados con la prevención y/o el tratamiento de inflamación y enfermedades neurodegenerativas, y con el desarrollo cognitivo mejorado. Véase, por ejemplo, Sugano y Michihiro, "Balanced intake of polyunsaturated fatty acids for health 25 benefits." J Oleo Sci 50(5):305-11, 2001.

Además de las fuentes de aceite de pescado, los PUFAs pueden derivarse y se derivan de fuentes microbianas que incluyen, sin limitación, *Mortierella alpina* para ARA y diversas especies de traustozitridios para DHA y EPA. Las plantas están ahora siendo genéticamente modificadas para incluir genes que producen diversos PUFAs en 30 esfuerzos adicionalmente por reducir los costes asociados a la producción comercial de estos aceites.

A pesar de la fuerte evidencia del beneficio de PUFAs en la prevención de enfermedad cardiovascular, se estima que el consumo diario promedio de estos ácidos grasos por los norteamericanos es entre 0,1 y 0,2 gramos, en comparación con una ingesta diaria sugerida de 0,65 gramos para conferir beneficio (Webb, "Alternative sources of omega-3 fatty acids". Natural Foods Merchandiser 2005, XXVI (8):40-4). Como la alteración de los patrones 35 dietéticos de poblaciones es difícil, la suplementación de dietas con PUFAs es un enfoque importante para tratar este problema. Desafortunadamente, muchos PUFAs son sensibles a la oxidación y pueden tener propiedades organolépticas desagradables. Además, el cumplimiento con las pautas de suplementos dietéticos requiere disciplina, que es frecuentemente deficiente. En vista de los beneficios para la salud de PUFAs se desea encontrar nuevas formas para administrar estos y otros materiales beneficiosos a un sujeto.

40 La administración de PUFAs formulándolos en composiciones comestibles sería un método deseable desde el punto de vista de la aceptabilidad y cumplimiento del consumidor. Sin embargo, las características de hidrofobia y de estabilidad oxidativa asociadas a muchos PUFAs crean retos significativos para incorporarlos en composiciones comestibles. Un enfoque implica el uso de emulsiones. Se han usado emulsiones como vehículo de administración para diversas sustancias. Por ejemplo, se han usado emulsiones en la industria cosmética, de detergentes, cuidado 45 personal, agrícola y de exploración de petróleo. Sin embargo, la mayoría de las emulsiones no son diluibles en agua; es decir, la emulsión se vuelve turbia o blanca lechosa tras la dilución con agua. Como tal, ha habido un gran interés en obtener una emulsión que siga clara tras la dilución y sea estable durante un largo periodo de tiempo. Para fines comerciales, ha sido un objetivo la creación de emulsiones que siguen claras tras la dilución y son estables durante un largo periodo de tiempo. También es de importancia que la emulsión tenga un alto factor de carga, para 50 administración más eficiente, y sea lo suficientemente económica para ser rentable en bebidas de coste razonable. El proceso para preparar una emulsión tal también debe ser comercialmente rentable. Una emulsión con estas propiedades puede incorporarse en aguas y otras bebidas claras o casi claras sin afectar el aspecto subyacente de la bebida y sin aumentar significativamente el coste de la bebida para el consumidor. Este objetivo todavía no se ha obtenido satisfactoriamente con PUFAs, ésteres y glicéridos de los mismos.

55 La patente de EE.UU. N.º 5.798.333 desvela un método de preparación de una emulsión de ciclosporina en agua clara diluible en agua usando tocofersolán (Vitamin E TPGS) como emulsionante. Esta patente desvela el uso de exceso (7,5 veces) de emulsionante para disolver la ciclosporina. La ciclosporina tiene un bajo peso molecular y

mejor solubilidad que diversos PUFAs de cadena larga. El producto acabado es un gel no fluido contenido en una cápsula de gelatina de dos partes.

5 La publicación internacional WO2009/117152 desvela una nanoemulsión no polar clara diluible en agua que contiene vitamina E TPGS, aceite de pescado de triacilglicerol omega-3 y agua. La relación de emulsionante con respecto a aceite de pescado es de 1,6:1 (peso/peso) a 6:1 (peso/peso). Por tanto, se usan componentes adicionales que incluyen estabilizadores de alcohol bencílico, propilenglicol, glicerol, fosfolípidos y una emulsión basada en goma.

En otro ejemplo de la patente de EE.UU. N.º 5.753.241, se usó una etapa de homogenización a presión muy alta a 10^8 Pa para preparar la emulsión. Sin embargo, tal presión está generalmente más allá del intervalo de presión normal usado en aplicaciones alimentarias, que normalmente es de 10,34 MPa (1500 psi) a 41,37 MPa (6000 psi).

10 La publicación internacional WO2010/008762 desvela un proceso que solubiliza vitaminas insolubles y suplementos dietéticos para producir bebidas nutricéuticas ópticamente claras. Se desvela un proceso y composición para sustancias nutricéuticas hidrófobas emulsionantes. En la composición, el emulsionante primario es un éster de ácido graso de sacarosa. Éste se combina con codisolventes y emulsionantes secundarios.

15 En vista de lo anterior, lo que se necesita en la materia son emulsiones de PUFAs y otros materiales y métodos beneficiosos para su preparación donde la emulsión no sea distinguible en el líquido en el que se incorpora, tenga un alto factor de carga, tenga propiedades organolépticas favorables y sea rentable. Las composiciones y métodos desvelados en el presente documento cumplen estas y otras necesidades.

SUMARIO

20 Según los fines de los materiales, compuestos, composiciones, artículos y métodos desvelados, como se incorporan y se describen ampliamente en el presente documento, la materia desvelada, en un aspecto, se refiere a composiciones y métodos de preparación y uso de tales composiciones. En otro aspecto, la materia desvelada se refiere a emulsiones. También se desvelan métodos de preparación y uso de las emulsiones desveladas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

25 Los materiales, compuestos, composiciones y métodos descritos en el presente documento pueden entenderse más fácilmente por referencia a la siguiente descripción detallada de aspectos específicos de la materia desvelada y los ejemplos incluidos en ella.

DEFINICIONES GENERALES

En esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones que siguen, se hará referencia a varios términos, que debe definirse que tienen los siguientes significados:

30 En toda la descripción y reivindicaciones de esta memoria descriptiva, la palabra "comprenden" y otras formas de la palabra, tales como "que comprende" y "comprende", significa que incluyen, pero no se limitan a, y no pretenden excluir, por ejemplo, otros aditivos, componentes, números enteros o etapas.

35 Como se usa en la descripción y las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una", "el" y "la" incluyen referentes plurales, a menos que el contexto dicte claramente de otro modo. Así, por ejemplo, referencia a "un compuesto" incluye mezclas de dos o más de tales compuestos, referencia a "un emulsionante" incluye mezclas de dos o más de tales emulsionantes, referencia a "el codisolvente" incluye mezclas de dos o más de tales codisolventes, y similares.

"Opcional" u "opcionalmente" significa que el evento o circunstancia posteriormente descrito puede o puede no ocurrir, y que la descripción incluye casos donde el acontecimiento o evento se produce y casos donde no.

40 Los intervalos pueden expresarse en el presente documento como de "aproximadamente" un valor particular y/o a "aproximadamente" otro valor particular. Cuando se expresa un intervalo tal, otro aspecto incluye de un valor particular y/o al otro valor particular. Similarmente, cuando se expresan valores como aproximaciones, por el uso del antecedente "aproximadamente", se entenderá que el valor particular forma otro aspecto.

45 Referencias en la memoria descriptiva y reivindicaciones concluyentes a partes en peso de un componente particular en una composición indican la relación en peso entre el componente y cualquier otro componente en la composición para la que se expresa una parte en peso. Así, en un compuesto que contiene 2 partes en peso de componente X y 5 partes en peso de componente Y, X e Y están presentes a una relación de peso de 2:5, y están presentes en tal relación independientemente de si están contenidos componentes adicionales en el compuesto.

50 Un porcentaje en peso (% en peso) de un componente, a menos que se establezca específicamente lo contrario, se basa en el peso total de la formulación o composición en la que el componente se incluye.

"Sujeto", como se usa en el presente documento, significa un animal. En un aspecto, el sujeto es un mamífero tal como un primate y, en otro aspecto, el sujeto es un ser humano. El término "sujeto" también incluye animales

domesticados (por ejemplo, gatos, perros, etc.), y ganado (por ejemplo, ganado vacuno, caballos, cerdos, ovejas, cabras, etc.).

5 Por "aceite" se indica una composición que contiene uno o más PUFAs, por ejemplo, ácidos grasos omega-3, ácidos grasos omega-6 y/o ácidos grasos omega-9, o derivados de los mismos, como se describe en cualquier parte en el presente documento. Los PUFAs pueden estar en su forma de ácido libre, forma de sal, forma de éster de triacilglicerol, éster de fitosterol y/o forma de éster metílico o etílico y el término "aceite" puede incluir una cualquiera o más de estas formas. A menos que se establezca específicamente, el término "aceite" se usa generalmente en el presente documento y no pretende implicar ningún nivel de pureza específico, ningún nivel de hidrofobia específico, ninguna forma o propiedad física específica, o ninguna fuente específica. "Aceite", a menos que se establezca de otro modo, incluye composiciones derivadas de fuentes de animales marinos, por ejemplo, peces, fuentes microbianas y/o fuentes de planta. El término "aceite" puede usarse sinónimamente con el término "fase dispersa" en el presente documento.

15 "Emulsión" se usa en el presente documento para significar cualquier sistema heterogéneo que contiene una fase dispersa y fase continua. El término no pretende limitarse por el tamaño particular de las gotitas o partículas de fase dispersa. El término "emulsión" usado en el presente documento incluye microemulsiones y nanoemulsiones.

Una microemulsión es una emulsión termodinámicamente estable que se forma espontáneamente.

Una nanoemulsión se usa para referirse a un tipo específico de emulsión donde el tamaño de las partículas o gotitas en la fase dispersa normalmente es inferior a 0,1 μm .

20 "Claro" se usa en el presente documento para referirse a una característica de las emulsiones desveladas. La claridad de una emulsión puede medirse por diversos métodos. Sin embargo, a menos que se establezca de otro modo, una emulsión que tiene una absorbancia inferior a aproximadamente 0,1 A de una muestra de 1,3 cm de espesor a 400 nm se considera clara. Una emulsión semi-clara tiene una absorbancia de 0,3 A a aproximadamente 0,1 A cuando se mide a 400 nm en una muestra de 1,3 cm. Por "emulsión clara diluible" se indica que después de la dilución con agua en cualquier relación, que incluye diluir con agua indefinidamente, la absorbancia de luz de la emulsión no llega a ser superior a aproximadamente el 1 % de su valor antes de la dilución.

25 Ahora se hará referencia en detalle a aspectos específicos de los materiales, compuestos, composiciones, artículos y métodos desvelados, ejemplos de los cuales se ilustran en los ejemplos adjuntos.

Materiales y composiciones

30 En el presente documento se desvelan materiales, compuestos, composiciones y componentes que pueden usarse para, puede usarse conjuntamente con, pueden usarse en la preparación de, o son productos de los métodos y composiciones desvelados.

Emulsiones

35 En el presente documento se desvelan emulsiones que comprenden una fase dispersa (por ejemplo, aceite) y una fase continua. La fase dispersa puede comprender uno o más PUFAs y/o derivados de los mismos. Por tanto, en las emulsiones desveladas están presentes uno o más emulsionantes, uno o más co-disolventes y uno o más mono y/o disacáridos.

40 En las emulsiones desveladas, la relación de emulsionante con respecto a fase dispersa se calcula dividiendo el porcentaje en peso del emulsionante en la emulsión entre el porcentaje en peso de la fase dispersa. Las emulsiones desveladas tienen una relación de emulsionante con respecto a fase dispersa de aproximadamente 1,5 o menos. Es decir, la cantidad de emulsionante usada en las emulsiones desveladas está ligeramente por encima de, pero en la mayoría de los casos es aproximadamente igual o inferior a, la cantidad de fase dispersa. En algunos ejemplos específicos, la relación de emulsionante con respecto a la fase dispersa es aproximadamente 1,5, 1,4, 1,3, 1,2, 1,1, 1,0, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6 o 0,5, donde cualquiera de los valores establecidos puede formar un punto de extremo superior o inferior de un intervalo, por ejemplo, de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 0,1, de aproximadamente 1,2 a aproximadamente 0,3, de aproximadamente 1 a aproximadamente 0,5, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 0,7.

Tamaño

50 Las emulsiones desveladas pueden tener gotitas o partículas de diversos tamaños. Por ejemplo, la emulsión desvelada puede ser hasta aproximadamente 200 nm, en particular inferior a aproximadamente 100 nm. Ejemplos específicos incluyen, pero no se limitan a, emulsiones que tienen un tamaño de gotita promedio inferior a aproximadamente 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 o 200 nm, donde cualquiera de los valores establecidos puede formar un punto de extremo superior o inferior.

El tamaño de las gotitas puede determinarse por métodos conocidos en la técnica, tales como dispersión de la luz, microscopía, espectroscópicamente, y similares.

Claridad

5 Hay diversos métodos por los que puede medirse o caracterizarse la claridad de una emulsión. En algunos casos puede usarse un turbidímetro. Otro método, que se usa en el presente documento, es la medición espectroscópica de la absorbancia. Específicamente, la claridad de las emulsiones desveladas se determina diluyendo la emulsión con agua desionizada para tener 50 mg de fase dispersa por 250 g de fase continua. Se usa un ultravioleta espectrómetro, Ultrospec 2000 de Pharmacia Biotech (Cambridge, RU) para medir la absorbancia de luz de la muestra de emulsión diluida a 400 nm. Se usa agua desionizada pura como referencia. La dimensión de las cubetas des 4,5 cm por 1,3 cm por 1,3 cm. Las emulsiones claras desveladas en el presente documento tienen una absorbancia a 400 nm de inferior a aproximadamente 0,3, 0,2 o 0,1 A.

Fase dispersa

15 La fase dispersa de las emulsiones desveladas puede comprender uno, dos, o incluso más componentes. Por ejemplo, la fase dispersa puede comprender uno o más PUFAs y/o derivados de los mismos. Derivados de PUFAs pueden incluir ésteres alquílicos (por ejemplo, ésteres etílicos), ésteres de glicéridos (por ejemplo, mono, di y triacilglicerol), ésteres de esteroles (por ejemplo, ésteres de fitosterol), y sales de PUFAs. Mezclas y combinaciones de PUFAs y derivados de los mismos también son adecuados para su uso en las fases dispersas en el presente documento.

20 Ejemplos específicos de PUFAs incluyen, pero no se limitan a, ácido α -linolénico natural y sintético (18:3 ω 3) (ALA), ácido octadecatetraenoico (18:4 ω 3) (ácido estearidónico), ácido eicosapentaenoico (20:5 ω 3) (EPA), ácido docosahexaenoico (22:6 ω 3) (DHA), ácido docosapentaenoico (22:5 ω) (DPA), ácido eicosatetraenoico (24:4 ω 3), 16:3 ω 3, 24:5 ω 3 y/o ácido misínico (24:6 ω 3), ácido araquidónico (20:4 ω 6) (ARA); otros se indican en cualquier parte en la memoria descriptiva. Estos y otros PUFAs, en tanto sus formas libres, esterificadas como de sal, pueden encontrarse en y obtenerse de aceites marinos (por ejemplo, aceite de pescado, aceite de foca, aceite de krill), aceites microbianos (incluyendo microbios naturales, además de modificados, tanto por mutagénesis clásica como por alteración genética) tales como aceite de algas (por ejemplo, aceite de microalgas), aceite fúngico, aceite de perilla, además de aceite vegetal (tanto derivado de plantas que existen de forma natural como plantas genéticamente modificadas), entre otros. Los precursores de PUFAs, por ejemplo, ALA y GLA y derivados tales como derivados poliglicolizados o derivados de polioxietileno, también pueden estar presentes en la fase dispersa.

30 En otros ejemplos específicos, la fase dispersa puede comprender DHA y/o EPA, un éster de alquilo C1-C6 de los mismos, un éster de triacilglicerol de los mismos, un éster de fitosterol de los mismos, una sal de los mismos, y/o una mezcla de los mismos.

35 En ejemplos específicos, la fase dispersa puede comprender un aceite microbiano, por ejemplo, un aceite de algas (por ejemplo, aceite de un dinoflagelado tal como *Cryptocodinium cohnii*) o aceite fúngico (por ejemplo, aceite de *Mortierella alpina*, *Thraustochytrium*, *Schizochytrium*, o una mezcla de los mismos), y/o aceite vegetal, que incluye mezclas de los mismos.

40 En ejemplos específicos, la fase dispersa puede comprender un aceite marino, tal como aceite de pescado natural y refinado y concentrado. Ejemplos de aceites de pescado adecuados incluyen, pero no se limitan a, aceite de pescado del Atlántico, aceite de pescado del Pacífico, aceite de pescado del Mediterráneo, aceite de pescado prensado ligero, aceite de pescado con tratamiento alcalino, aceite de pescado tratado con calor, aceite de pescado marrón ligero y pesado, aceite de bonito, aceite de arenque, aceite de tilapia, aceite de atún, aceite de lubina de mar, aceite de halibut, aceite de marlín, aceite de barracuda, aceite de bacalao, aceite de menhaden, aceite de sardinas, aceite de anchoa, aceite de capelán, aceite de bacalao del Atlántico, aceite de arenque del Atlántico, aceite de caballa del Atlántico, aceite de menhaden del Atlántico, aceite de salmónidos, aceite de atún y aceite de tiburón, que incluyen mezclas y combinaciones de los mismos. El aceite de pescado sin tratamiento alcalino también es una sustancia de carga adecuada. Otros aceites marinos adecuados para su uso en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, aceite de calamar, aceite de pulpo, aceite de krill, aceite de foca, aceite de ballena, y similares, que incluyen mezclas y combinaciones de los mismos. Cualquier aceite de PUFA y combinación de aceites de PUFA pueden usarse en las composiciones desveladas y en los métodos desvelados para prepararlos.

50 Los PUFAs desvelados en el presente documento también pueden ser aceites crudos, semi-refinados (también llamados refinados con álcali), o aceites refinados a partir de tales fuentes desveladas en el presente documento. Todavía además, las emulsiones desveladas pueden usar aceites que comprenden triacilgliceroles re-esterificados.

55 Además, la fase dispersa puede estar presente en una cantidad de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 15 % en peso de la emulsión. En ejemplos específicos, la fase dispersa puede estar presente en una cantidad de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 15 %, de aproximadamente el 3 % a aproximadamente el 12 %, de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 10 %, de aproximadamente el 7 % a aproximadamente el 10 %, o de aproximadamente el 8 % a aproximadamente el 9 % basado en el peso total de la emulsión. En un aspecto preferido, la fase dispersa es aproximadamente 8,5 % en peso de la emulsión.

Emulsionantes*Derivados de vitamina E*

El emulsionante es un derivado de polialquilenglicol de la vitamina E, tal como los emulsionantes derivados de tocoferol y de tocotrienol en los que el resto de vitamina E representa la región hidrófoba del emulsionante y está unido mediante un conector a un polialquilenglicol. Estos emulsionantes pueden formarse mediante la esterificación de un éster de tocoferol con un polialquilenglicol. El éster de tocoferol se prepara por la esterificación de tocoferol con el conector. El término tocoferol se refiere a cualquier forma que existe de forma natural o sintética de la vitamina E, y puede referirse a un solo compuesto o una mezcla. Ejemplos de tocoferoles incluyen, por ejemplo, α -tocoferol, D- α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol y δ -tocoferol. El conector es un ácido dicarboxílico (un ácido carboxílico que tiene dos grupos carboxi, por ejemplo, ácido succínico), tal como el ácido succínico. A modo de ejemplo de ácidos dicarboxílicos que pueden usarse como conectores en estos emulsionantes de diéster de PEG de tocoferol y tocotrienol son ácido succínico, ácido sebácico, ácido dodecanodioico, ácido subérico o ácido azelaico, ácido citracónico, ácido metilcitraconico, ácido itacónico, ácido maleico, ácido glutárico, ácido glutacónico, ácidos fumáricos y ácidos ftálicos.

Ejemplos adecuados de emulsionantes derivados de vitamina E incluyen, pero no se limitan a, derivados de polietilenglicol (PEG) de tocoferol, tales como diésteres de polietilenglicol de tocoferol (TPGD). Un emulsionante preferido es succinato de polietilenglicol de tocoferol (TPGS). También son adecuados análogos de TPGS, homólogos de TPGS y derivados de TPGS. Otros ejemplos de emulsionantes incluyen sebacato de tocoferol-polietilenglicol, dodecanodioato de tocoferol-polietilenglicol, suberato de tocoferol-polietilenglicol, azelato de tocoferol-polietilenglicol, citraconato de tocoferol-polietilenglicol, metilcitraconato de tocoferol-polietilenglicol, itaconato de tocoferol-polietilenglicol, maleato de tocoferol-polietilenglicol, glutarato de tocoferol-polietilenglicol, glutacolato de tocoferol-polietilenglicol y ftalato de tocoferol-polietilenglicol, entre otros.

Emulsionantes adecuados también pueden incluir otros derivados de PEG que tienen propiedades similares, por ejemplo, derivados de PEG de esteroides, por ejemplo, un colesterol o un sitosterol, y derivados de PEG de otras vitaminas liposolubles, por ejemplo, algunas formas de vitamina A (por ejemplo, retinol) o vitamina D (por ejemplo, vitamina D1-D5).

En un aspecto preferido, el emulsionante comprende succinato de polietilenglicol de tocoferol (TPGS), tal como un TPGS-1000 y/o un d- α TPGS. En otro ejemplo, el emulsionante es un análogo de TPGS. Análogo de TPGS se refiere a compuestos, distintos de TPGS, que son similares a un compuesto de TPGS parental, pero se diferencian ligeramente en la composición, por ejemplo, por la variación, adición o eliminación de un átomo, una o más unidades (por ejemplo, unidad(es) de metileno $-(CH_2)_n$) o uno o más grupos funcionales. Los análogos de TPGS incluyen tensioactivos derivados de vitamina E, que incluyen derivados de PEG de vitamina E, que incluyen diésteres de PEG de vitamina E, tales como, pero no se limitan a, sebacato de polietilenglicol de tocoferol (PTS), dodecanodioato de polietilenglicol de tocoferol (PTD), suberato de polietilenglicol de tocoferol (PTSr), azelato de polietilenglicol de tocoferol (PTAz) y sebacato de polioxietaniltocotrienilo (PTrienS), además de otros derivados de PEG de la vitamina E.

Los restos de PEG en el emulsionante derivado de PEG, que incluyen los restos de PEG en los derivados de PEG de la vitamina E, incluyen restos de PEG seleccionados de entre uno cualquiera o más de PEG-OH, PEG-NHS, PEG-CHO, PEG-SH, PEG-NH₂, PEG-CO₂H, PEG metilados (m-PEGs) y PEG ramificados, e incluyen restos de PEG que tienen un peso molecular de aproximadamente 200 kDa a aproximadamente 20.000 kDa, de aproximadamente 200 kDa a aproximadamente 6.000 kDa, de aproximadamente 600 kDa a aproximadamente 6.000 kDa, de aproximadamente 200 kDa a aproximadamente 2.000 kDa, de aproximadamente 600 kDa a aproximadamente 1.500 kDa, o de aproximadamente 600 kDa a aproximadamente 1.000 kDa.

Ejemplos preferidos de emulsionantes adecuados son los emulsionantes derivados de polietilenglicol (PEG) de la vitamina E, tales como succinato de polietilenglicol de tocoferol (TPGS) con un HLB de aproximadamente 12 a aproximadamente 14 (por ejemplo, aproximadamente 13).

Deseablemente, los emulsionantes son aceptables por las autoridades reguladoras de los alimentos a su nivel particular de uso. Por ejemplo, TPGS-1000, que tiene un resto de PEG de 1000 kDa, se considera de calidad alimenticia y se comercializa con el nombre Eastman Vitamin E TPGS™, por Eastman Chemical Company, Kingsport, Tenn., EE.UU. Este TPGS es una forma soluble en agua de vitamina E de fuente natural, que se prepara esterificando el grupo carboxilo de succinato del ácido de d-alfa-tocoferilo cristalino con polietilenglicol 1000 (PEG 1000), y contiene entre 260 y 300 mg/g de tocoferol total. Puede prepararse un compuesto similar esterificando el grupo carboxilo de la forma d,1 de la vitamina E sintética con PEG 1000. Este polietilenglicol de tocoferilo es una preparación soluble en agua de una vitamina liposoluble (vitamina E), por ejemplo, como se desvela en las patentes de EE.UU. N.º 3.102.078, 2.680.749 y las solicitudes publicadas de EE.UU. N.º 2007/0184117 y 2007/0141203. También a modo de ejemplo del tensioactivo de TPGS que puede usarse en las composiciones proporcionadas es la vitamina E natural soluble en agua (TPGS), comercializada por ZMC-USA, The Woodlands, Tex., EE.UU.

Disolventes

La fase continua de las emulsiones desveladas comprende agua. Sin embargo, también pueden estar presentes disolventes adicionales (es decir, co-disolventes) en la fase continua y en algunos casos se prefieren. Por ejemplo, puede usarse un disolvente polar tal como propilenglicol, glicerol y glicerina. Estos co-disolventes pueden estar presentes en una cantidad de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 45 % en peso de la emulsión. En un ejemplo específico, el co-disolvente está presente en de aproximadamente el 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, al 45 % en peso de la composición donde cualquiera de los valores puede formar un punto de extremo superior o inferior de un intervalo, por ejemplo, de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 20 %, de aproximadamente el 9 % a aproximadamente el 18 %, de aproximadamente el 13 % a aproximadamente el 17 %, de aproximadamente el 13 % a aproximadamente el 17 %, de aproximadamente el 14 % a aproximadamente el 16 %, de aproximadamente el 20 % a aproximadamente el 45 %, o aproximadamente el 15 % en peso de la emulsión.

En las emulsiones desveladas, la cantidad de agua es de aproximadamente el 13 a aproximadamente el 25 % en peso de la emulsión, por ejemplo, aproximadamente el 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 y el 25 % en peso de la emulsión, donde cualquiera de los valores establecidos puede formar un punto de extremo superior o inferior de un intervalo, por ejemplo, de aproximadamente el 14 % a aproximadamente el 22 %, de aproximadamente el 17 % a aproximadamente el 20 %, de aproximadamente el 17 % a aproximadamente el 25 %, de aproximadamente el 20 % a aproximadamente el 23 %, de aproximadamente el 21 % a aproximadamente el 24 %, y de aproximadamente el 22 % a aproximadamente el 25 % en peso de la emulsión.

En general, la cantidad total del disolvente (tanto agua como cualquier co-disolvente) es inferior a aproximadamente el 50 % en peso de la emulsión total. En diversos ejemplos, la cantidad total de disolvente en las emulsiones desveladas es inferior a aproximadamente el 45 %. Todavía además, la cantidad total de disolvente en la emulsión es aproximadamente el 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o el 50 % en peso de la emulsión, donde cualquiera de los valores establecidos puede formar el punto de extremo superior o inferior de un intervalo, por ejemplo, de aproximadamente el 30 % a aproximadamente el 50 %, de aproximadamente el 32 % a aproximadamente el 45 %, de aproximadamente el 34 % a aproximadamente el 42 %, de aproximadamente el 36 % a aproximadamente el 40 %, o de aproximadamente el 37 a aproximadamente 38 % en peso de la emulsión.

En ciertos ejemplos la emulsión está sustancialmente libre de alcohol bencílico, por ejemplo, menos de aproximadamente el 5, 4, 3, 2 o el 1 % de alcohol bencílico, o aproximadamente el 0 % de alcohol bencílico en peso de la emulsión.

Mono y disacáridos

La fase continua de las emulsiones desveladas también comprende uno o más mono- y/o disacáridos. Ejemplos de monosacáridos incluyen glucosa, fructosa, galactosa, arabinosa, ribosa, ribulosa, xilosa, manosa y xilulosa. Ejemplos de di-sacáridos incluyen sacarosa, lactosa, celobiosa, sorbosa, trehalosa, maltosa y rafinosa, y similares. Diversos derivados de sacárido tales como xilitol, sorbitol e isomalt también son adecuados para su uso en las emulsiones desveladas.

En general, la cantidad total del mono- y o di-sacárido es mayor de aproximadamente el 40 % en peso de la emulsión total. En diversos ejemplos, la cantidad total de estos azúcares en las emulsiones desveladas es de aproximadamente el 30 % a aproximadamente el 66 % en peso de la emulsión. Todavía además, la cantidad total de disolvente en la emulsión puede ser aproximadamente el 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65 y el 66 % en peso de la emulsión, donde cualquiera de los valores establecidos puede formar el punto de extremo superior o inferior de un intervalo, por ejemplo, de aproximadamente el 40 a aproximadamente el 66 %, de aproximadamente el 45 % a aproximadamente el 50 %, de aproximadamente el 46 % a aproximadamente el 48 %, de aproximadamente el 48 % a aproximadamente el 50 %, de aproximadamente el 47 % a aproximadamente el 49 %, o de aproximadamente el 45 a aproximadamente 47 % en peso de la emulsión.

Las composiciones desveladas también están sustancialmente libres de polisacáridos, tales como gomas, por ejemplo, menos de aproximadamente el 5, 4, 3, 2 o el 1 % de polisacárido, o aproximadamente el 0 % de polisacárido en peso de la emulsión. Las emulsiones desveladas pueden, en algunos casos, estar sustancialmente libres de jarabe de maíz de fructosa.

Antioxidantes

Las emulsiones desveladas en el presente documento también pueden contener un antioxidante. El antioxidante puede estar presente en la fase continua y/o la fase dispersa. Ejemplos adecuados de antioxidantes incluyen, pero no se limitan a, un compuesto fenólico, un extracto vegetal o un compuesto que contiene azufre. En ciertos ejemplos desvelados en el presente documento, el antioxidante puede ser ácido ascórbico o una sal del mismo, por ejemplo, ascorbato de sodio. En otros ejemplos, el antioxidante puede ser vitamina E, CoQ10, tocoferoles, derivados solubles en lípidos de antioxidantes más polares tales como ésteres de ascorbilo de ácidos grasos (por ejemplo, palmitato de ascorbilo), extractos vegetales (por ejemplo, aceites de romero, salvia y orégano, extracto de té verde), extractos de

algas y antioxidantes sintéticos (por ejemplo, BHT, TBHQ, etoxiquina, galatos de alquilo, hidroquinonas, tocotrienoles).

Método de preparación de emulsiones

5 También se describen métodos de preparación de las emulsiones desveladas en el presente documento. En general, las emulsiones desveladas pueden prepararse emulsionando una mezcla del emulsionante, la fase dispersa (por ejemplo, el aceite), el disolvente y el mono- y/o di-sacárido. Como un ejemplo más específico, el emulsionante se funde primero si fuera necesario y luego se mezcla con los componentes de la fase dispersa y co-disolvente(s). La relación de emulsionante con respecto a fase dispersa es aproximadamente 1,5 o menos. La concentración del emulsionante en esta primera mezcla está por encima de la concentración micelar crítica del emulsionante (CMC), así se forman micelas de emulsionante a escala nanométrica que contienen la fase dispersa. El co-disolvente también ayuda a dispersar las micelas de emulsionante y evitar la gelificación de algunos de los emulsionantes cuando están en contacto con el agua.

15 La mezcla puede entonces combinarse con una disolución de mono- y/o di-sacárido en agua. Aunque no se desea quedar ligado a teoría, esta disolución de azúcar tiene dos funciones: primera, la disolución de azúcar aumenta la viscosidad y facilita la reducción del tamaño de partícula mediante homogeneización en la siguiente etapa; segunda, el azúcar actúa de estabilizador de la emulsión y evita la formación de cristales líquidos que producen la agregación de gotitas y turbidez para la emulsión.

20 La mezcla final puede entonces homogeneizarse. La homogenización se usa para reducir el tamaño de las gotitas de la emulsión. Debido a que se usan pequeñas cantidades de emulsionante en la primera etapa y la concentración de emulsionante se diluye en la segunda etapa, la emulsión que sale de la segunda etapa no es una microemulsión y el tamaño de las gotitas es superior a 100 nm. Para reducir el tamaño de las gotitas de la emulsión, por ejemplo, a menos de 100 nm, y para tener una emulsión clara puede usarse una homogenización a alta presión. El número de pases que puede necesitarse depende de la presión aplicada. Para 34,47 MPa (5000 psi), cinco a diez pases serán normalmente suficientes. Presiones típicas que pueden ser usadas son de aproximadamente 10,34 MPa (1500 psi) a aproximadamente 41,37 MPa (6000 psi). También pueden usarse tecnologías basadas en procesador microfluidizador para preparar las emulsiones.

25 La etapa de emulsión puede realizarse a una temperatura adecuada dado el punto de fusión del aceite y para reducir las probabilidades de oxidación. Por ejemplo, la emulsión puede ser de aproximadamente -4 a aproximadamente 80 °C, de aproximadamente 0 a aproximadamente 20 °C, de aproximadamente 30 °C a aproximadamente 60 °C, o de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 50 °C. Los antioxidantes como se indica en el presente documento pueden añadirse en tanto la fase continua como la dispersa para proteger los aceites. Éstos pueden añadirse en cualquier etapa durante el proceso de formación de la emulsión. En qué etapa se añade el antioxidante, y en qué cantidad, dependerán del antioxidante particular.

Métodos de uso

35 Las emulsiones desveladas pueden usarse para preparar composiciones comestibles con el fin de administrar aceites a un sujeto. En un ejemplo particular, las emulsiones desveladas pueden añadirse a una bebida tal que la bebida pueda llegar a ser una fuente de PUFAs y derivados de los mismos. En otro ejemplo particular, en el presente documento se desvelan métodos de suplementación de PUFAs y derivados de los mismos en un sujeto administrando una cantidad eficaz de una emulsión desvelada en el presente documento. En otro ejemplo, en el presente documento se desvelan métodos de tratamiento de diversas afecciones humanas que incluyen, pero no se limitan a, reducir los niveles de colesterol, niveles de triglicérido, o combinaciones de los mismos, en un sujeto administrando una cantidad eficaz de una emulsión desvelada en el presente documento.

EJEMPLOS

45 Los siguientes ejemplos se exponen a continuación para ilustrar los métodos y resultados según la materia desvelada. Estos ejemplos no pretenden ser inclusivos de todos los aspectos de la materia desvelados en el presente documento, sino para ilustrar métodos y resultados representativos. Estos ejemplos no pretenden excluir equivalentes y variaciones de la presente invención, que son evidentes para un experto en la materia.

50 Se han hecho esfuerzos por garantizar la exactitud con respecto a los números (por ejemplo, cantidades, temperatura, pH, etc.), pero deben suponerse algunos errores y desviaciones. A menos que se indique lo contrario, partes son partes en peso, temperatura es en °C o es a temperatura ambiente, y presión es a o cerca de la atmosférica. Hay numerosas variaciones y combinaciones de las condiciones, por ejemplo, concentraciones de componentes, temperaturas, presiones, y otros intervalos de reacción y condiciones que pueden usarse para optimizar la pureza del producto y el rendimiento obtenido a partir del proceso descrito. Solo se requerirá experimentación razonable y rutinaria para optimizar tales condiciones de proceso.

55 Ciertos materiales, compuestos, composiciones y componentes desvelados en el presente documento pueden obtenerse comercialmente o sintetizarse fácilmente usando técnicas generalmente conocidas para aquellos expertos en la materia. Por ejemplo, los materiales de partida y reactivos usados en la preparación de las composiciones

desveladas están tanto disponibles de proveedores comerciales tales como Ocean Nutrition Canada Limited (Dartmouth, Canada), Aldrich Chemical Co., (Milwaukee, Wis.), Acros Organics (Morris Plains, N.J.), Fisher Scientific (Pittsburgh, Pa.) o Sigma (St. Louis, Mo.) como se preparan por métodos conocidos para aquellos expertos en la materia siguiendo los procedimientos expuestos en referencias tales como Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, Volúmenes 1-17 (John Wiley and Sons, 1991); Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Volúmenes 1-5 y suplementos (Elsevier Science Publishers, 1989); Organic Reactions, Volúmenes 1-40 (John Wiley and Sons, 1991); March's Advanced Organic Chemistry (John Wiley and Sons, 4ª Edición); y Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989).

Ejemplos 1-7: Micro- y nanoemulsiones claras basadas en Vitamin E TPGS

Se prepararon diversos ejemplos usando los componentes en las cantidades indicadas en la Tabla 1. Se fundió Vitamin E TPGS (Zhejiang Medicine Company, Xinchang, Zhejiang, China) usando un baño de agua establecido a 60 °C. Entonces se mezclaron juntos el TPGS fundido, propilenglicol, glicerol (Nealander International Inc., Mississauga, Canadá) y aceite de pescado (Ocean Nutrition Canada Limited, Dartmouth, Canadá). Ciertos ejemplos (como se indica en la Tabla 2) se añadieron lentamente en una disolución acuosa al 66,7 % de azúcar. La mezcla resultante se añadió entonces a agua DI con mezcla hasta que se formó una emulsión clara. Entonces se realizó homogenización a 5000 psi durante 10 pases. El tamaño de gotita de las emulsiones fue aproximadamente 72 nm como se ha determinado por Particle Analyser Beckman Coulter LS230. Las emulsiones siguieron siendo claras después de la dilución con agua en cualquier relación. El almacenamiento fue a 4 °C.

Se probó la claridad de la mayoría de las muestras de emulsión por absorbancia de luz de una disolución al 0,94 % en agua DI (0,94 g de emulsión/100 g de agua para dar 50 mg de EPA+DHA por 250 g de ración) a 400 nm-0,068 (agua DI como referencia).

TABLA 1: Fórmula de emulsiones preparadas con el emulsionante Vitamin E TPGS, diferentes aceites y diferente relación emulsionante/aceite.

Componentes (en % en peso)	Ejemplo N.º						
	Comp 1	Comp 2	3	4	5	6	7
Vitamin E TPGS *	19,3	19,9	8,5	5,4	6,0	6,8	5,4
Lecitina	--	--	--	--	--	--	1,3
Propilenglicol	4,1	4,8	8,5	5,3	6,0	6,8	5,3
Glicerol	1,9	1,9	7,9	8,0	6,0	6,8	8,0
Azúcar	--	--	44,4	48,3	49,0	47,3	47,4
Agua	65,7	64,9	22,2	24,2	24,5	23,7	23,7
Aceite omega-3	8,9 ^A	8,5 ^B	8,5 ^B	8,8 ^C	8,5 ^C	8,5 ^C	8,8 ^C
HLB	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	12
Relación emulsionante/aceite	2,1	2,3	1,0	0,61	0,7	0,8	0,72
Absorbancia de luz a 400 nm (A)	--	--	0,068	0,117	0,105	0,098	0,073
^A Aceite de pescado omega-3 30TG (270 mg/g de EPA + DHA; 320 mg/g de Ω-3 total en forma de TG)							
^B Aceite de pescado omega-3 30TG (290 mg/g de EPA + DHA; 350 mg/g de Ω-3 total en forma de TG)							
^C Aceite de pescado omega-3 30TG (250 mg/g de EPA + DHA; 300 mg/g de Ω-3 total en forma de TG)							

Los Ejemplos 1 y 2 son ejemplos comparativos en los que la relación de emulsionante con respecto a fase dispersa (en estos casos aceite de pescado omega-3) es 2,1 y 2,3. No se usó azúcar en ninguno de los Ejemplos 1 y 2 y la cantidad de co-disolvente fue relativamente baja.

Ejemplos comparativos 8-12: Micro- y nanoemulsiones usando diversos emulsionantes

Se siguió el método descrito para los Ejemplos 1-7 anteriores usando diversos otros emulsionantes. Los Ejemplos 8-12 usaron emulsionantes que tenían valores de HLB similares o diferentes. Los diversos ejemplos se prepararon usando los componentes en las cantidades indicadas en la Tabla 2.

5 El aceite se combinó con polisorbato, propilenglicol, lecitina de soja (Solae Company, St. Louis, Mo., EE.UU.), dodecilsulfato de sodio y o monoglicérido (Abitech, Northampton, RU) como se indica en la Tabla 2 para formar una mezcla homogénea. La mezcla se añadió entonces lentamente a una disolución al 66,7 % de azúcar con mezcla. Se añadió glicerol como se indica en la Tabla 2. La mezcla se agitó durante 5 minutos y entonces se homogeneizó a 5000 psi usando un microfluidizador durante 10 pases. El almacenamiento fue a 4 °C.

Se probó la claridad de la mayoría de las muestras de emulsión por absorbancia de luz de una disolución al 1,8 % en agua DI (1,8 g de emulsión/100 g de agua para dar 50 mg de EPA+DHA por 250 g de ración) a 400 nm-0,052 (agua DI como referencia).

10 **TABLA 2:** Fórmula de emulsiones con diferentes valores de HLB preparadas con diferentes emulsionantes y diferentes aceites.

Componentes (en % en peso)	Ejemplo N.º				
	8	9	10	11	Comp 12
Polisorbato 80	--	--	--	--	7,7
Polisorbato 85	6,6	6,6	--	--	--
Dodecilsulfato de sodio	-	--	0,9	0,8	--
Propilenglicol	4,4	4,4	8,8	8,3	4,4
Glicerol	4,0	4,0	--	--	4,0
Lecitina	2,2	2,2	--	--	--
Monoglicérido	--	--	--	--	1,2
Azúcar	52,2	52,2	58,7	55,1	52,2
Agua	26,1	29,4	29,4	27,5	26,2
Aceite omega-3	4,5 ^A	4,4 ^A	2,2 ^B	8,3 ^B	4,4 ^A
HLB	10	10	40	40	13,5
Relación emulsionante/aceite	1,5	1,5	0,4	0,1	1,8
Absorbancia de luz a 400 nm (A)	--	0,052	0,018	0,046	0,012
^A Aceite de pescado omega-3 30TG invernizado (546 mg/g de EPA+DHA en forma de TG)					
^B Aceite de pescado omega-3 30TG (250 mg/g de EPA + DHA; 300 mg/g de Ω -3 total en forma de TG)					

Estos ejemplos indican que los métodos desvelados son relativamente independientes de un valor de HLB del emulsionante. Así, puede usarse un amplio intervalo de emulsionantes con diversos valores de HLB.

Evaluaciones organolépticas de emulsiones claras de aceite omega-3 en agua en bebidas

15 Se probó la emulsión en el Ejemplo comparativo 2 en varias bebidas. Todas las bebidas se pasteurizaron. La emulsión se añadió antes de la pasteurización a un nivel de dosificación de 32 mg de EPA+DHA por 500 gramos de ración. La "Aceptabilidad del aroma" se puntuó de 1 a 7, siendo 1 la más aceptable y siendo 7 la más inaceptable. Cuatro a cinco panelistas participaron en la evaluación sensorial. Se rechazó cualquier muestra con una puntuación de "Aceptabilidad del aroma" superior a 4. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

20

TABLA 3: Resultados organolépticos de bebidas enriquecidas con emulsión de aceite de pescado en agua.

Tiempo de almacenamiento (Días)	Aceptabilidad del aroma después de almacenar a 4 °C								
	1	7	14	21	28	35	42	49	56
GATORADE™ de limón-lima	1,5	2,2	3	3	2,75	2,5	2,125	2,5	4
Zumo de manzana	4	4,4	4,5	6	desechada				
GATORADE™ de naranja	2	1,8	2	3	1,75	2,5	1,75	1,25	2,25
Ponche de frutas	3,75	4,4	5,25	4,75	desechada				

5 Puede usarse la emulsión clara de aceite omega-3 en agua basada en Vitamin E TPGS para enriquecer GATORADE™ de naranja a 32 mg de EPA+DHA por 500 gramos de ración. El sensorial de GATORADE™ enriquecido es aceptable después del almacenamiento de hasta 56 días. GATORADE™ de limón-lima fue aceptable hasta 56 días.

10 Para evaluar dos fórmulas de emulsión clara: 1:1 y 2:1 a diversos niveles de PUFA en GATORADE™ de naranja que incluye 20 mg, 32 mg, y 50 mg por 250 g de ración. La fórmula de la muestra de emulsión clara 1:1 es la misma que la fórmula mostrada en el Ejemplo 3, y la fórmula de la muestra de emulsión clara 2:1 es la misma que la fórmula mostrada en el Ejemplo comparativo 2. La aceptabilidad del aroma se determinó como se observa anteriormente, siendo una puntuación por debajo de 4 aceptable. El sabor a pescado se basó en una escala de 0 a 6, siendo 0 completamente sin sabor a pescado y siendo 6 totalmente con sabor a pescado. Es aceptable una puntuación de sabor a pescado por debajo de 2,0. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

15 **TABLA 4:** Resultados organolépticos de GATORADE™ de naranja enriquecido con emulsión de aceite de pescado en agua

Relación emulsionante: aceite	Dosificación de EPA+DHA /250 g	Aroma	Con respecto al control (0)	Aceptabilidad (1-7)	Sabor a pescado (0-6)
Control	-	-	0	1,0	0,0
1:1	20	naranjas, perfumado, dulce, agrio, ligeramente salado,	0,3	1,9	0,1
1:1	32	naranjas, perfumado, dulce, apagado, jabonoso, regusto floral, ligeramente apagado, apagado	0,4	1,6	0,1
1:1	50	naranjas, perfumado, dulce, textura ligeramente aceitosa, ligeramente apagado, pescado, agrio, ligeramente jabonoso, ligeramente jabonoso	0,6	2,2	0,4
2:1	20	naranjas, perfumado, dulce, verde, agrio, muy ligeramente jabonoso,	0,3	1,8	0,1
2:1	32	naranjas, perfumado, dulce, ligeramente plástico, ligeramente verde, agrio, floral, ligeramente jabonoso, graso, ligeramente más ácido	0,6	2,1	0,0
2:1	50	naranjas, perfumado, dulce, ligeramente amargo, verde, cítrico, floral, ligeramente jabonoso, verde, graso	0,4	2,1	0,2

Puede usarse la emulsión de aceite en agua de PUFA basado en Vitamin E TPGS para enriquecer GATORADE™ de naranja a hasta 50 mg de EPA+DHA por 250 gramos de ración. El sensorial de GATORADE™ enriquecido es aceptable al comienzo de la prueba.

5 La aceptabilidad organoléptica de GATORADE™ de limón-lima enriquecido por las emulsiones de aceite PUFAs en agua se evaluó preparando muestras a un nivel de dosificación de 50 mg de EPA+DHA por 250 gramos de ración y con diferentes antioxidantes. La fórmula base de la emulsión clara, antes de añadir diferentes antioxidantes, usó la misma relación de emulsionante:aceite que la del Ejemplo 3: específicamente, Vitamin E TPGS (4,38 %); aceite de pescado omega-3 30TG (4,38 %); propilenglicol (4,38 %); azúcar (55,8 %); agua (27,9 %); y glicerol (3,2 %) (total 100 %).

10 Se añadieron diferentes antioxidantes que incluyeron ácido cítrico, ácido ascórbico, extracto de té verde de Taiyo International Inc. (Minneapolis, Minn.) y extracto de té verde 20M de Danisco Canada Inc. (Scarborough, Canadá) por separado para obtener la concentración de antioxidantes deseada especificada en la Tabla 5.

15 Se usó un estudio de estabilidad en almacén acelerado para estimar la estabilidad en almacén de GATORADE™ enriquecido. Todas las muestras se almacenaron a 35 °C en la oscuridad y se probaron cada dos semanas. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Es posible usar emulsión de aceite de pescado en agua basada en Vitamin E TPGS para enriquecer GATORADE™ de limón-lima con PUFAs. La bebida enriquecida puede tener una estabilidad en almacén de 6-8 meses.

TABLA 5: Evaluación organoléptica de GATORADE™ de limón-lima con 50 mg de EPA + DHA mediante la emulsión de aceite de pescado en agua y con diferentes antioxidantes.

Composición de muestra a 35 °C	Aceptabilidad del aroma					Sabor a pescado				
	Día 1	Sem 2	Sem 4	Sem 6	Sem 8	Día 1	Sem 2	Sem 4	Sem 6	Sem 8
1:1, sin antioxidantes o AP ^a en fase acuosa	1,8	3,2	--	--	--	0,2	1,4	--	--	
0,8 % de ácido cítrico, 4,09 % de aceite de pescado	1,3	3,4	--	--	--	0	1,4	--	--	--
0,5 % de ácido cítrico, 4,22 % de aceite de pescado	1,8	3,8	--	--	--	0,2	2	--	--	--
0,5 % de ácido cítrico, 33,33 % de HFCS ^b	1,8	3,6	--	--	--	0,2	1,4	--	--	--
0,2 % de ácido cítrico	1,6	3,4	--	--	--	0	1,6	--	--	--
2 % de ácido ascórbico	1,8	4	--	--	--	0,3	1,8	--	--	--
1 % de ácido ascórbico, 3,97 % de aceite de pescado	3,3	4,6	--	--	--	1	2,2	--	--	--
1 % de ácido ascórbico, 33,33 % de HFCS	1,8	5	--	--	--	0	3,4	--	--	--
0,5 % de ácido ascórbico	1,3	5,6	--	--	--	0	3	--	--	--
0,05 % de extracto de té verde 20 M de Danisco	1,4	3,4	--	--	--	0	1	--	--	--
0,05 % de 20 M, 33,33 % de HFCS	1	3,6	--	--	--	0	0,8	--	--	--
0,1 % de extracto de té verde 20 M de Danisco	1	2,4	3,3	3,6	5,2	0	0,4	1	1,5	3
0,05 % de extracto de té verde de Taiyo, 4,35 % de aceite de pescado	1,5	3,3	--	--	--	0,2	1,4	--	--	--
0,1 % de extracto de té verde de Taiyo, 4,35 % de aceite de pescado	2	3,3	--	--	--	0,4	1,2	--	--	--

Composición de muestra a 35 °C	Aceptabilidad del aroma					Sabor a pescado				
	Día 1	Sem 2	Sem 4	Sem 6	Sem 8	Día 1	Sem 2	Sem 4	Sem 6	Sem 8
0,1 % de extracto de té verde de Taiyo, 33,33 % de HFCS	1,4	3,6	--	--	--	0	1,8	--	--	--
0,2 % de extracto de té verde de Taiyo, 4,13 % de aceite de pescado	1,8	2,4	3,2	3,6	4,7	0,4	0,8	1,2	1,8	3,2
551 ppm de AP, 5,8 % de aceite de pescado	2,2	2,4	3,8	--	--	0,4	0,4	1,8	--	--
^a AP – Palmitato de ascorbilo										
^b HFCS -- Jarabe de maíz de alta fructosa										

Se observa que algunos aceites de pescado ya tienen antioxidantes añadidos. Por ejemplo, los aceites de pescado pueden contener Duralox, que es una mezcla de ácido cítrico con tocoferol natural mezclado y extracto de romero. Así, los antioxidantes enumerados en la Tabla 6 son además de aquellos ya presentes en los aceites.

5 Ejemplos comparativos 13-23: Microemulsión clara basada en polisorbato

Se prepararon diversos ejemplos usando los componentes en las cantidades indicadas en la Tabla 6. Se disolvió azúcar (Redpath Sugar Ltd., Toronto, Canadá) en agua DI para formar una disolución al 50 % de azúcar. Entonces se añadieron polisorbato 80 (Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, Mo., EE.UU.), propilenglicol (Fisher Scientific Inc. Ottawa, Canadá), polisorbato 85 (Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, Mo., EE.UU.) y aceite omega-3 (Ocean Nutrition Canada Limited, Dartboca, Canadá) a la disolución de azúcar. La mezcla se emulsionó entonces hasta que se volvió clara por inspección visual. El almacenamiento fue a 4 °C.

Todas las emulsiones siguieron claras durante más de un año por comprobación visual. También siguieron claras cuando se diluyeron con agua en cualquier relación. La claridad se comprobó visualmente contra agua. Algunas se comprobaron por métodos espectroscópicos como se ha desvelado anteriormente en este documento. Por ejemplo, la dilución de la emulsión del Ejemplo 16 en la Tabla 2 al 0,9 % de concentración, que da 50 mg de EPA+DHA por 250 g de ración, tuvo una absorbancia de luz de 0,024 A a 400 nm. Algunos cristales de azúcar cristalizaron en la emulsión, pero no afectó la claridad de la emulsión y la dilución de la emulsión.

TABLA 6: Fórmula de emulsiones preparadas con emulsionantes basados en polisorbato y diferentes PUFAs.

Componentes (en % en peso)	Ejemplo N.º										
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Polisorbato 80	52,1	59,6	43,5	43,4	43,5	43,4	42,0	42,2	43,4	42,1	35,1
Polisorbato 85	--	3,0	2,2	2,3	2,2	2,3	5,8	5,4	5,5	5,0	14,2
Propilenglicol	41,7	29,9	21,7	22,2	21,7	22,2	21,0	21,1	20,7	21,8	20,1
Abimono 90 LS	2,9	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Azúcar	--	--	13,6	13,3	13,6	13,3	13,0	12,9	12,5	12,4	10,2
Agua	--	--	13,6	13,3	13,6	13,3	13,0	12,9	12,5	--	--
Aceite omega-3	3,2 ^C	7,5 ^A	5,4 ^A	5,6 ^B	5,4 ^A	5,6 ^B	3,3 ^D	5,6 ^E	5,3 ^F	5,6 ^G	10,3 ^G
HLB	14,5	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8	14,5	14,5	14,5	14,6	13,8
Relación emulsionante / aceite	17,2	8,3	8,5	8,2	8,5	8,2	9,1	8,5	9,2	8,4	4,8
	^A Aceite de pescado omega-3 Éster etílico (660 mg/g de EPA +DHA; 740 mg/g de Ω-3 total en forma de EE) ^B Aceite de pescado omega-3 invernalizado (546 mg/g de EPA+DHA en forma de TG) ^C Aceite de pescado omega-3 30 TG (270 mg/g de EPA + DHA; 320 mg/g de Ω-3 total en forma de TG) ^D Aceite de algas omega-3 invernalizado (350 mg/g de EPA + DHA) ^E Aceite de pescado omega-3 invernalizado Marine 18/12 TG (250 mg/g de EPA + DHA; >300 mg/g de Ω-3 total en forma de TG) ^F Aceite de pescado omega-3 invernalizado Side stream EX EPA 27/15 (420 mg/g de EPA + DHA) ^G Aceite de pescado omega-3 invernalizado XB 18/12 TG Winterized (287 mg/g de EPA + DHA en forma de TG)										

5 Estos ejemplos revelan que pueden prepararse emulsiones claras con PUFAs con emulsionantes basados en polisorbato, pero se usa un gran exceso de estos emulsionantes particulares con respecto al aceite.

Ejemplo comparativo 24

10 Se siguió el procedimiento expuesto en el Ejemplo 1 de la patente de EE.UU. N.º 5.753.241, excepto que los emulsionantes desvelados en ella se sustituyeron con Vitamin E TPGS (Zhejiang Medicine Company, Xinchang, Zhejiang, China), y el etanol se sustituyó con propilenglicol (Fisher Scientific Inc. Ottawa, Canadá). Los componentes y cantidades se muestran en la Tabla 7. Adicionalmente, la emulsión se homogeneizó a 5000 psi usando Microfluidizer (Microfluidics, Newton, Masa., EE.UU.) durante 15 pases para ser comparable al Ejemplo 6 en la Tabla 1 anterior donde la relación de emulsionante/aceite =0,8.

TABLA 7

Componentes	Peso (g)	Porcentaje (%)
Vitamin E TPGS	20,4	6,8
Aceite de pescado	25,5	8,5
Propilenglicol	45	15
Agua	191,4	63,8

Glicerol	17,7	5,9
Total	300	100

La absorbancia de luz de la dilución (0,94 g de emulsión/100 g de agua para dar 50 mg de EPA+DHA por 250 g de ración de agua) a 400 nm es 0,419, que es no clara o semi-clara. La muestra correspondiente en la Tabla 1 (es decir, Ejemplo 6) tiene una absorbancia de luz de 0,098. Así, la presencia de azúcar hizo una espectacular diferencia en la claridad.

5

Ejemplo comparativo 25

Se siguió el procedimiento expuesto en el Ejemplo 1 de la patente de EE.UU. N.º 5.798.333, excepto que se sustituyó la ciclosporina con aceite de pescado 30TG. Los componentes y cantidades se muestran en la Tabla 8.

TABLA 8

Componentes	Peso (g)	Porcentaje (%)
Vitamin E TPGS	8	28,6
Aceite de pescado (30 TG)	10	35,7
Propilenglicol	10	35,7
Total	28	100

10

La absorbancia de luz de la dilución (0,23 g de emulsión/100 g de agua para dar 50 mg de EPA+DHA por 250 g de ración de agua) a 400 nm fue 1,237, que es no clara o semi-clara. La muestra correspondiente en la Tabla 1 (es decir, Ejemplo 6) tiene una absorbancia de luz de 0,098.

Ejemplo comparativo 26

15 Se siguió el procedimiento expuesto en el documento WO 2009/117152, página 155 a 157, usando la fórmula en la Tabla 2A (ix), pero se usó una cantidad reducida de Vitamin E TPGS para hacerlo comparable al Ejemplo 6 en la Tabla 1 en el presente documento, que tiene una relación de emulsionante/aceite = 0,8. Los componentes y cantidades se muestran en la Tabla 9. Por tanto, la muestra se homogeneizó a 7400 rpm usando Polytron PT 6100 durante 10 min en lugar de 850 rpm a 1200 rpm usando un homogeneizador reversible CJ-4E (Arde Barinco, Inc.)

20

TABLA 9

Componentes	Fase	Peso (g)	Porcentaje (%)
Aceite de pescado (30 TG)	Aceite	40	10
Agua	Agua	325,2	81
Saladizer (TIC Gum, White Marsh, MD)	Agua	0,8	0,2
Vitamin E TPGS	Aceite	32	8
Saladizer	Aceite	0,254	0,06
Alcohol bencílico	Aceite	2,0	0,5
Ácido cítrico	Emulsión	1,12	0,3
Total		28	100

La absorbancia de luz de la dilución (0,8 g de emulsión/100 g de agua para dar 50 mg de EPA+DHA por 250 g de ración de agua) a 400 nm es 2,162, que es no clara o semi-clara. La muestra correspondiente en la Tabla 1 (es decir, Ejemplo 6) tiene una absorbancia de luz de 0,098.

25

REIVINDICACIONES

1. Una emulsión, que comprende:
- a. de aproximadamente el 4 a aproximadamente el 15 % en peso de un emulsionante, que es un derivado de polialquilenglicol de vitamina E;
 - 5 b. de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 10 % en peso de una fase dispersa, en la que la fase dispersa comprende uno o más ácidos grasos poliinsaturados o derivados de los mismos;
 - c. de aproximadamente el 20 a aproximadamente el 25 % en peso de agua;
 - d. de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 18 % en peso de un co-disolvente; y
 - 10 e. de aproximadamente el 40 a aproximadamente el 55 % en peso de un mono-sacárido, un di-sacárido o ambos,
- en la que la relación del emulsionante con respecto a la fase dispersa es aproximadamente 1,5 o menos, y en la que la cantidad combinada de agua y co-disolvente es el 50 % en peso o menos.
2. La emulsión de la reivindicación 1, en la que el emulsionante es de aproximadamente el 5,4 a aproximadamente el 8,5 % en peso; y/o
- 15 en la que la fase dispersa es de aproximadamente el 8 a aproximadamente el 9 % en peso; y/o
- en la que el agua es de aproximadamente el 22 a aproximadamente el 24 % en peso; y/o
- en la que el co-disolvente es de aproximadamente el 14 a aproximadamente el 16 % en peso; y/o
- en la que el mono-sacárido y/o di-sacárido es de aproximadamente el 44 a aproximadamente el 49 % en peso.
3. La emulsión de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que la relación del emulsionante con respecto a la fase dispersa es de aproximadamente 1 a aproximadamente 0,5, preferentemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 0,7.
- 20 4. La emulsión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la cantidad combinada de agua y co-disolvente es de aproximadamente el 30 a aproximadamente el 50 % en peso; preferentemente en la que la cantidad total de agua y co-disolvente es de aproximadamente el 36 a aproximadamente el 40 % en peso.
- 25 5. La emulsión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el emulsionante comprende succinato de tocoferol-polietilenglicol (TPGS) o un análogo del mismo.
6. La emulsión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la fase dispersa comprende aceite marino, un aceite microbiano, o un aceite derivado de una planta, preferentemente en la que el microbio o planta ha sido genéticamente modificado.
- 30 7. La emulsión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la fase dispersa comprende ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), ácido eicosatetraenoico (AA), ácido octadecatrienoico (GLA), ácido octadecadienoico (LA) y/o ácido docosapentaenoico (OPA), ésteres alquílicos, ésteres de glicéridos de los mismos, sales de los mismos, o cualquier combinación de los mismos; y/o
- en la que el co-disolvente comprende propilenglicol, glicerol, o una mezcla de los mismos; y/o
- 35 en la que el disacárido está presente y comprende sacarosa.
8. La emulsión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la emulsión está sustancialmente libre de una goma, y/o está sustancialmente libre de alcohol bencílico, y/o está sustancialmente libre de fosfatidilcolina.
9. La emulsión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la emulsión tiene una absorbancia a 400 nm de menos de aproximadamente 0,3 A, preferentemente menos de aproximadamente 0,1 A.
- 40 10. La emulsión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que la emulsión tiene un tamaño de gotita de aproximadamente 100 nm o menos.
11. Una bebida que comprende una cualquiera de las emulsiones de las reivindicaciones 1-10.
12. Un método de producción de una emulsión que comprende:
- a. emulsionar una mezcla, que comprende:

ES 2 610 907 T3

- i. de aproximadamente el 4 a aproximadamente el 15 % en peso de un emulsionante, que es un derivado de polialquilenglicol de vitamina E;
 - ii. de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 10 % en peso de una fase dispersa; y
 - iii. de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 18 % en peso de un co-disolvente;
- 5 en la que la relación del emulsionante con respecto a la fase dispersa es aproximadamente 1,5 o menos;
- b. combinar la emulsión de la etapa a con una disolución que comprende:
- i. de aproximadamente el 20 a aproximadamente el 25 % en peso de agua;
 - ii. de aproximadamente el 40 a aproximadamente el 55 % en peso de un mono-sacárido, un disacárido o ambos;
- 10 en la que la cantidad combinada de agua y co-disolvente es el 50 % en peso o menos;
- y
- c. homogeneizar la mezcla de la etapa b por homogenización a alta presión.
13. El método de la reivindicación 12, en el que la etapa de homogenización se realiza de 10,34 MPa (1500 psi) a aproximadamente 41,37 MPa (6000 psi).
- 15 14. El método de la reivindicación 12 o la reivindicación 13, en el que los componentes (i)-(iii) de dicha mezcla y/o los componentes (i)-(ii) de dicha disolución son como se definen en cualquiera de las reivindicaciones 2-5 o 7-10.
15. El método de cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en el que dicha fase dispersa comprende un aceite marino, aceite microbiano o aceite de algas.