

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 630 627**

51 Int. Cl.:

B01J 13/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.12.2004 PCT/ES2004/000562**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.06.2005 WO05058476**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2004 E 04805105 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.09.2016 EP 1702675**

54 Título: **Proceso de multi-microencapsulación continuo para la mejora de la estabilidad y almacenamiento de ingredientes biológicamente activos**

30 Prioridad:

18.12.2003 ES 200302998

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

22.08.2017

73 Titular/es:

**GAT MICROENCAPSULATION GMBH (100.0%)
Gewerbezone 1
2490 Ebenfurth, AT**

72 Inventor/es:

**CASANA GINER, VICTOR;
GIMENO SIERRA, MIGUEL;
GIMENO SIERRA, BARBARA y
MOSER, MARTHA**

74 Agente/Representante:

SOLER LERMA, Santiago

ES 2 630 627 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

Proceso de multi-microencapsulación continuo para la mejora de la estabilidad y almacenamiento de ingredientes biológicamente activos.

5

NOTAS

Uso de términos especiales

Una expresión que contenga "A, B y/o C" quiere decir que permite las combinaciones A, A + B, B, C, A + C, B + C, A + B + C, así como sus permutaciones.

10

Abreviaturas.

La siguiente lista de abreviaturas consiste en términos empleados habitualmente en el campo de la invención.

15

W = agua

O = aceite

W/O = emulsión de agua en aceite

O/W = emulsión de aceite en agua

(W/O)/W = emulsión de agua en aceite en agua

20

i.a. = ingrediente(s) activo(s), en la presente invención supone(n) ingrediente(s) biológicamente activo(s), excepto cuando es evidente que se refiere a ingredientes no usados para funciones biológicas. El uso del singular o plural se deduce del texto.

UV = luz ultravioleta

25

FA = Ácido graso; de cadena larga de carbono (más de 6 carbonos)

SFA = ácido graso saturado

MUFA = ácido graso monoinsaturado (1 insaturación)

PUFA = ácido graso poliinsaturado (2 o más insaturaciones)

HUFA = ácido graso altamente insaturado (4 o más insaturaciones)

30

w-3 = UFA omega-3, esto es, que posee al menos una insaturación en el carbono 3, numerando la cadena carbonada desde el extremo opuesto del grupo carboxílico.

w-6 = UFA omega-6, definido igual que w-3, excepto que la primera insaturación (al menos una) contada desde el extremo hidrocarbonado de la cadena esté en el carbono 6 y no en el 3.

35

Las abreviaturas w-3 y w-6 se refieren tanto en singular como en plural; FA, SFA, UFA, MUFA, PUFA, HUFA pueden terminar en "s" (por ejemplo, HUFAs) cuando se refieren a plural.

GMOs = Organismos genéticamente modificados.

40

La presente invención se refiere a microcápsulas y proceso continuo de microencapsulación agua en aceite en agua mediante una polimerización in-situ e interfacial de la emulsión. La formulación comprende una fase acuosa continua teniendo una dispersión de microcápsulas que contienen gotas de aceite, y en donde en el interior de cada gota de fase de aceite –opcionalmente conteniendo materiales solubles en aceite–, existe

una dispersión de agua, o extracto acuoso o material dispersable en agua o material soluble en agua. Las gotas de aceite son encapsuladas con un material polimerizable de origen natural. Tales microcápsulas son adecuadas para procesos de secado por pulverización, para su uso como un polvo seco, liofilizadas, polvo autoemulsionable, gel, crema y cualquier forma líquida. Los compuestos activos incluidos en las microcápsulas son beneficiosos para la salud u otros fines biológicos. Tales formulaciones demuestran ser adecuadas para su incorporación en cualquier clase de alimentos, especialmente para la producción de nutracéuticos, así como productos cosméticos (como cremas rejuvenecedoras, antiarrugas, geles, consumibles de baño y ducha y en pulverizadores.) Las preparaciones son adecuadas para estabilizar compuestos añadidos a los alimentos, medios de cultivo de microbios y nutracéuticos, en especial, aquellos que son fácilmente degradables u oxidables.

Campo de la Invención

El campo de la presente invención corresponde con métodos de formulación y uso de materiales biológicamente activos, en especial en alimentos, y más concretamente en alimentos funcionales o nutracéuticos; comprende método de microencapsulación, microcápsulas producidas por el mismo y aplicación (uso) de las mismas cuando incluyen ciertos compuestos, algunos de ellos descritos aquí por primera vez.

Estado de la técnica

Microencapsulación.

La técnica de microencapsulación es conocida y empleada en campos muy distintos (farmacia, agroquímica, colorantes, etc.). Existen formas diferentes de microencapsular compuestos, de forma que se liberan de forma controlada. Para una correcta y detallada definición del término microcápsula y una detallada revisión del estado de la técnica, consúltese Fong, W. "Technologies of microencapsulation" en el libro "Controlled Release Systems: Fabrication Technology, 1988 Vol I Editor Dean Hsieh, CRD Press, Florida. En dicha cita, se menciona que muchas veces se confunde el término microcápsula con otras formas de formulación, como emulsión, microesfera, liposoma, etc. Las verdaderas microcápsulas se basan en una separación física de fases por medio de una pared (polímero) que incluye dentro -el núcleo- al material microencapsulado; no se deben confundir con formulaciones que contienen materiales dispersos en polímeros o mezclados en matrices de polímeros, W/O o (W/O)/W emulsiones. Una diferencia fundamental de la presente invención con respecto a todas las patentes previas referentes a microcápsulas (adelante, microcápsulas) es que los inventores han creado una emulsión (W/O) que está encerrada por la pared de una microcápsula, y las microcápsulas se encuentran dispersas o emulsionadas en agua, y, además, las microcápsulas pueden contener microcápsulas más pequeñas en su núcleo, creándose por tanto multi-microcápsulas. Por otro lado las microcápsulas y el proceso de microencapsulación de la presente invención se caracterizan porque la pared está hecha de una mezcla de hidrocoloides que se polimerizan y entrecruzan, y se fija su estructura definitivamente por medio de un incremento en la temperatura; el proceso transcurre sin esperas de tiempo entre etapas de proceso y bajo agitación continua.

Ninguna patente o artículo científico presenta un método de microencapsulación similar al descrito aquí.

La patente más cercana a nuestro proceso de microencapsulación es la descrita en el documento US 6.234.464.

En el documento US 6.234.464 se describe un método de microencapsulación de FAs, en particular w-3, w-6 o derivados. Las diferencias con respecto a la presente invención estriban en que: (i) en el documento US 6,234,464 el material microencapsulado en el núcleo de la microcápsulas es una emulsión W/O; en la presente invención el núcleo contiene una emulsión W/O y además microcápsulas más pequeñas; (ii) en US 6,234,464 cada gota de agua está protegida con una pared; en la presente invención existen múltiples gotas de agua dentro de las gotas de aceite, y no todas las gotas de agua están protegidas con una pared; (iii) en el documento US 6,234,464 la pared está limitada a estar formada por dos hidrocoloides, además separados en dos capas diferentes definidas como "interior" y "exterior"; en este proceso es posible, y conveniente, combinar más de dos hidrocoloides para formar la pared y además no existe una estructura definida de la pared en dos (o cualquier número) de capas, sino que nuestras microcápsulas poseen una capa mixta en donde los hidrocoloides (no necesariamente limitados a dos) están entremezclados; (iv) durante el proceso descrito en el Ejemplo 1 del documento US 6,234,464 existe un paso para fijar (curar) la primera capa de hidrocoloide, por medio de variación del pH, y así depositar la segunda capa encima; mientras que en nuestro proceso, no ejercemos ningún paso intermedio para curar ninguno de los hidrocoloides, sino que se curan al final del proceso todos los hidrocoloides empleados; (v) en US 6,234,464 cada partícula de FA -entendemos que se refiere a gotas de FA- está recubierta de dos capas de hidrocoloide; nuestras microcápsulas no necesitan que los FA -en el caso de que se elijan tales como a.i.s- estén recubiertos con dos capas, sino que, mucho más ventajosamente para la calidad del producto, es conveniente que los FA estén en contacto con otros compuestos, incluso provenientes de la fase acuosa, que actúen como estabilizantes y prevengan su oxidación; (vi) el curado de las microcápsulas en el documento US 6,234,464 se realiza mediante enfriado; mientras que nosotros lo hacemos por aumento de temperatura, resultando en nuestro caso, una pared más firme; (vii) para eliminar el agua de las paredes en el documento US 6,234,464 se emplea etanol como reemplazante del agua y secado para obtener un polvo de microcápsulas, mientras que nosotros podemos conseguir el polvo de microcápsulas sin la intervención de etanol.

Aunque las diferencias mencionadas son abundantes, se han descrito solo las que se refieren a etapas del proceso; las microcápsulas producidas mediante US 6,234,464 y las descritas en la presente invención también tienen diferentes propiedades: térmicas, de protección de a.i.s, de emisión controlada de los a.i.s, del contenido de las microcápsulas (US 6,234,464 se limita a FAs), etc.

US 2003/193102 A1 desvela un proceso para preparar microcápsulas, comprendiendo 1) una mezcla acuosa de una sustancia de carga en donde dicha sustancia de carga es un aceite emulsionado en dicha mezcla acuosa, un primer componente polimérico y un segundo componente polimérico; 2) formando microcápsulas primarias que contienen carcasas conteniendo dichos primer y segundo componente polimérico; 3) formando aglomerados por enfriamiento; 4) formando una carcasa externa alrededor de dichos aglomerados por mayor enfriamiento; 5) entrecuzando el material de la carcasa añadiendo una sustancia de entrecuzado. El proceso es ejecutado por mezclado y la sustancia cargante es una sustancia biológicamente activa. El primer componente polimérico es una gelatina tipo A mientras el segundo componente polimérico es una gelatina tipo B.

Uso de FAs en alimentos

Es sobradamente conocido para los expertos en la materia que ciertos UFAs son beneficiosos para la salud, en especial MUFAs, PUFAs y HUFAs. Dentro de estos grupos se diferencian los w-3 y lo w-6. A la publicación por parte de científicos y estudios epidemiológicos han seguido multitud de patentes que,

basándose en estos estudios, reivindican el uso de estos compuestos naturales consumidos de modo natural por la humanidad desde sus inicios. Los inventores de la presente invención no conocen patente alguna que reivindique el uso combinado de FAs con esfingolípidos, ni con cerebrósidos.

5 Los métodos de aplicación de estos compuestos son muy variados, incluyendo microencapsulación, pero en ningún método se describe una microencapsulación de UFAs como la presente invención (que precisamente se caracteriza por permitir incorporar, a toda clase de alimentos, UFAs microencapsulados sin que se produzca degradación apreciable de los mismos.

10 Está descrita la combinación de UFAs con antioxidantes (por ejemplo, los documentos EP 0404058, US 5,855,944), pero en ningún caso se aplican microcápsulas parecidas a las aquí descritas, ni tampoco se reivindican ciertos antioxidantes complementarios aquí descritos y carecen de los estudios muy rigurosos de la calidad de los UFAs una vez procesados los alimentos (esto es, que permanezcan sin degradación tras proceso industrial), o, simplemente, su estabilidad con el tiempo.

15 Existen multitud de fuentes de UFAs, prácticamente todas descritas en artículos de investigación antes de ser reivindicadas en patentes. La novedad de esta patente no estriba en la fuente de UFAs, sino en la microencapsulación de UFAs obtenidos de diversas fuentes naturales (o de GMOs), o incluso por síntesis orgánica, en las microcápsulas aquí descritas para su aplicación en alimentos y otros fines.

Alimentación infantil

20 Un aspecto importante de la invención es la aplicación de nuestra formulación en productos infantiles. La leche de vaca carece de ciertos UFAs que sí están presentes en la leche materna. Sobre este tema de complementación de productos para embarazadas, lactantes y niños hay también muchas patentes, no obstante, ninguna emplea una microencapsulación con características parecidas a la descrita aquí para la óptima conservación de los UFAs hasta el consumo final. De especial énfasis en la presente invención es el uso de ácido araquidónico (véase el documento WO 9213086).

25

Desarrollo de la inteligencia

30 En los últimos tiempos la sociedad en general se encuentra en un debate abierto sobre las posibilidades de incrementar la inteligencia, o al menos el potencial para desarrollar mayor inteligencia, mediante técnicas de ADN recombinante. Los autores de la presente invención, basándose en diversos artículos que relacionan el desarrollo de la corteza cerebral (donde reside la inteligencia) con una correcta administración y equilibrada dieta conteniendo UFAs w-3, w-6 y w-9, así como relacionando el papel que juegan determinados esfingolípidos en transmisiones neuronales, y siendo los inventores conocedores de rutas metabólicas humanas, han encontrado una solución a una nueva demanda latente de la sociedad: desarrollar al máximo la potencialidad del ser humano, y en especial la inteligencia, como máxima distintiva del género humano, mediante la incorporación de ciertos compuestos naturales a la dieta. Así pues, aquí describimos el uso conjugado de w-3, w-6 y esfingolípidos, preferiblemente cerebrósidos, para incrementar el potencial de desarrollo de inteligencia. Los inventores no conocen ninguna patente de invención que reivindique el uso de cerebrósidos en combinación con una equilibrada mezcla de w-3 y w-6 para el desarrollo de la inteligencia. Si que existen en el estado de la técnica algunos artículos que relacionan el consumo de w-3 y/o w-6 con mayor potencial desarrollo de inteligencia [véase C. Maurage, P. Guesnet, M. Pinault, et al. "Effect of two types of fish oil supplementation on plasma and erythrocyte phospholipids in formula-fed term infants." Biol. Neonate 1998; 74: 416-29. y Crawford-MA Bloom-M Broadhurst-CL Schmidt-WF Cunnane-SC Galli-C Gehbremeskel-K

40

Linseisen-F Lloydsmith-J Parkington-J; "Evidence for the Unique Function of Docosahexaenoic Acid During the Evolution of the Modern Hominid Brain"; Lipids 1999, Vol 34, Iss S, pág. S39-S47] pero éstos ni ningún otro artículo, apuntan al importante papel metabólico que juegan en conjunto los ácidos w-3 y w-6 junto con los esfingolípidos y los cerebrósidos en particular en procesos de desarrollo del cerebro.

5

Uso de antioxidantes, protectores y/o bloqueadores de UV y bloqueadores de radicales libres.

Es de sobra conocido que el origen de muchísimas enfermedades, desde muy diversos tipos de cáncer hasta cataratas, es debido a reacciones de oxidación, de degradación de cadenas de ADN, todo esto debido por procesos de oxidación, inducidos por oxidantes, luz UV y/o radicales libres. También son muchas las patentes que reivindican el uso de extractos naturales, compuestos antioxidantes, etc. (documentos EP 1344516, EP 1064910) para prevenir un gran abanico de enfermedades. La presente invención, a diferencia de todas las demás, muestra la particularidad de que los compuestos antioxidantes o extractos preservan su capacidad antioxidante después de procesos industriales y ambientes fuertemente estresantes, hasta que llega al consumidor en perfecto estado de calidad y estado funcional (no degradado) gracias a las microcápsulas producidas conforme al proceso de microencapsulación aquí descrito..

15

Descripción detallada de la invención

El proceso de multiencapsulación propuesto es por multi-microencapsulación continua, mediante polimerización interfacial e in-situ, de materiales biológicamente activos

20

En una descripción más detallada del proceso podemos referirnos a las Figuras adjuntas:

25

(a) dos soluciones diferentes (Fig.1) 1a (aceite) y 1b (agua) se mezclan mediante la adición de 1b a 1a, conteniendo estas soluciones ingredientes activos y, opcionalmente, cationes libres o secuestrados para ser liberados posteriormente

30

(b) gracias a un emulsionante alimentario que puede estar en la solución 1a o en la 1b, se forma una emulsión de gotas de agua (10) en la fase de aceite (9). Este paso se concluye con la formación de la emulsión 1c, en donde en la fase de aceite (9) están solubilizadas o dispersados los, preferiblemente, ingredientes activos liposolubles; también se forma una emulsión de agua en aceite, con las gotas de agua (10) conteniendo, preferiblemente, los ingredientes activos hidrosolubles, siendo opcional que la solubilización (de los ingredientes activos) en agua o en aceite sea modificada por derivatización de los ingrediente(s) activo(s)

35

(c) después, se añade a la emulsión existente en [1c] la solución 2b, teniendo 2b al menos un hidrocoloide capaz de ser polimerizado y entrecruzado, y que contiene, opcionalmente, al menos un ingrediente activo.

40

(d) seguidamente se produce una inversión de fases, con gotas dispersas (11) que son una emulsión de agua (12) en aceite, dispersas en el medio continua (24), es decir, agua.

(e) después, (Fig. 5) se añade una solución o dispersión 5a, que contiene al menos un hidrocoloide (15), que actúa como coloide protector. La solución o dispersión que contiene el emulsionante primario se añade a la emulsión 2a.

(f) cuando las reacciones de polimerización y entrecruzamiento van a finalizar y se alcanza un grado de reducción del tamaño de partícula en el reintervalo de 1 a 30 μm , la temperatura que permanecía entre 30 $^{\circ}\text{C}$ y 70 $^{\circ}\text{C}$ se aumenta a 60 $^{\circ}\text{C}$ – 100 $^{\circ}\text{C}$.

(g) finalmente, se añade un modificador de la viscosidad alimentario.

5 Opcionalmente, la formulación puede secarse mediante secado por pulverización o cualquier forma perteneciente al estado de la técnica, y se recoge para formar polvos secos, polvos autoemulsionables, geles, cremas o cualquier forma que las contenga, incluyendo la dispersión en aceite, y también pueden someterse a una operación en unidad de liofilización.

Realización preferente de la invención

10 Puesto que una de las formas de realización preferidas es el uso de las microcápsulas para su adición a alimentos, las microcápsulas obtenidas mediante este proceso han sido probadas (con éxito) contra la degradación por temperatura, presión e intervalos críticos de de pH, etc.

15 El (los) hidrocoloide(s) y el (los) coloide(s) protector(es) se pueden añadir conjuntamente en forma de solución o dispersión acuosa inicial.

El emulsionante primario y el coloide protector pueden elegirse entre el grupo de los hidrocoloides, así como el modificador de viscosidad, puesto que los hidrocoloides tienen todo este tipo de propiedades diferentes.

20 El grupo de compuestos más apropiado para el éxito de una formulación acorde con el proceso descrito se corresponde con el grupo: quitosanos, almidón, dextrinas, ciclodextrinas, celulosas, lignina, pectinas, agar, alginatos, carrageninas, gelatinas, goma guar, goma arábica,, tragacantos, lignosulfonatos, goma de Caraya, goma de *Ceratonia siliqua*, saponina, goma xantana, gomas de semillas, galactomananas, arabanogalactanas, beta-glucanos, inulina, *Psyllium*, goma arábica; en todas sus formas isoméricas y estereoquímicas, en todas sus variantes con respecto a la cantidad y proporción de monómeros u oligómeros
25 constituyentes del hidrocoloide, en todas sus variantes de presentación, como sales metálicas o sales de compuestos nitrogenados o fosforados o sulfurados, así como de cualquiera de los productos de derivatización de los mencionados hidrocoloides.

30 El equilibrio hidrofílico lipofílico, conocido como HLB, es una estimación del poder emulsionante de un compuesto con capacidad emulsionante, variando según la conveniencia de formar una emulsión W/O ó una emulsión O/W. El emulsionante primario de la presente invención debe estar comprendido entre 9 y 16, preferiblemente entre 12 y 14.

La emulsión mostrada en 1c (10) debe tener un tamaño de partícula, determinado mediante un equipo medidor del tipo Master Sizer, de entre 50-500 µm, preferiblemente entre 70-200 µm.

35 Al final del proceso, las microcápsulas formadas (7b) tienen un tamaño de partícula de en el rango 0,1-100 µm, preferiblemente en el rango 1-30 µm, mas preferiblemente en el rango 1-5 µm.

Este tamaño puede variar con el tiempo por procesos de agregación, que en cierto modo son deseables, mientras la estructura de la formulación no se vea muy afectada.

40 Uno de los factores que influyen en el éxito de formar una emulsión o dispersión estriba en la energía proporcionada a la solución o dispersión en donde se va a formar la emulsión. Esta energía se puede proporcionar en forma de tensión de corte, por medio de agitadores, preferiblemente con agitadores de dientes, de ancla, o ambos combinados. La velocidad de giro en revoluciones por minuto debe permanecer entre 3000 y 25000 rpm, aunque estos valores deben ser considerados dependiendo del estado del proceso y

de las dimensiones de los reactores Cuando las microcápsulas están formadas es conveniente no proporcionar demasiada energía cinética / térmica para no provocar su ruptura.

5 Un tipo particular de coloides son los hidrogeles, así pues los hidrocoloides pueden ser substituidos por hidrogeles, opcionalmente aquellos basados en albúmina, alginatos, policarboxilatos, poli-L-lactida, almidón, y derivados.

10 Dependiendo de la velocidad de liberación del material microencapsulado, se pueden emplear diversas mezclas de hidrocoloides o hidrogeles, así podemos variar el grado de polimerización, la dureza de las paredes, su grosor, sus propiedades eléctricas, su permeabilidad a determinados compuestos, para obtener la microcápsula con la resistencia a los procesos alimentarios y al medio en el que se encontrará (p. ej. en un yogur) hasta su consumo final.

Esta variabilidad de los componentes de la pared de la microcápsula también es aplicable a los modificadores de viscosidad y emulsionantes usados, tanto el usado inicialmente para formar 1c (preferiblemente un polisorbato) como para emulsionante primario (preferiblemente un compuesto basado en lecitina de soja).

15 Las microcápsulas pueden obtenerse en estado seco, o también redispersarlas en otras matrices líquidas o incluso sólidas o solidificables. El medio exterior puede contener compuestos que ayuden a mantener la pared de la microcápsula, como reguladores de la fuerza iónica de la solución en la que se encuentran las microcápsulas, de la presión osmótica, etc. También puede haber, por ejemplo, cationes metálicos en el interior de las microcápsulas que, una vez completamente formadas, ayuden a que la pared no se destruya, como sería el caso de iones calcio dentro de una microcápsula formada con pectinas en su pared.

20 Los ingredientes activos pueden ser añadidos en cualquier paso del proceso, incluso en la fase de procesado del alimento mezclado con microcápsulas pero obviamente, lo más importante es que los materiales se encuentren en el interior de las microcápsulas. Así, los ingredientes activos pueden provenir de las soluciones 1a, de 1b, 2b, 5a o ser añadidos en cualquier instante del proceso.

25 Puesto que una de las realizaciones constituye el añadir a cualquier tipo de alimento compuestos beneficiosos para la salud, en partículas antioxidantes y UFAs, es importante prevenir oxidaciones durante la formación de las microcápsulas. El proceso puede llevarse a cabo en vacío, en presencia de un gas inerte, preferentemente nitrógeno o helio, protegido de luz de cualquier longitud de onda, en condiciones estériles.

30 Cuando nos referimos a fase de agua de soluciones o dispersiones, en todo el presente documento, debe entenderse que bajo ese término se incluyen soluciones o dispersiones: (i) basadas en extractos acuosos, (ii) con un contenido en alcoholes no superior al 40 %, siendo el resto agua (iii) de compuestos solubles o dispersables en agua.

También se entiende que la fase de aceite puede ser cualquier fase hidrófoba, como ceras o incluso mezclas complejas como miel.

35 Por las propiedades térmicas del agua, alcoholes o aceites, así como coeficientes de transmisión de una fase a otra, se puede mejorar la resistencia de los compuestos microencapsulados frente procesos alimentarios (incluso cocinado en el hogar del consumidor).

40 Es obvio que en ocasiones será necesario añadir un estabilizante microbiológico (bactericidas, fungicidas, bacteriostáticos, fungistáticos, etc.) a la formulación puesto que eventualmente va a ser utilizada en alimentos, entonces para dicho uso los agentes antimicrobianos deben ser autorizados en alimentación.

Una realización de la invención consiste en una formulación seca de las microcápsulas, recubiertas con el estabilizante microbiológico.

Para ciertas aplicaciones, sobre todo cosméticas, una vez secas las microcápsulas, pueden incorporarse en geles, aceites, soluciones alcohólicas para perfumes, etc. En una realización de la invención, las microcápsulas contienen aromas para ser empleados en perfumería o para perfumar geles y cremas de baño o jabones.

5 Las microcápsulas pueden ser aplicadas a todo tipo de alimentos, de modo no limitante a los siguientes ejemplos: cereales y derivados (opcionalmente muesli, cereales para leche), bollería y pastelería, productos lácteos, suplementos nutricionales, azúcares y derivados (opcionalmente chocolates, dulces, turrone, mazapanes), dulces dietéticos (con bajo nivel de calorías), en alimentos de régimen y para diabéticos, aceites y derivados, lácteos y derivados, huevos, verduras y hortalizas, legumbres, frutas, 10 tubérculos y derivados, tallos comestibles, aperitivos, aperitivos, raíces comestibles (opcionalmente regaliz), bayas y productos silvestres, conservas de frutas, frutos secos, carnes, embutidos, pescados, mariscos y crustáceos y sus conservas, bebidas alcohólicas y no alcohólicas, bebidas carbonatadas o no carbonatadas, zumos, jarabes, néctares, especias, condimentos, comidas precocinadas, alimentos pre-procesados (masa de pan congelada), pizzas, miel.

15 Aunque la principal y más útil realización de la invención se refiere a alimentación (de humanos y otros animales, incluso peces y también microorganismos), las microcápsulas pueden ser empleadas para otros fines, en particular para encapsular semioquímicos, atrayentes, repelentes, insecticidas, esterilizantes, herbicidas, fungicidas, bactericidas, virucidas (o materiales que previenen las infecciones víricas), vectores de 20 genes (para terapia génica o para objetivos de técnicas de ADN recombinante), aromas, indicadores de presencia de compuestos químicos inodoros-como mezclados en gas o líquidos-, astringentes para evitar la ingestión de productos tóxicos también en productos de uso doméstico (preferiblemente etanol, alcohol isopropílico, agua oxigenada, limpiamuebles).

25 En ocasiones, la invención se realizará para evitar aromas, con la consiguiente adaptación de los materiales de la pared y otros factores, con el objeto de evitar al máximo la liberación de los materiales encapsulados.

30 En un ejemplo presentado más adelante, veremos que el solicitante ha empleado técnicas estadísticas avanzadas no usuales para reducir el número de pruebas necesarias para determinar los parámetros más adecuados para encapsular ciertos compuestos, o para obtener la velocidad de liberación deseada, etc. Para seleccionar las variables independientes: tipo de compuestos de la pared, tamaño de partícula, emulsionante(s), velocidad de rotación del agitador, tipo de agitador, modificador de viscosidad, etc. y una variable independiente que representa la calidad de la formulación o de las microcápsulas. Este tipo de reducción de pruebas para reproducir la invención es recomendada debido al elevado número de factores afectados en la repetición de la invención. Se ha empleado el análisis de varianza o múltiple análisis de 35 varianza con diseño de fracciones factoriales, preferiblemente factorial en 2, 4, 8, 16, 32, y 64 bloques, media fracción saturada, diseño Box-Behnken, compuesto central, Plackett-Burman. La presente invención es el resultado de cinco años de experimentación con más de 50,000 formulaciones distintas ensayadas, sin embargo, sin el empleo de estas técnicas estadísticas, el número de ensayos ascendería a, por lo menos, un número mayor en 10 órdenes de magnitud.

40 Definiendo un aspecto de la invención podemos referirnos a las microcápsulas producidas mediante un proceso continuo de microencapsulación caracterizadas porque (a) contienen ingredientes activos beneficiosos para la salud humana; (b) la pared de las microcápsulas esta compuesta por una mezcla de al

menos dos hidrocoloides, tal mezcla polimerizada y entrecruzada, tales hidrocoloides son comestibles; (c) el grado de polimerización, entrecruzamiento y naturaleza de los hidrocoloides influye en la liberación controlada de los compuestos activos y la protección contra el oxígeno y/o luz y/o temperatura; (d) las microcápsulas contienen en su interior una emulsión de agua en aceite, existiendo opcionalmente ingredientes activos en la fase de aceite, opcionalmente en la fase de agua u opcionalmente en ambas fases y además, (e) pueden contener microcápsulas más pequeñas (multi-encapsulación posible hasta, al menos, 5 grados de multi-encapsulación); y la media del tamaño de las microcápsulas se encuentra en el rango 0,1 μm – 100 μm , preferiblemente en el rango 1 μm – 10 μm son producidas mediante un proceso continuo de multi-microencapsulación por polimerización interfacial in situ.

Las microcápsulas producidas según el proceso aquí descrito pueden liberar su contenido por motivo de al menos un factor elegido del grupo de: pH, temperatura, presión, fuerza iónica, osmosis, volatilización, presencia de compuestos que disuelven la pared de la microcápsula.

Las microcápsulas formadas, en una realización correspondiente a consumo humano, deben resistir los procesos alimentarios usuales, en particular a operaciones, pertenecientes al estado de la técnica, concernientes a protección contra microorganismos, nocivos y/o no deseados, microorganismos colonizadores de la formulación o alimento al que se destina, y la invención proporciona microcápsulas para ser presentadas en operaciones como: esterilización, estabilización de microorganismos, pasteurización, UHT, ozonización, rayos UV, irradiación con rayos gamma, adición de productos antimicrobianos químicos (tanto de síntesis como naturales),.

Los estabilizadores microbiológicos pueden añadirse también en el proceso industrial, por tanto en una realización, en el interior de las microcápsulas (opcionalmente en la fase de aceite, o en la fase de agua, o en ambas) y/o en la fase que contiene las microcápsulas, se encuentra un material estabilizador en términos de calidad microbiológica.

En otra realización, la formulación se acompaña con un certificado de calidad en donde se analiza la inexistencia de metales pesados, productos nocivos de degradación de los materiales biológicamente activos, productos agroquímicos usados en la producción de los materiales biológicamente activos y demás compuestos que son nocivos para la salud.

§33-36 En una realización de la invención, las microcápsulas se emplean para proporcionar nutrientes, anabolitos, compuestos que ayuden a identificar microbios causantes de enfermedades (como anabolitos selectivos o productos fluorescentes o marcados radioactivos), y estos compuestos pueden ser liberados por cambios de pH en el medio de cultivo (por ejemplo, agar patata-dextrosa), por producción de enzimas (del mismo cultivo microbiano, por ejemplo) u otros metabolitos (como alcohol o enzimas liberadas).

Las microcápsulas se pueden añadir a edulcorantes naturales o artificiales, sal, pimienta, especias y condimentos en general, de tal forma que la adición de los citados condimentos a los alimentos hace que se incremente el valor nutritivo, o beneficio para la salud, de los alimentos.

Para una mayor protección de la pared de la microcápsula misma, o los compuestos activos contenidos en ella, es conveniente incluir un compuesto(s) dentro o fuera de la microcápsula que prevenga la acción oxidativa y/o destructiva de los rayos ultravioleta.

Una realización preferida es aquella en la que se microencapsulan materiales que son hartamente conocidos por los científicos y por el público -con un cierto nivel de cultivo- como muy apropiados para mantener la salud o prevenir enfermedades, o incluso curar enfermedades. No obstante el número de patentes que reivindican el

uso de ciertos compuestos (antioxidantes y ácidos grasos w-3, w-6 y w-9 sobre todo), hay que tener presente que el un porcentaje abrumador, estas patentes han sido solicitadas mucho después de que se describieran los efectos beneficiosos de dichos compuestos por la comunidad científica en artículos y conferencias. Es pues, el objetivo de nuestra invención, aplicar compuestos conocidos como sanos en forma microencapsulada, puesto que nuestro método de microencapsulación consigue mantener hasta el consumo final por parte del consumidor o de cualquier otro animal, todas las propiedades beneficiosas de los compuestos activos (evitar su degradación). La práctica totalidad de productos los cuales se describen en esta patente, han sido descritos como beneficiosos desde hace más de 20 años, o incluso usados por la humanidad conscientemente o inconscientemente por su bondad desde hace milenios, e incluso desde los orígenes del género humano. En este sentido, los inventores escogen el grupo de compuestos sin limitarse a ellos, (mezclados totalmente o parcialmente o usados individualmente), para ser microencapsulado los siguiente: té verde, té negro, cacao, vino tinto o uvas tintas u residuos de uvas (orujos), sidra o manzana o zumo de manzana, germen o salvado de cereales, carlotas o zanahorias, chili, ajo, rábano (en especial, rábano picante), como utilizados en alimentación durante mucho tiempo

Del mismo modo que se ha explicado en la reivindicación anterior, la presente invención permite la formulación de muchos tipos diferentes de compuestos, constituyendo una completa novedad que los compuestos microencapsulados son microencapsulados con materiales comestibles de tal forma que protegen los ingredientes activos de degradación en los procesos de la industria alimentaria y/o en la cocina, de una forma superior a lo que existe descrito en el estado de la técnica, gracias a la estructura de multi-microcápsula que dota de una multitud de capas protectoras a un porcentaje de los productos microencapsulados, gracias a la emulsión agua en aceite dentro de las microcápsulas que permite que se microencapsulen tanto productos hidrófilos como hidrófobos, y que las mezclas de estos compuestos permite que algunos compuestos protejan de la oxidación a otros compuestos, así como los detalles y pasos del proceso de producción que resultan en microcápsulas que pueden ser confeccionadas a medida de los compuestos a microencapsular, en términos de protección óptima y velocidad de liberación adecuada. Tras el elevado número de experimentos realizados por el solicitante, y considerando que compuestos químicamente similares se comportan de manera similar en el proceso y la microcápsula (por ejemplo, el limoneno y el pineno, siendo ambos monoterpenos, no deben presentar gran diferencia a la hora de encapsular ni a la hora de ser liberados por las microcápsulas, incluso el copaeno, que es un sesquiterpeno, tampoco diferirá mucho de los monoterpenos, ni tampoco el óxido de limoneno, con un grupo funcional adicional, presentará grandes diferencias a la hora de su microencapsulación según el proceso aquí descrito, puesto que los grupos funcionales no repercuten en la formación de las emulsiones ni en la constitución de la pared de las microcápsulas de modo drástico. En los casos que ciertos compuestos sí que modifiquen grandemente las necesidades de emulsionantes especiales, los inventores han previsto estos casos, y para ello se emplean diferentes emulsionantes, polímeros, etc., limitados a los ya mencionados -pero capaces de superar cualquier dificultad en el proceso de los compuestos que seguidamente se mencionan-. Así pues, preferiblemente pero de modo no limitante, son objeto de microencapsulación:

(a) flavonoides en general y sus derivados: antocianidinas, pro-antocianidinas, oligómero-procianidina, isoflavonas, chalconas, catequina, epicatequina, epicatequina galato, epigalocatequina, epigalocatequina gallato, eriocitrina, narirutina, rutina, naringina, miricitrina, hesperidina, miricetina, eriodictiol, fisetina, quercetina, naringenina, luteolina, hesperitina, kaempferol, isorhamnetina, apigenina, rhamnetina, galangina, quercitrina, quercetina, diosmetina, taxifolina, galandina, biochanina A, genisteina, eriodictiol, chrysin,

hidroxitirosol, oleuropeina, glabridina, licochalcona, daidzeina, matairesinol, secoisolariciresinol, enterodiol, enterolactona, equol, desmetilangolensina, luteoferol, luteolinidina, apiferol, apigenidina, leucocianidina, taxifolina, pelargonidina

5 (b) ácidos fenólicos en general y sus derivados (preferiblemente ésteres, éteres, glicósidos, rutinósidos y aminos): gálico, sinápico, siringico, caféico, clorogénico, ferúlico, (o-, m- o p-) cumárico, guaiacol, (o-, m- o p-) cresol, 4-etilfenol, 4-vinilguaicol, eugenol, p-hidroxibenzoico, procatecuico, vainíllico, hidroxicinámico, taninos en general, taninos, elagiotaninos, galotaninos.

10 (c) amidas estructuralmente combinadas comprendiendo ácidos hidroxicinámicos y ácidos antranílicos (avenantramidas), avenasterol, ácidos hidroxicinámicos y ácidos grasos de cadena larga o alcoholes y derivados, indoleaminas (por ejemplo: melatonina), inulina; glutatión

(d) terpenoides en general y sus derivados, monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos, triterpenos, tetraterpenos, incluyendo los carotenoides: alfa-caroteno, fitotoeno, ciclo-artenol, beta-caroteno, ionona, zeaxantina, capsantina, astaxantina, cantaxantina, violaxantina, mutatoxantina, luteoxantina, auroxantina, neoxantina, apo-carotinal, xantofilas.

15 (e) antioxidantes habitualmente sintetizados para su uso en la industria alimentaria y sus derivados del tipo de butilhidroxianisol, 2,6-di-terc-butilhidroxitolueno, terc-butilhidroquinona, 2,6-di-terc-butilhidroquinona, 2,6-diterc-butil-4-hidroximetilfenol, 2,4,5-trihidroxibutirolfenona, y sus derivados, tocoferoles (ejemplo [alfa-, beta-, gamma- y delta-] tocoferol y sus derivados); tocotrienoles ([alfa-, beta-, gamma- y delta-] tocotrienoles y sus derivados) ; tococromanoles

20 (f) ácido alfa-lipoico; coenzima Q-10; escualeno; fitoestrógenos; clorofila; vitaminas; aminoácidos (preferiblemente L-arginina, cistina y cisteína) y sus correspondientes polímeros orgánicos como el glutatión, los oligopéptidos, péptidos- preferentemente carnitina y carnosina-, enzimas; inhibidores enzimáticos, (preferiblemente inhibidores de las fenolasas, oxigenasas, lipooxigenasas, y lipasas;

25 (g) así como minerales, oligoelementos, en especial aquellos que participan en procesos redox in vivo como el selenio, zinc y magnesio.

Las fuentes naturales de los compuestos arriba indicados, (o otros compuestos que todavía no se conocen, o de otros compuestos conocidos pero no indicados en el párrafo anterior), se pueden elegir entre el grupo de aditivos vegetales aceptados para u uso en alimentos,, considerando aditivos a algo que se añade al alimento, sea o no parte fundamental o predominante del alimento. También los inventores consideran que ciertas plantas productoras de narcóticos son fuentes de compuestos que pueden ser (o ya son usados) en medicina. Por último, en esta lista se incluyen plantas que son conocidas por sus cualidades terapéuticas y empleadas en herboricultura y para-farmacia. Esta lista es un ejemplo no limitantes de fuentes naturales de compuestos activos a microencapsular, tanto por aislamiento de compuestos, como por soluciones acuosas o alcohólicas como por dispersiones de hojas, tallos, raíces, flores frutos, etc. machacados hasta cierto grado de tamaño de partícula, así como de preparaciones liofilizadas de los mismos o pre-procesadas en cualquier modo. La lista referida es: *Medicago sativa*, *Pimonal officinalis*, *Hibiscus abelmoschus*, *Angelica archangelica*, *Galipea officinalis*, *Pimpinella anisum*, *Ferula foetida*, *Ferula asafetida*, *Melissa officinalis*, *Myroxylon pereirae*, *Ocimum basilicum*, *Pimenta acris*, *Citrus aurantium bergamia*, *Prunus amygdalus*, *Citrus aurantium*, *Citrus aurantium amara*, *Piper nigrum*, *Prunus spinosa*, *Aniba rosaeodora*, *Camelia oleifera*, *Camelia sinensis*, *Carum carvi*, *Elettaria cardamomum*, *Ceratonia siliqua*, *Daucus carota*, *Dacus carota sativa*, *Cascarilla*, *Apium graveolens*, *Anthemis nobilis*, *Matricaria chamomilla*, *Anthemis nobilis*, *Anthriscus cerefolium*, *Cichorium intybus*, *Cinnamomum spp.*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon nardus*, *Salvia sclarea*, *Trifolium*

pratense, Theobroma cacao, Coffea arabica, Coriandrium sativum, Cuminum cyminum, Taraxacum officinale,
 Sambucus nigra, Edelweiss, Helichrysum italicum, Foeniculum vulgare, Trigonella foenumgraecum,
 Arabidopsis spp., Zingiber officinale, Citrus grandis, Psidium guajava, Humulus lupulus, Marrubium vulgare,
 Monarda punctata, Hyssopus officinalis, Jasminum officinale, Jasminum grandiflorum, Juniperus spp. Juniperus
 5 comunis, Eucalyptus officinalis, Cola acuminata, Laurus nobilis, Lavandula spp. Lavandula hybrida, Taxus
 baccata, Citrus medica limonum, Myristica fragans, Marjorana hortensis, Thymus spp., Thymus officinalis,
 Thymus mastichina, Ilex paraguarensis, Chamomilla recutita, Saccharum officinarum, Myristica fragans, Allium
 cepa, Citrus aurantium dulcis, Carum petroselinum, Mentha pulegium, Mentha piperita, Pimenta officinalis,
 Chimaphila umbellata, Punica granatum, Pelargonium spp., Pelargonium graveolens, Rosmarinus officinalis,
 10 Crocus sativus, Salvia app., Salvia officinalis, Mentha spicata, Mentha viridis, Satureia hortensis, Satureja
 hortensis, Origanum majorana, Tamarindus indica, Citrus reticulata, Artemisia dracuncululus, Thea sinensis,
 Thymus vulgaris, Polianthes tuberosa, Curcuma longa, Prunus serotina, Thymus serpillum, Satureja Montana,
 Cananga odorata, Curcuma zedoaria, Plantago major, Adansonia digitata, Ananas comosus, Artocarpus altilis,
 Carica papaya, Lycopersicon esculentum, Cephalophus spp., Vaccinium myrtillus, Thymus aragonensis,
 15 Thymus spp., Citrus aurantiifolia, Citrus paradisi, Cucumis melo, Cucurbita spp., Vitis spp., Vitis vinifera,
 Mangifera indica, Lamiaceae (Coleus, Hedeoma, Hyptis, Leonurus, Leucas, Lycopus, Marrubium, Mentha,
 Monarda, Perilla, Prunella, Salvia, Stachys, Teucrium, Thymus), Cannabis spp., Digitalis lanata, Adonis
 vernalis, Aesculus hippocastanum, Frazinus rhychophylla, Agrimonia supatoria, Rauwolfia serpentina,
 Andrographis paniculata, Areca catechu, Atropa belladonna, Berberis vulgaris, Ardisia japonica, Betula alba,
 20 Ananas comosus, Camellia sinensis, Cinnamomum camphora, Camptotheca acuminata, Potentilla fragarioides,
 Erythroxylum coca, Papaver somniferum, Colchicum autumnale, Claviceps purpurea, Digitalis purpurea,
 Digitalis lanata, Glaucium flavum, Papaver somniferum, Gossypium spp., Hyoscyamus niger, Camptotheca
 acuminata, Piper methysticum, Lobelia inflata, Crotalaria sessiliflora, Nicotiana tabacum, Physostigma
 venenosum, Ephedra sinica, Cinchona ledgeriana, Rhododendron molle, Datura spp., Taxus brevifolia,
 25 Strychnos nux-vomica, Stevia rebaudiana, Theobroma cacao, Valeriana officinalis, Pausinystalia yohimbe,
 Ephedra spp. Crataegus oxyacantha, Hamamelis virginiana, Hydrastis Canadensis, Hypericum perforatum,
 Potentilla erecta, Ledum palustre, Salvia officinalis, Chamomilla recutita, Arctostaphylos uva, Eucommia
 ulmoides, Mytilus galloprovincialis, Diplazium esculentum, Manihot utilissima, Sauropous androgynus,
 Terminalia arjuna, Iberis amara, Crataegus spp., Arbutus unedo, Cynara scolymus, Amaranthus caudatus,
 30 Alchornea laxiflora, Alpinia officinarum, Xanthophyllum dendrorhous, Crataegus monogyna, Taxus
 yunnanensis, Bacopa monniera, Cistus albidus, Ocimum basilicum, Rosmarinus officinalis, Thymus vulgaris,
 Bixa orellana, Centella asiatica, Urtica dioica, Agrocybe aegerita, Crataegus laevigata, Satureja hortensis,
 Crocus sativus, Coccinia indica, Brugia malayi, Rubus spp., Silybum marianum, Cannabis spp., Cannabis
 sativa, Hypericum perforatum, Rhus coriaria, Olea europaea, Cyclopia intermedia, Ginkgo biloba, Lentinus
 35 lepideus, Pseudomonas putida, Sargassum micracanthum, Pinus radiata, Pinus sp., Phaseolus mungo, Cicer
 arietinum, Vigna sinensis, Phaseolus aureus, Dolichos lablab, Cajanus cajan, Vicia faba, Dolichos biflorus,
 Phaseolus lunatus, Phaseolus aconitifolius, Pisum sativum, Psophocarpus tetragonolobus, Arachis hypogaea,
 Brassica spp., Brassica campestris, Brassica napus, Valeriana officinalis, Echinacea purpurea, Echinacea
 pallida, Echinacea angustifolia, Glycyrrhiza glabra, Seronea repens, Vaccinium macrocarpon, Tancetum
 40 parthenium, Tancetum parthenium, Vaccinium macrocarpon, cereales, frutales de hueso, bayas silvestres,
 legumbres, té verde, té negro y microorganismos productores de ácidos grasos de cadena larga insaturados.

Otro asunto que preocupa enormemente a una parte considerable de la población en países desarrollados es el consumo de organismos probióticos, entendiendo como tales, a organismos que por producto de su metabolismo o por su presencia en el organismo, protegen contra ciertas infecciones (en especial Candidiasis), reducen niveles de colesterol y glicéridos, y ayudan en procesos de digestión y enfermedades del aparato digestivo. Estos organismos son generalmente introducidos en yogures y productos lácteos, pero mediante la presente invención, hemos constatado que es posible microencapsular bacterias, hongos y levaduras vivas presentes en los citados productos prebióticos, permaneciendo vivas tras la microencapsulación y tras procesos usuales en la industria alimentaria, como homogeneización pasteurización e incluso ciertos tipos de horneado, así como cocción casera. Esto implica una novedad y la posibilidad de añadir estos organismos probióticos a un inmenso abanico de tipos de productos alimentarios. Los organismos probióticos son elegidos preferiblemente pero no de modo limitante entre los grupos: *Lactobacillus casei*., *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. crispatus*, *L. bulgaricus*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *Bifidobacterium infantis*, *B. bifidum*, *Streptococcus thermophilus*, *S. bovis*, *Enterococcus durans*, *E. faecalis*, *E. Gallinarum*, *Escherichia coli*, *Propionibacterium freudenreichii*, o bacterias u hongos o levaduras modificadas genéticamente en las que los genes beneficios caracterizadores de las propiedades beneficiosas de las bacteria prebióticas, han sido insertados y también un proceso de microencapsulación de materiales biológicamente activos de acuerdo a cualquier combinación adecuada de las reivindicaciones procedente caracterizado porque al menos uno de los materiales biológicamente activos presente en la formulación consiste en una levaduras probióticas, preferiblemente elegidas entre el grupo de: *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Rhodotorula rubra*, *Sporobolomyces puniceus*, *Aureobasidium pullulans*, *Leucosporidium scottii*, y también un proceso de microencapsulación caracterizado porque al menos on de los materiales biológicamente activos presente en la formulación consiste en hongos probióticos, preferiblemente aquellos hongos presentes en, o coincidentes con, o provenientes de, quesos.

El interés por el consumo de ácidos grasos insaturados omega-3/6/9 es un tema que ha sido investigado por una amplia comunidad científica, así como agencias gubernamentales, Médicas y Universidades mostrados los beneficios de estos compuestos. Un número considerable de patentes ha sido presentado reivindicando el uso de estos compuestos, tras la investigación pública, en muchos casos sin ningún dato adicional más que los ya conocidos públicamente. La intención del solicitante no es reivindicar el uso de estos compuestos ni cualquier combinación de ellos en un ratio determinado (aspecto en el que se basan muchas patentes para atribuirse novedad), sino el uso de estos compuestos en las microcápsulas descritas, en virtud de la protección contra la oxidación de estos compuestos UFAs de forma mucho más efectiva que lo conocido en el estado de la técnica. Así mismo, los inventores consideran que el uso combinado de UFAs con esfingolípidos, y más especialmente con cerebrósidos, es recomendable para un desarrollo mejorado del cerebro y, más especialmente de la corteza cerebral y otros lugares (por ejemplo, retina) en donde hay un desarrollo neuronal preferente.. La combinación del uso de cerebrósidos con UFAs no pertenece al estado de la técnica, ni tampoco su administración por medio de compuestos covalentemente unidos (A) (A) y (B), por ejemplo, sintetizados de acuerdo con Dondoni, A. et al., (1990), *J.Org.Chem.* 55 (5): 1439-1446, y Schmidt, R.R., Zimmermann, P., (1986), *Tetrahedron* 27 (4): 481-484, así como especificaciones técnicas pertenecientes al conocimiento común

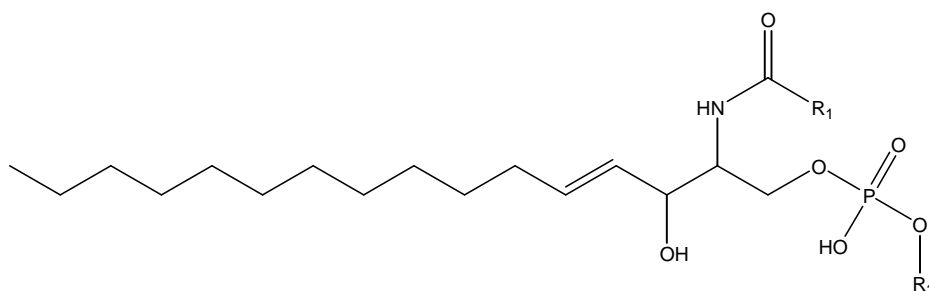
Los inventores han sintetizado el compuesto B, R3: CH₂CH₃, R4: CO-(CH₂)₂-(CH₂-CH=CH)₄-CH₂-CH₃, con un rendimiento basado en el contenido inicial de ácido araquidónico del 35 %. Debido a la pequeña cantidad sintetizada, solo fue posible obtener datos por LC-MS data (Agilent 1100 Series LC/MSD Trap), confirmando

que el compuesto tenía una fragmentación típica de esfingolípidos y también del ácido araquidónico (picos M/Z: 79, 67, 91, 55, 108, 318 [M+]). El análisis de la rama de esfingolípido fue realizado también tras esterificación y benzoilación. No observamos absorción UV a 205 nm, indicando que los dobles enlaces permanecieron sin transisomerización. Así pues, en la presente invención mostramos un proceso de microencapsulación caracterizado porque al menos uno de los compuestos biológicamente activos se elige entre el grupo de compuestos que corresponden a las siguientes estructuras moleculares (A) y (B), en todas sus variantes estereoisoméricas, y/o isoméricas:

5

Compuesto(s) A

10



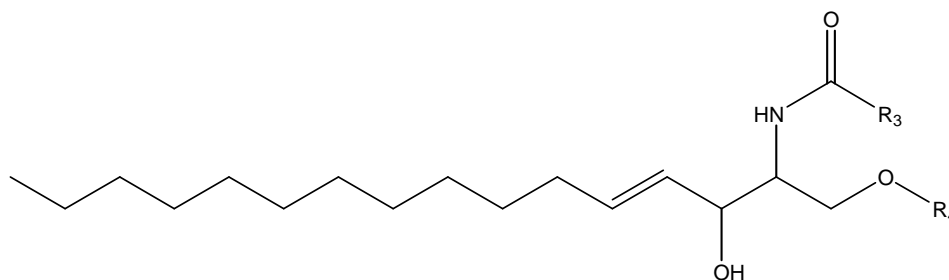
en donde,

R₁ es un éster de un ácido graso omega-3 ó de un ácido graso omega-6 ó de un ácido graso omega-9

15

R₂ es un éster de un ácido graso omega-3 ó de un ácido graso omega-6

Compuesto(s) B



20

en donde,

R₃ es un éster de un ácido graso omega-3 ó de un ácido graso omega-6 ó de un ácido graso omega-9

R₄ es un éster de un ácido graso omega-3 ó de un ácido graso omega-6 ó de un ácido graso omega-9

ó de un oligosacárido unido covalentemente

25

Estos compuestos A y B proporcionan al cuerpo una fuente adicional de cerebrósidos y/o esfingolípidos, un elemento hasta ahora no considerado en la literatura de patentes o incluso en la literatura científica, Una de las realizaciones consiste en un proceso de microencapsulación caracterizado porque al menos uno de los materiales biológicamente activos presentes en la formulación consiste preferiblemente en,

al menos, un ácido graso de cadena larga (al menos 6 carbonos) insaturado, en cualquier configuración isomérica y/o estereoquímica, así como derivados de él (los) mismo(s) -preferiblemente ésteres, éteres, glicéridos, fosfolípidos, esfingolípidos y más con mayor preferencia, diglicéridos, triglicéridos, fosfolípidos, compuestos (A) y/o (B)- esteradiónico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico, docosapentaenoico, linoleico conjugado, linolénico, gamma-linoleico, alfa-linoleico, dihomogamma-linoleico, araquidónico y/o oleico.

Los ácidos grasos se eligen preferiblemente del grupo de ácidos: oleico, estereadiónico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico, docosapentaenoico, linoleico, linolénico, gamma-linoleico, alfa-linoleico, dihomogamma-linoleico, araquidónico.

Estos ácidos grasos pueden estar conjugados con otros compuestos que los liberen posteriormente en condiciones del estómago o aparato digestivo o procesos enzimáticos en el hígado, así pues, de acuerdo con esta invención, los ácidos grasos pueden estar conjugados, manteniendo o no manteniendo todas las insaturaciones) y /o estar ligados de forma covalente con glicéridos (preferentemente esteres- mono-, di- y tri-glicéridos; fosfolípidos; esfingolípidos; mielina; aminas; amidas; éteres; azúcares, glicósidos, oligosacáridos, polisacáridos; heterociclos nitrogenados y/o oxigenados, y/o fosforados, y/o sulfurados o anillos aromáticos sustituidos.

Multitud de virtudes medicinales están asociadas con el uso de ácidos grasos, pero el objeto de la invención es conseguir que el efecto medicinal realmente sea posible gracias a que estos UFAs que son muy lábiles, en especial el ácido araquidónico, por su elevado número de insaturaciones (4), lleguen al consumidor en perfectas condiciones. Los inventores se han dado cuenta de que la adición simple de UFAs a alimentos, sin protección alguna, resulta en la formación de productos no deseables (aldehídos, cetonas, peróxidos, etc.) en el alimento. La novedad de esta invención estriba en que estos ácidos grasos se protegen mediante la singularidad de las microcápsulas descritas, por la provisión de antioxidantes en la cercanía física de los UFAs encapsulados, y la procedencia natural, en su caso, de los antioxidantes, así como las propiedades de liberación controlada del contenido de las microcápsulas, que en una realización muy preferida, permanecen estables a pH > 3, y por lo tanto, en la mayoría de pH presentes en alimentos y son destruidas solamente en el estómago, cuando el pH es menos a 3.

Los ácidos grasos insaturados de cadena larga (de más de 6 carbonos) provienen de fuentes naturales, los w-6 y w-9 son comunes en plantas, pero los w-3 son más difíciles de encontrar en el reino vegetal, y abundan en pescados. Además de las fuentes usuales de w-6 y w-9, fuentes que también proporcionen w-3 son de::

(a) origen vegetal: Boraginaceae, (*Borago spp. Borago officinalis*); *Linaceae (Linum usitatissimum, Linum arvense, Linum sativum)*; *Onograceae (Oenothera biennis)*; *Grossulariaceae (Ribes nigrum)*, *Zea Mais*, *Gossypium hirsutum*, *Carthamus tinctorius*, *Glycine max*.

(b) algas, con mayor preferencia de las familias: *Gracilariaceae (Gracilaria spp)*; *Gigartinaceae (Iridaea spp.)*; *Kallymeniaceae (Callopyllis variegata)*; *Durvillaceae (Durvillaea antarctica)*; *Solieriaceae (Euchema cottoni)*; *Gelidiaceae (Gelidium spp)*; *Lossoniaceae (Lesonia nigrescens)*; *Gigartinaceae (Gigartina spp.)*; *Lessoniaceae (Macrocystis spp.)*; *Bangiaceae (Porphyra spp.)* y *Cryptocodinium spp*.

(c) origen animal, generalmente de aceites de pescado, con mayor preferencia de las familias: *Engaulidae (Lycengraulis olidus)*; *Clupeidae (Sardina pilchardus)*; *Scomberesocidae (Scomberesox saurus scombroides)*; *Berycidae (Beryx splendens)*; *Engraulidae (Engraulis ringens)*; *Ophichthyidae (Ophichthus spp.)*; *Serranidae (Hemilutjanus macrophthalmus)*; *Scombridae (Thunnus spp., en especial, Thunnus albacares, Thunnus alalunga, Thunnus*

5 *obesus*); *Sciaenidae* (*Cynoscion analis*); *Carcharhinidae*; *Normanichthyidae* (*Normanichthys crockeri*); *Percichthyidae* (*Polyprion oxygeneios*); *Nototheniidae* (*bacalao de profundidad*); *Apogonidae* (*Epigonus crassicaudus*); *Branchiostegidae* (*Prolatilus jugularis*); *Cheilodactylidae* (*Cheilodactylus gayi*); *Gadidae* (*Salilota australis*); *Pomadasyidae*; *Scorpaenidae*; *Serranidae*;
 10 *Cyprinidae*; *Monacanthidae*; *Centrolophidae*; *Ophidiidae*; *Scorpaenidae*; *Coryphaenidae*; *Channichthyidae*; *Sciaenidae*; *Aplodactylidae*; *Carangidae* (*Trachurus symmetricus murphyi*); *Bothidae* (*Paralichthys microps*); *Mugilidae*; *Clupeidae*; *Priacathidae*; *Merlucciidae* (*Merluccius gayi gayi*, *Merluccius australis*); *Macruronidae* (*Macruronus magellanicus*); *Gadidae* (*Micromesistius australis*); *Girellidae*; *Trachichthyidae*; *Carangidae*; *Kyphosidae*; *Callorhynchidae*;
 15 *Labridae* ; *Macrouridae*; *Atherinidae*; *Gobiesocidae*; *Alopiidae*; *Galaxiidae*; *Rajidae*; *Bramidae*; *Carangidae*; *Nototheniidae*; *Scianidae*; *Mugiloididae*; *Salmonidae* (*Salmo spp.*, *Salmo salar*, *Oncorhynchus spp.*, *Oncorhynchus kisutch*, *Oncorhynchus mykiss*, *Oncorhynchus tshawytscha*); *Clupeidae* (*Sardinops spp.*, *Sardinops sagax*, *Clupea bentincki*); *Pomadasyidae*; *Gempylidae*; *Lamnidae* (*Isurus spp.*, *Isurus oxyrinchus*); *Triakidae*; *Clinidae*; *Scophthalmidae*; *Labridae*; de especial preferencia son las especies *Atlantic mackerel*, *Engraulis encrasicolus*, *Pomatomus saltatrix*, *Sarda sarda*, *Sardina pilchardus*, *Brevoortia tyrannus*, *Brevoortia patronus*, *Chloroscombrus chrysurus*, *Auxis thazard*, *Scomber scombrus*, *Scomber japonicus*, *Alosa aestivalis*, *Clupea harengus*, *Etrumeus teres*, *Argentina silus*, *Ictalurus punctatus*.

20 (d) de origen microbiano, con mayor preferencia: *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Schizochytrium spp.*, *Thraustochytrium aureum*, *Thraustochytrium roseum*, *Thraustochytrium striatum*, *Mortiriella spp.*, *Phytium spp.*, *Aspergillus spp.* *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus sydowi*, *Fusarium spp.*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum*

25 Una realización de la invención es una formulación microencapsulada destinada a incrementar el desarrollo neuronal, en especial del cerebro y más especialmente en fetos, recién nacidos, lactantes y niños caracterizada porque al menos existe un compuesto caracterizado por las formulas B y/o A.

30 Otra realización es una formulación microencapsulada destinada a incrementar la inteligencia potencial en fetos y bebés lactantes de leche materna -mediante el consumo de la leche materna con un vehículo alimentario apropiado en el que se añade la formulación microencapsulada-, en formulaciones de leche para lactantes y en niños, caracterizada porque contiene ácidos grasos omega-3 y omega-6 en una proporción entre 0,5 y 10,0, preferiblemente entre 1,4 y 5,7 y además contiene cerebrósidos en un porcentaje entre el 0,005 % y 1 % o/y opcionalmente compuestos A y/o B. Existe un mar de combinaciones de ratios entre omega-3 y omega-6, que no tienen una base científica firme, y muchos artículos científicos difieren en las
 35 recomendaciones. Por contra, existen patentes que cubren todos los rangos imaginables de combinaciones. Los inventores de la presente invención adoptan un rango que está dentro de los márgenes más aceptados por las autoridades médicas de diversos países. La novedad de esta formulación es la incorporación de cerebrósidos y opcionalmente compuesto A o B, así como el método de proporcionar al consumidor UFAs con ausencia de malos olores o productos de degradación de los UFAs. Los inventores han comprobado que en un
 40 proceso industrial empleado para la fabricación de leche con ácidos w-3, el 50 % de los w-3 originales se pierde durante la homogenización y pasteurización. Con nuestras microcápsulas, a nivel industrial, en el peor de los casos probados a nivel industrial (planta piloto) obtenemos un máximo de pérdidas de w-3 del 7 %. Del

mismo modo elegimos una formulación microencapsulada para su empleo en fórmulas infantiles, de acuerdo con la reivindicación 25, caracterizada porque opcionalmente se prescinde de cualquier ácido graso omega-6 e, independientemente, opcionalmente se añade ácido gamma linolénico en una proporción del 1,25 %.. También en una realización preferente, empleamos una formulación microencapsulada destinada a

5 incrementar el desarrollo de la corteza cerebral y la inteligencia, caracterizada porque contiene ácidos grasos omega-3 y omega-6 en una proporción entre 0,5 y 10,0, preferiblemente entre 1,4 y 5,7 y además contiene cerebrósidos en un porcentaje entre el 0,005 % y 1 % y opcionalmente compuestos A y/o B.

Los inventores han formulado una bebida (refrescante) conteniendo una formulación de microcápsulas,, caracterizada porque dicha bebida contiene microcápsulas, y estas a su vez contienen en su fase de aceite

10 ácidos omega-6 y/o omega-3, opcionalmente con antioxidantes añadidos en la fase acuosa de la microcápsula o en la fase hidrofóbica de la microcápsula o en ambas, y la bebida contiene aromas o extractos de: uva, piña y al menos algún cítrico, preferiblemente entre el grupo de tangerina, naranja, mandarina, limón, lima, y los ácidos grasos omega-3 y/o omega-6 permanecen estables en la bebida, una vez finalizado todo el proceso industrial, incluyendo procesos usuales de estabilización microbiológica como la pasteurización, al menos

15 durante un mes, con una pérdida de omega-3 menor al 7, . %. Tras más de un centenar de pruebas para enmascarar el aroma extraño proporcionado por las fuentes de omega-3, al final, los inventores intentaron la mejor solución con un panel de expertos en catas que no pudo detectar la presencia de aceite de pescado o de lino. Otra realización de la invención es zumo conteniendo microcápsulas de nuestra invención caracterizado porque (a) las microcápsulas contienen ácidos omega-3 provenientes de una formulación comercial basada en

20 aceite comestible de lino; (b) la fase de aceite contiene el aceite de lino y un emulsionante basado en compuestos de soja (c) la fase de agua contiene una mezcla de diferentes subclases de hidrocoloides del tipo de los alginatos y/o goma arábiga y/o kappa-carragenato y/o goma guar, además de un emulsionante primario alimentario de HLB entre 10 y 14, y un modificador de viscosidad alimentario (d) y el pH de la formulación de microcápsulas esta en el rango de 3-6, el tamaño en el percentil 50 de las microcápsulas recién producidas

25 está en el rango 1-10 μm . (e) el componente mayoritario del zumo es zumo de naranja. Opcionalmente el zumo es caracterizado porque las frutas originarias del zumo se eligen del grupo: cítricos, piña, uva y porque contiene (todos los datos referidos a 150 mL de zumo) omega-3 en el rango 20-200 mg, omega-6 en el rango 10-100 mg y w-9 en el rango 5-50 mg; con un ratio de omega-3 / omega-6 de alrededor de 3 / 1.

30 "Jugando" principalmente con el tipo de hidrocoloide o hidrogel empleado, los inventores son capaces de formular microcápsulas que se destruyen a pHs bajos (como el presente en el estómago humano) o son resistentes a pHs bajos (y pueden pasar por el estómago -conveniente para ciertas hormonas como la insulina -y ser rota la pared al incrementarse el pH en el intestino), así como paredes que son atacables por ciertas enzimas (por ejemplo, usando almidón en la pared, las amilasas destruyen la pared), o por presión al ser

35 masticadas en la boca, o al ser gelificadas en presencia de saliva, soltando un aroma (o. ej. mentol) de forma muy rápida. Puesto que en ningún caso la invención está limitada a alimentación humana, las microcápsulas pueden ser diseñadas para las condiciones particulares de cada animal al que vayan a ser administradas (por ejemplo, el cerdo posee abundantes amilasas en la boca, a diferencia del hombre, y una microcápsula formada con almidón sería apropiada para dar un sabor a la comida agradable para el cerdo para incrementar la

40 ingestión de comida y por tanto su peso, y el beneficio para el granjero).

Las microcápsulas y formulaciones apropiadas son compatibles y deseables para alimentos en los que los ingredientes activos proceden de agricultura (término que incluye actividades agropecuarias y piscícolas)

"biológica" y/o "ecológica", puesto que esto cae en la línea de una alimentación sana sin intervención de productos químicos extraños a la naturaleza. Obviamente, en esta realización, como en muchas otras ya mencionadas, todos los materiales usados deben ser permitidos para la alimentación.

5 En una realización de la invención, con un espíritu completamente contrario al expresado en la reivindicación anterior, la formulación emplea para la obtención de ingredientes activos, organismos genéticamente modificados (GMOs), variedades vegetales híbridas u obtenidas mediante selección humana, así como cultivos microbiológicos seleccionados mediante cualquier técnica. Esta realización es posible pero no deseada porque los consumidores en general tienden a evitar los GMOs.

10 Además de usos alimentarios, las microcápsulas producidas según nuestros procesos pueden incluirse en formulaciones medicinales, sean en combinación con principios activos no presentes en las microcápsulas o siendo los ingredientes activos presentes en las microcápsulas o (formulación de las microcápsulas) los únicos ingredientes activos de la preparación medicinal, incluyendo bajo el término preparación medicinal también materiales de contraste en radiología, semillas para radioterapia, termoterapia o
15 terapia por irradiación de luz de cualquier longitud de onda. En una realización preferente, contrastes para estudios radiológicos son muy apropiados usados (como ingredientes activos) en combinación con microcápsulas que admiten el paso por el aparato digestivo sin ser degradadas, y entonces ser excretadas, para fines médicos (detección de sangrados por materiales de las microcápsulas sensibles a enzimas propias del plasma sanguíneo, por ejemplo)

20 Puesto que muchos de los ingredientes activos beneficiosos para la salud son lábiles, especialmente a la oxidación, una realización de la invención es mantener las capsulas separadas del alimento o bebida hasta unos momentos antes del consumo final, opcionalmente con un receptáculo que al ser apretado libera la formulación, preferentemente seca, al alimento o a la bebida.

25 Para mejor comprensión de la invención, se adjuntan 19 figuras, cuya explicación se comprende mejor atendiendo al ejemplo al que están referidas.

EJEMPLOS

30 Los siguientes ejemplos se proporcionan a efectos ilustrativos y no pueden ser considerados como una restricción de las formulaciones reivindicadas, en la medida que los cambios a partir de los ejemplos aquí presentados son superados fácilmente en formulaciones de laboratorio y/o en la producción en masa.

35 Asimismo, el solicitante ha desarrollado métodos propios para analizar formulaciones hechas por medio de los procedimientos aquí revelados, para determinar de forma no ambigua, cuando una formulación ha sido hecha con la información proporcionada en el presente documento. Estos métodos de análisis están también disponibles para cumplir con las regulaciones gubernamentales sobre salud para la aprobación de productos nuevos para el mercado.

40 Ejemplo 1.

En este ejemplo se describieron los ingredientes activos utilizados para hacer una formaulación adecuada para su aplicación al zumo de naranja.

ES 2 630 627 T3

1.1. - Ingredientes

fase de aceite [%]

Flaxoil 25,00

5 Emulpur 1,00

Fase de Agua

Dest. Riegue* 20,00

extracto de romero 2,80

Zumo de zanahorias 7,30

10 Orlistat (inhibidor del lipasa) 1,00

1.2. - Encapsulación e ingredientes de la emulsificación [%]

Solución de alginato * * 25,00

Goma guar (4 % en el agua) 15,40

15 Lamegin 2,50

Keltrol 0,30

* Más 0,5 % CaCl₂, 0,1 % ácido ascórbico, 0,08 % nipagil [todos en el agua].

* * Solución de alginato = 5 % LB de Manucol en agua

20

1.2 Proceso:

-fase de aceite: pesar en una botella, homogeneizar en un baño ultrasónico

- fase de agua pesar en una botella, homogeneizar en un baño ultrasónico

25

-Emulsión W/O poner el aceite en la fase agua en el reactor, hacer la

emulsión con agitador en 7350 rpm, 25 min

-Emulsión (W/O)/W añadir la solución de alginato, agitar a 350 rpm a 35 °C

-Disminución de la partícula poco después de agregar la goma arábiga, agitar a 8350 rpm a 35 °C

30

-Disminuir adicionalmente del tamaño de la partícula poco después, añadir Lamegin, Ultraturax 8135 rpm a 35 °C

-Curado de las microcápsulas 3000 rpm durante 120 min a 75 °C

-Adición del modificante de la viscosidad después de 20 min añadir Keltrol, a 5000 rpm

-Enfrado parar el baño de agua, enfriar a 5-10 °C

35

- Llenado llenar directamente en el paquete.

Parámetros fisicoquímicos:

pH = 6,5

tamaño de partícula:

D (v;0,5) : 12,57 µM D [mediana] (v;0,9) : 26,39 µM [percentil 90]

40

Ejemplos 2 a 11

En la tabla 1, presentamos una serie de procesos de microencapsulación. Estas microencapsulaciones se han hecho siguiendo el procedimiento general descrito arriba. Los datos proporcionados en patentes previas no son en muchos casos suficientes para reproducir u obtener las formulaciones reclamadas.

Tanto los componentes como los resultados de las pruebas se muestran en la tabla 1.

- 5 Los componentes de la formulación ingredientes activos se describen, en la fase aceite y también en la fase de agua. Los datos proporcionados acerca del tamaño de partícula corresponden al percentil 50 -D (V; 0,5)- y el percentil 90 -D (V; 0,9).

Podemos ver en la última fila la calidad de la formulación resultante. Como podemos ver, los cambios pequeños en la composición pueden llevar a un material microencapsulado mal formulado.

10

El ejemplo 12

En la presente ejecución, nosotros mostramos la liberación de microcápsulas en un cierto pH. Microcápsulas rotas en el pH de estómago, mientras las microcápsulas permanecen intactas en el yogur, que es también ácido (pero no tan sumamente ácido como el estómago).

- 15 El objetivo del presente ejemplo es probar la tasa de la liberación de riboflavina microencapsulada (según la presente invención) presente en un yogur de probiótico.

El yogur se ha preparado (20 kg) de una forma tradicional, hecho de mano, utilizando un cultivo "interno" de fermentación mantenido desde la última producción de yogur. La composición de la formulación (el porcentaje respecto al total de ingredientes activos) es:

- 20 -Riboflavina 100 µG/ kg yogur (menos de 0,1 % de los ingredientes activos totales)
Lactobacillus casei 10 % (la solución en agua de un cultivo con 500 colonias por cm²)
-el extracto de sativa de Avena 90 %

- 25 La formulación se ha preparado siguiendo el procedimiento general de encapsulación, con alginatos como el hidrocoloide ligado de cruz y una mezcla de goma de siliqua de Ceratonia e hidrocoloides arábigos como protector.

Un material no-encapsulado se ha incluido en el experimento para mostrar las diferencias, y también una muestra en blanco.

- 30 A) Prueba en medios ácidos (1 HCl, el tampón a pH 2,5) - condiciones en el estómago
B) Prueba la tasa de liberación de vitamina B2, en una solución isotónica a pH 4,0
- condiciones en un yogur orgánico -producido en una granja orgánica.

A) resultado en medios ácidos

Se muestra claramente, que se produce liberación de vitamina B2 de la Fformulación GAT 032541 en las condiciones de estómago.

- 35 La cantidad promedio de riboflavina liberada que sucede después que 30 minutos. es 21,5 µG/el kg [es decir, una conversión de la muestra ponderada de ca. 30 - 40 %]; después de 60 minutos, son liberados 25,7 µG/el kg [es decir, una conversión de la muestra ponderada de ca. 40 - 50 %].

- 40 La tasa de la liberación de la materia de no-encapsulada es, como se esperaba, más alta. Después de 30 minutos, el promedio de cantidad de vitamina B2 liberada es 46,8 % [es decir, 40 - 50 % de la muestra ponderada]; después que 60 minutos, son liberados 47,2 µG/el kg [es decir, una conversión de la muestra ponderada de ca. 65 - 75 %].

El blanco no mostró ninguna liberación (el pico líquido de gas de cromatografía) de riboflavina.

B resultado en medio yogur-

5 La Formulación GAT 032541 no libera ninguna vitamina B2, mientras está en el yogur, por lo menos para mes y medio.

La muestra no-encapsulada mostró una liberación leve de 0,021 µg/G después de 30 minutos, y 0,032 µg/G después de 60 minutos.

Las muestras en blanco no mostraron ningún cambio notable en el contenido de vitamina B2.

10

El ejemplo 13.

Uno de los aspectos innovadores de la presente invención es su capacidad para mantener los ingredientes activos estables durante más tiempo con respecto al estado de la técnica sobre microencapsulación e incluso respecto a cualquier otro método de formulación. Esto obviamente no se aplica en ingredientes activos estables (E. G. los minerales).

15

Hemos realizado las pruebas de la habilidad de almacenamiento manteniendo los ingredientes activos iguales.

El proceso de la encapsulación es básicamente como el presentado en el ejemplo 1, con la excepción que la pared secundaria se forma con goma de xantana (de Fluka), el emulsionante es Softenol® 3767 (1 %) y el modificante de la viscosidad es Glycosperse® (1 %), la fuente de W-3 y W-6 ácidos adiposos eran el aceite de pescado (harengus de Clupea).

20

Los resultados de este experimento se muestran en la tabla siguiente, donde apreciamos que la estabilidad de los ácidos adiposos, en e 60 días a 45° C es excepcional.

	Ácido Palmítico	Ácido Esteárico	Ácido oleico	Ácido linoleico	Ácido alpha-linolénico	Ácidos w-3
	% en el aceite	% en el aceite	% en el aceite	% en el aceite	% en el aceite	% en el aceite
d=0	1,1	1,4	2,9	2,8	2,7	7,8
d=30; 4 °C	1,1	1,4	2,7	2,6	2,5	7,8
d=30; 25 °C	1,1	1,4	2,6	2,6	2,6	7,7
d=30; 45°C	1,1	1,3	2,6	2,5	2,5	7,7
d=60; 45°C	1,1	1,3	2,4	2,5	2,4	7,5

25

Ejemplo 14.

El mayor problema asociado con nuevas formulaciones desarrolladas es la dificultad de inferir los resultados verdaderos de formulaciones pasadas. En la medida que muchos componentes (y las cantidades) pueden estar presentes en una microencapsulación, el número de experimentos necesarios para una validación estadística buena es enormemente alto. Hemos superado este problema con el las técnicas estadísticas del estado de la técnica asociadas al diseño experimental. Hemos utilizado un diseño experimental Plackett-Burman Folded (solo estamos interesados en los factores principales, y no en interacciones para el propósito de este análisis), con 3 puntos centrales y un nivel aceptable de grados de error de la libertad (19). Esto

30

ES 2 630 627 T3

justifica 27 carreras (en vez de 64 necesitadas en un diseño experimental regular -todas combinaciones) para investigar la influencia en la formulación final de:

- la fase de aceite (el aceite de grano de uva [50 %] + el aceite [50 %] de pez de salmón) : 2 niveles, 10 %-30 %
- 5 - el extracto Natural (uva marca [50 %] + te verde descafeinado [50 %]) : 2 niveles, 10 %-20 %
- la solución de Alginato: 2 niveles, 5 %-10 %
- la solución de goma de Carragenano: 2 niveles, 5 %-10 %
- extracto de Yuca glauca: 2 niveles, 3 %-5 %
- homogeneización: 2 niveles, presente-no presente
- 10 - Atomización: 2 niveles, presente-no presente

La variable independiente, es en este caso, un valor que refleja la adecuación de la microencapsulación para propósitos industriales, en particular, para añadir a refrescos. Para evaluar este "índice de aceptabilidad" hemos utilizado la expresión: $AcclIndex =$

$$15 \quad (0,20 * \text{tamaño de partícula} + 0,30 * \text{Densidad} + 0,15 \text{ polímeros sin reacción} + 0,15 * \text{grado de multien capsulación} + 0,20 * \text{ingredientes no-encapsulados}) * 100$$

1

20 Hemos desarrollado, mediante una serie de experimentos una tabla que da, para cada Tamaño de Partícula (y las otras variables) un valor en medio 0 y 1. La "densidad" (no el significado verdadero de la densidad) puede tener el valor 0, porque fuera de un rango definido, la densidad no se considera; también, el índice de la aceptabilidad depende de las limitaciones de las otras variables (por ejemplo, si el grado de polímeros sin reacción es más alto que 40 %, damos al índice de aceptabilidad un valor de 0, no importa el valor del resto de los parámetros). Los valores constantes que cuentan para el peso de cada valor, se han desarrollado

25 especialmente para refrescos. Es evidente que detrás de este diseño experimental hay mucho trabajo implicado.

De esta manera, nosotros obtenemos (Statgraphics®) de un diseño aleatorio como sigue, siendo "-1" el nivel más bajo y "1" el nivel más alto (ultima columna, el Índice de Aceptabilidad)

30

vuelta/prueba	aceite	Planta	Algin.	Xant.	Yuca	Hom.	Atomiz	Ac.Índice
1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0
2	1,0	-1,0	-1,0	-1,0	1,0	-1,0	-1,0	10
3	1,0	-1,0	1,0	1,0	-1,0	1,0	-1,0	95
35 4	1,0	1,0	-1,0	1,0	1,0	-1,0	1,0	60
5	1,0	1,0	-1,0	-1,0	-1,0	1,0	-1,0	84
6	-1,0	-1,0	1,0	-1,0	1,0	1,0	1,0	32
7	1,0	-1,0	1,0	-1,0	-1,0	-1,0	1,0	20
8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0
40 9	-1,0	1,0	1,0	1,0	-1,0	-1,0	-1,0	60
10	-1,0	-1,0	-1,0	1,0	-1,0	-1,0	1,0	30
11	-1,0	-1,0	1,0	1,0	1,0	-1,0	1,0	28
12	1,0	1,0	-1,0	1,0	-1,0	-1,0	-1,0	45
13	1,0	-1,0	1,0	1,0	1,0	-1,0	-1,0	31
45 14	-1,0	1,0	1,0	1,0	-1,0	1,0	1,0	69
15	-1,0	-1,0	-1,0	1,0	1,0	1,0	-1,0	85
16	1,0	-1,0	-1,0	-1,0	1,0	1,0	1,0	93

	17	-1,0	1,0	-1,0	-1,0	1,0	-1,0	1,0	15
	18	-1,0	-1,0	-1,0	-1,0	-1,0	-1,0	-1,0	7
	19	1,0	-1,0	-1,0	1,0	-1,0	1,0	1,0	54
	20	-1,0	1,0	-1,0	1,0	1,0	1,0	-1,0	61
5	21	-1,0	-1,0	1,0	-1,0	-1,0	1,0	-1,0	12
	22	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	69
	23	1,0	1,0	1,0	-1,0	1,0	1,0	-1,0	81
	24	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0
	25	-1,0	1,0	1,0	-1,0	1,0	-1,0	-1,0	20
10	26	1,0	1,0	1,0	-1,0	-1,0	-1,0	1,0	17
	27	-1,0	1,0	-1,0	-1,0	-1,0	1,0	1,0	72

Los resultados del análisis de ANOVA mostraron en la Tabla 2 exposición que todos los parámetros estudiados influyen la aceptabilidad final del producto. Esto viene indicado por el P-valor (<0,05 en todos los casos), como cualquier experto en estadística apreciaría. Así, cuando se desarrolla una formulación mejorar la salud en refrescos,, nosotros no podemos olvidar cualquiera de los efectos de todas las variables probadas. Es notable que la mayoría de los parámetros importantes de este tipo de microencapsulación para refrescos, el homogeneización tiene una influencia extrema en las microcápsulas finales.

El ejemplo 15.

Hemos probado la estabilidad de una formulación (según el ejemplo 9, mejorando los resultados previos con la adición de un emulsionante secundario -rango 65, 5 %-) de esporas de subtilis de Bacilo. Luego probamos que realmente las esporas eran viables (sembrando en dextrosa de patata -agar con el desarrollo de colonias).

Los resultados de la estabilidad del microcápsulas, basado en la estabilidad del tamaño de la partícula de la dispersión, en diferentes tiempos de envejecimiento, se muestran en al Fig. 9. Allí se muestra la distribución del tamaño de partículas de las microcápsulas (el diámetro exterior, en el caso de multiencapsulación). Las curvas diferentes obedecen a tiempos diferentes de almacenamiento y temperaturas.

- A = inicial (tiempo=0, T = 25 °C)
- B = después que 60 días en 3 °C
- C = después que 60 días en 25 °C
- D = después que 90 días en 25 °C

La forma de las curvas es homogénea, significando que la descomposición de las cápsulas no ha ocurrido. Nótese que el tamaño de la partícula es el de las microcápsulas (los valores se trazan cuando el contador ha llegado a 1,000,000 de medidas de tamaño de partículas). Si tuvimos esporas liberadas en los medios, la forma de la curva habría cambiado, y habría cambiado también a la izquierda, porque las esporas de subtilis de Bacilo están en el rango 1 a 2 µM.

El ejemplo 16.

En el método del análisis de formulaciones, hemos obtenido los esquemas de la viscosidad frente a la tensión de corte.

El pico mostrado en la Fig. 10 a 12 son características de nuestra formulación. Indica que la formulación microencapsulada desmembra progresivamente su estructura interna debido a la fuerza aplicada (tensión de

corte), pero después que un espacio de tiempo (fuerza) mientras las fuerzas cohesivas que mantienen la estructura macromolecular de la formulación estable se rompen (en particular, hasta el pico mostrado). Nótese que las microcápsulas no se rompen, sino, la estructura que mantiene las microcápsulas en dispersas, sin precipitación, coacervación o deformación de la formulación. Cuándo las fuerzas cohesivas macromoleculares (las fuerzas principalmente electrostáticas) son bajas (Fig. 13) no observamos ningún pico, pero una disminución progresiva de la viscosidad con la tensión de corte aplicada, porque, en un reintervalo de viscosidad tan bajo, las fuerzas cohesivas se rompen fácilmente. Este tipo de conducta es aceptable en nuestra formulación, pero es menos deseable que el representado en las figuras 10 a 12. Cuándo las curvas son casi lineales (la curva más baja Fig. 13), esto significa que tratamos con un líquido con una conducta newtoniana, esto último no es conveniente ni tampoco para nuestra formulación.

El ejemplo 17.

En este ejemplo nosotros mostramos otra ejecución de la invención, donde hay minerales encapsulados. En la microfotografía (Fig. 14) podemos apreciar la inclusión de minerales inorgánicos dentro del centro del corazón de una microcápsula. El selenio (de un cultivo conveniente de levadura) y citrato de zinc se ha agregado. Se muestra claramente (ovalito y flecha) un cristal de citrato de zinc formado en la fase aceite, al mismo tiempo que observamos el efecto de multiencapsulación, donde las partículas pequeñas de alrededor son auténticas microcápsulas encerradas dentro de microcápsulas más grandes que contiene los cristales.

El ejemplo 18.

En el presente ejemplo mostramos dos tipos diferentes de microcápsulas. En la microfotografía (Fig. 15), apreciamos microcápsulas solas (dentro del rectángulo) y también una microcápsula con más microcápsulas dentro (dentro del óvalo). El ajuste de la luz y enfoque se debe hacer de tal manera los dos tipos comparados de microcápsulas estén a la misma distancia del objetivo. Entonces, una gran diferencia en la refracción de la luz muestra el grado de microencapsulación.

REIVINDICACIONES

- 1.- Proceso de multi-microencapsulación continuo, de materiales biológicamente activos mediante polimerización interfacial e *in situ*, caracterizado por que todo el proceso se produce bajo agitación continua y
5 comprende las etapas siguientes:
- (a) en una primera etapa se emulsiona una fase de agua en una fase de aceite; en la que
 - a.1 hay un iniciador de la polimerización en la fase de agua
 - a.2 hay un emulsionante en la fase de aceite o en la fase de agua
 - a.3 hay al menos un material biológicamente activo en la fase de aceite y /o en la fase de agua;
 - 10 (b) en una segunda etapa se añade a la emulsión una solución o dispersión acuosa que contiene al menos un hidrocoloide, que provoca una inversión de fases, y la polimerización y entrecruzamiento del o los hidrocoloides polimerizables las gotas de agua en aceite;
 - (c) en una tercera etapa, se añade una solución o dispersión en agua que contiene al menos un coloide protector, el cual comienza a depositarse sobre la superficie de las gotas de agua en aceite, y a
15 polimerizarse y entrecruzarse consigo mismo y con el hidrocoloide;
 - (d) en una cuarta etapa, se añade a una solución o dispersión en agua de un tensioactivo, que permite una reducción del tamaño de las gotas de agua en aceite;
 - (e) en una quinta etapa, durante el proceso de reducción de tamaño, las microcápsulas parcialmente
20 formadas se desaglomeran y reaglomeran, produciéndose en última instancia un encerramiento de gotas dentro de gotas más grandes;
 - (f) cuando ha pasado suficiente tiempo para que las gotas de aceite y/o agua en aceite se recubran de, al menos, un hidrocoloide y, al menos, un coloide protector, se incrementa la temperatura para fortalecer la pared de las microcápsulas o multi-microcápsulas formadas en suspensión en agua.
- 2.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada por que se lleva a cabo a
25 presión reducida.
- 3.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que se lleva a cabo en presencia de un gas inerte.
- 4.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1 caracterizado por que las emulsiones y la reducción de tamaño de las partículas se lleva a cabo en velocidad de agitación de 3000 a 25000 rpm.
- 30 5.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que el tamaño de las gotas de la emulsión formada en la primera etapa es de 50-500 μm .
- 6.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizado por que el tamaño de las gotas de la emulsión formada en la primera etapa es de 70-200 μm .

- 7.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1 caracterizado por que tanto el hidrocoloide pasote la segunda etapa y el coloide protector o los coloides protectores de la tercera etapa se añaden conjuntamente en forma de solución o dispersión acuosa.
- 5 8.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que el coloide protector o los coloides protectores pertenecen al grupo químico de los hidrocoloides
- 9.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que la fase de aceite comprende un aceite hidrogenado o una cera o miel.
- 10.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que el emulsionante utilizado en la cuarta etapa tiene un HLB de 12-14.
- 10 11.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que el coloide protector es una goma xantana.
- 12.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que los hidrocoloides pasote la segunda etapa y el coloide protector o los coloides protectores pasote la tercera etapa se elijen del grupo de: quitosanos, almidón, dextrinas, ciclodextrinas, celulosas, pectinas, agar, alginatos, carrageninas, gelatinas, gomas de semillas, goma xantana, goma guar, goma arábica, goma arábica, goma de Caraya, goma de *Ceratonia siliqua*, goma de *Psyllium*, gelatina, tragacantos, lignina, lignosulfonatos, saponinas, galactomananos, arabanogalactanos, beta-glucanos, inulina,; en todas sus formas isoméricas y estereoquímicas, en todas sus variantes con respecto a la cantidad y proporción de monómeros u oligómeros constituyentes del hidrocoloide, en forma natural o derivada, como sales de cationes metálicos o nitrogenados, derivados sulfurados o fosforados, albúmina, policarboxilatos, poli-L-lactida.
- 15 20 13.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1 caracterizado por que los hidrocoloides utilizados en la segunda etapa son del tipo de los alginatos.
- 14.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que el coloide protector es goma arábica.
- 25 15.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que las fases de agua contienen, como máximo, 40% de un alcohol con peso molecular de hasta 144 unidades de masa atómica.
- 16.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que la fase de aceite consiste en aceite de pescado con ácidos grasos omega-3 o en aceite enriquecido con ácido araquidónico o con ácidos linoleicos conjugados.
- 30 17.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 16, caracterizado por que al final de proceso se realiza una etapa adicional de secado para obtener microcápsulas secadas en forma de polvo.

18.- Proceso de microencapsulación de acuerdo con la reivindicación 17, caracterizado por que al final del proceso, la suspensión de microcápsulas en agua resultante se liofiliza o seca por pulverización.

19.- Microcápsulas producidas mediante un proceso de microencapsulación continuo *in situ* e interfacial, caracterizado por que:

- 5 a) existe una fase de agua en aceite dentro de las microcápsulas,
- (b) la pared de las microcápsulas está compuesta por al menos dos hidrocoloides polimerizados,
- c) el contenido interior de las microcápsulas consiste en una emulsión de agua en aceite y/o microcápsulas más pequeñas que forman multi-microcápsulas de hasta 5 grados de multi-microencapsulación,
- 10 d) hay material biológicamente activo presente en al menos la fase de aceite y/o en la fase de agua,
- e) el tamaño promedio de partícula de las microcápsulas es de 1 μm – 0 μm .

20.- Suspensión en agua de microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizada por que se producen mediante el proceso de las reivindicaciones 1 a 16.

15 21.- Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizadas por que contienen ácidos grasos insaturados con una cadena de carbono de al menos 6 átomos de carbono que provienen de los siguientes grupos de fuentes naturales, o de organismos genéticamente modificados de las siguientes fuentes naturales:

- 20 a. origen vegetal: *Boraginaceae*, *Borago spp.*, *Borago officinalis*; *Linaceae*, *Linum usitatissimum*, *Linum arvense*, *Linum sativum*; *Onograceae*, *Oenothera biennis*; *Grossulariaceae*, *Ribes nigrum*, *Zea Mais*, *Gossypium hirsutum*, *Carthamus tinctorius*, *Glycine max*.
- 25 b. origen en las algas: *Gracilariceae*, *Gracilaria spp*; *Gigartinaceae*, *Iridaea spp.*; *Kallymeniaceae*, *Callopyllis variegata*; *Durvillaceae*, *Durvillaea antartica*; *Solieriaceae*, *Euchema cottoni*; *Gelidiaceae*, *Gelidium spp*; *Lossoniaceae*, *Lesonia nigrescens*; *Gigantaceae*, *Gigartina spp.*; *Lessoniaceae*, *Macrocystis spp.*; *Bangiaceae*, *Porphyra spp.*; *Cryptocodinium spp.*
- 30 c. origen animal: *Engaulidae*, *Lycengraulis olidus*; *Clupeidae*, *Sardina pilchardus*; *Scomberesocidae*, *Scomberesox saurus scombroides*; *Berycidae*, *Beryx splendens*; *Engraulidae*, *Engraulis ringens*; *Ophichthyidae*, *Ophichthus spp.*; *Serranidae*, *Hemilutjanus macrophthalmus*; *Scombridae*, *Thunnus spp.*, *Thunnus albacares*, *Thunnus alalunga*, *Thunnus obesus*; *Sciaenidae*, *Cynoscion analis*; *Carcharhinidae*, *Prionace glauca*; *Normanichthyidae*, *Normanichthys crockeri*; *Percichthyidae*, *Polyprion oxygeneios*; *Nototheniidae*, *Dissostichus eleginoides*; *Apogonidae*, *Epigonus crassicaudus*; *Branchiostegidae*, *Prolatilus jugularis*; *Scombridae*, *Thunnus spp.*, *Thunnus albacares*, *Thunnus alalunga*, *Thunnus obesus*, *Sarda spp.*, *Sarda chiliensis*,

5 *Scomber japonicus peruanus*, *Sciaenidae*, *Cynoscion analis*, *Carcharhinidae*,
Normanichthyidae, *Normanichthys crockeri*; *Percichthyidae*, *Polyprion oxygeneios*;
Apogonidae, *Epigonus crassicaudus*; *Branchiostegidae*, *Prolatilus jugularis*;
Cheilodactylidae, *Cheilodactylus gayi*; *Gadidae*, *Salilota australis*; *Pomadasyidae*;
10 *Scorpaenidae*; *Serranidae*; *Cyprinidae*; *Monacanthidae*; *Centrolophidae*; *Ophidiidae*;
Scorpaenidae; *Coryphaenidae*; *Channichthyidae*; *Sciaenidae*; *Aplodactylidae*;
Carangidae, *Trachurus symmetricus murphyi*; *Bothidae*, *Paralichthys microps*; *Mugilidae*;
Clupeidae; *Priacathidae*; *Merlucciidae*, *Merluccius gayi gayi*, *Merluccius australis*;
15 *Macruronidae*, *Macruronus magellanicus*; *Gadidae*, *Micromesistius australis*; *Girellidae*;
Trachichthyidae; *Carangidae*; *Kyphosidae*; *Callorhynchidae*; *Labridae*; *Macrouridae*;
Atherinidae; *Gobiesocidae*; *Alopiidae*; *Galaxiidae*; *Rajidae*; *Bramidae*; *Carangidae*;
Nototheniidae; *Scianidae*; *Mugiloididae*; *Salmonidae*, *Salmo spp.*, *Salmo salar*,
Oncorhynchus spp., *Oncorhynchus kisutch*, *Oncorhynchus mykiss*, *Oncorhynchus*
tshawytscha; *Clupeidae*, *Sardinops spp.*, *Sardinops sagax*, *Clupea bentincki*;
20 *Pomadasyidae*; *Gempylidae*; *Lamnidae*, *Isurus spp.*, *Isurus oxyrinchus*; *Triakidae*;
Clinidae; *Scophthalmidae*; *Labridae*, *Atlantic mackerel*, *Engraulis encrasicolus*,
Pomatomus saltatrix, *Sarda sarda*, *Sardina pilchardus*, *Brevoortia tyrannus*, *Brevoortia*
patronus, *Chloroscombrus chrysurus*, *Auxis thazard*, *Scomber scombrus*, *Scomber*
japonicus, *Alosa aestivalis*, *Clupea harengus*, *Etrumeus teres*, *Argentina silus*, *Ictalurus*
punctatus.

d. origen microbiano: *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Schizochytrium spp.*,
Thraustochytrium aureum, *Thraustochytrium roseum*, *Thraustochytrium striatum*,
Mortierella spp., *Phytium spp.*, *Aspergillus spp.* *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus sydowi*,
25 *Fusarium spp.*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum*

22.- Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizadas por que contienen al menos un material biológicamente activo seleccionado de los grupos:

(a) flavonoides, antocianidinas, pro-antocianidinas, oligómero-proantocianidina, isoflavonas, chalconas, catequina, epicatequina, epicatequina galato, epigalocatequina, epigalocatequina galato, eriocitrina,
30 narirutina, rutina, naringina, miricitrina, hesperidina, miricetina, eriodictiol, fisetina, quercetina, naringenina,
luteolina, hesperitina, kaempferol, isorhamnetina, apigenina, rhamnetina, galangina, quercitrina, quercetina,
diosmetina, taxifolina, galandina, biochanina A, genisteina, eriodictiol, chrysin, hidroxitirosol, oleuropeina,
glabridina, licochalcona, daidzeina, matairesinol, secoisolaricresinol, enterodiol, enterolactona, equol,
desmetilangolensina, luteoferol, luteolinidina, apiferol, apigenidina, leucocianidina, taxifolina, pelargonidina;

(b) ácidos fenólicos en general y ésteres, glicósidos, rutinósidos y aminos derivadas, gálico, sinápico, síringico, cafeico, clorogénico, ferúlico procatecuico, vainillico, hidroxicinámico, y ácidos cumáricos, guaiacol, cresol, 4-etilfenol, 4-vinilguaicol, eugenol, taninos, elagiotaninos, galotaninos ;

(c) amidas estructuralmente combinadas que comprenden ácidos hidroxicinámicos y ácidos antranílicos (avenantramidas), avenasterol, ácidos grasos de cadena larga o alcoholes, indoleaminas,
40 melatonina, inulina, glutatión;

(d) terpenoides, monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos, triterpenos, tetraterpenos, carotenoides, alfa-caroteno, fitotoeno, ciclo-artenol, beta-caroteno, ionona, zeaxantina, capsantina, astaxantina, cantaxantina, violaxantina, mutatoxantina, luteoxantina, auroxantina, neoxantina, apo-carotinal, xantofilas;

5 (e) butilhidroxianisol, 2,6-di-terc-butilhidroxitolueno, terc-butilhidroquinona, 2,6-di-terc-butilhidroquinona, 2,6-diterc-butil-4-hidroximetilfenol, 2,4,5-trihidroxi-butirofenona, alfa-, beta-, gamma- y delta-tocoferoles, alfa-, beta-, gamma- y delta-tocotrienoles, alfa-, beta-, gamma- y delta-tococromanoles.

(f) ácido alfa-lipoico; coenzima Q-10, vitaminas; aminoácidos, L-arginina, cistina, cisteína, oligopéptidos, péptidos, carnosina, carnitina, glutatión, enzimas, inhibidores enzimáticos, inhibidores de las fenolasas o oxigenasas o lipooxigenasas o lipasas;

10 (g) minerales y oligoelementos, selenio, cinc y magnesio.

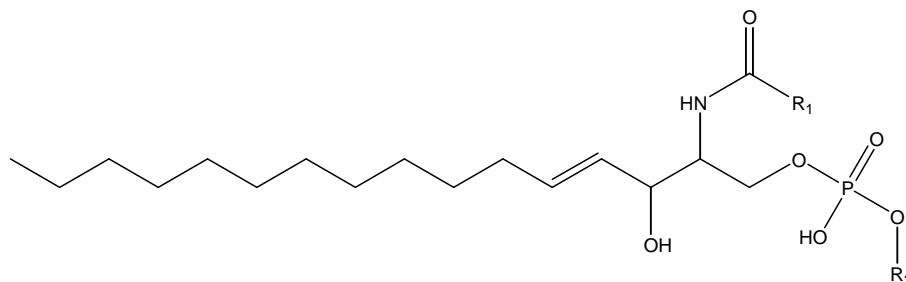
23.- Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizadas por que las microcápsulas contienen al menos un compuesto biológicamente originado por el grupo de organismos:

15 *Medicago sativa*, *Pimental officinalis*, *Hibiscus abelmoschus*, *Angelica archangelica*, *Galipea officinalis*, *Pimpinella anisum*, *Ferula foetida*, *Ferula asafetida*, *Melissa officinalis*, *Myroxylon pereirae*, *Ocimum basilicum*, *Pimenta acris*, *Citrus aurantium bergamia*, *Prunus amygdalus*, *Citrus aurantium*, *Citrus aurantium amara*, *Piper nigrum*, *Prunus spinosa*, *Aniba rosaeodora*, *Camelia oleifera*, *Camelia sinensis*, *Carum carvi*, *Elettaria cardamomum*, *Ceratonia siliqua*, *Daucus carota*, *Dacus carota sativa*, *Cascarilla*, *Apium graveolens*, *Anthemis nobilis*, *Matricaria chamomilla*, *Anthemis nobilis*, *Anthriscus cerefolium*, *Cichorium intybus*, *Cinnamomum spp.*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon nardus*, *Salvia sclarea*, *Trifolium pratense*,
20 *Theobroma cacao*, *Coffea arabica*, *Coriandrium sativum*, *Cuminum cyminum*, *Taraxacum officinale*, *Sambucus nigra*, *Edelweiss*, *Helichrysum italicum*, *Foeniculum vulgare*, *Trigonella foenumgraecum*, *Arabidopsis spp.*, *Zingiber officinale*, *Citrus grandis*, *Psidium guajava*, *Humulus lupulus*, *Marrubium vulgare*, *Monarda punctata*, *Hyssopus officinalis*, *Jasminum officinale*, *Jasminum grandiflorum*, *Juniperus spp.* *Juniperus comunis*, *Eucalyptus officinalis*, *Cola acuminata*, *Laurus nobilis*, *Lavandula spp.* *Lavandula hybrida*, *Taxus baccata*, *Citrus medica limonum*, *Myristica fragans*, *Marjorana hortensis*, *Thymus spp.*, *Thymus officinalis*, *Thymus mastichina*, *Ilex paraguayensis*, *Chamomilla recutita*, *Saccharum officinarum*, *Myristica fragans*, *Allium cepa*, *Citrus aurantium dulcis*, *Carum petroselinum*, *Mentha pulegium*, *Mentha piperita*, *Pimenta officinalis*, *Chimaphila umbellata*, *Punica granatum*, *Pelargonium spp.*, *Pelargonium graveolens*, *Rosmarinus officinalis*, *Crocus sativus*, *Salvia app.*, *Salvia officinalis*, *Mentha spicata*, *Mentha viridis*, *Satureia hortensis*, *Satureja hortensis*,
30 *Origanum majorana*, *Tamarindus indica*, *Citrus reticulata*, *Artemisia dracunculus*, *Thea sinensis*, *Thymus vulgaris*, *Polianthes tuberosa*, *Curcuma longa*, *Prunus serotina*, *Thymus serpillum*, *Satureja Montana*, *Cananga odorata*, *Curcuma zedoaria*, *Plantago major*, *Adansonia digitata*, *Ananas comosus*, *Artocarpus altilis*, *Carica papaya*, *Lycopersicon esculentum*, *Cephalophus spp.*, *Vaccinium myrtillus*, *Thymus aragonensis*, *Thymus spp.*, *Citrus aurantiifolia*, *Citrus paradisi*, *Cucumis melo*, *Cucurbita spp.*, *Vitis spp.*, *Vitis vinifera*, *Mangifera indica*,
35 *Lamiaceae*, *Coleus ssp.*, *Hedeoma ssp.*, *Hyptis ssp.*, *Leonurus ssp.*, *Leucas ssp.*, *Lycopus ssp.*, *Marrubium spp.*, *Mentha spp.*, *Monarda spp.*, *Perilla spp.*, *Prunella spp.*, *Salvia spp.*, *Stachys spp.*, *Teucrium spp.*, *Thymus spp.*, *Cannabis spp.*, *Digitalis lanata*, *Adonis vernalis*, *Aesculus hippocastanum*, *Frazinus rhychophylla*, *Agrimonia supatoria*, *Rauwolfia serpentina*, *Andrographis paniculata*, *Areca catechu*, *Atropa belladonna*, *Berberis vulgaris*, *Ardisia japonica*, *Betula alba*, *Ananas comosus*, *Camellia sinensis*, *Cinnamomum camphora*,
40 *Campotheca acuminata*, *Potentilla fragarioides*, *Erythroxylum coca*, *Papaver somniferum*, *Colchicum*

autumnale, Claviceps purpurea, Digitalis purpurea, Digitalis lanata, Glaucium flavum, Papaver somniferum, Gossypium spp., Hyoscyamus niger, Camptotheca acuminata, Piper methysticum, Lobelia inflata, Crotalaria sessiliflora, Nicotiana tabacum, Physostigma venenosum, Ephedra sinica, Cinchona ledgeriana, Rhododendron molle, Datura spp., Taxus brevifolia, Strychnos nux-vomica, Stevia rebaudiana, Theobroma cacao, Valeriana officinalis, Pausinystalia yohimbe, Ephedra spp. Crataegus oxyacantha, Hamamelis virginiana, Hydrastis Canadensis, Hypericum perforatum, Potentilla erecta, Ledum palustre, Salvia officinalis, Chamomilla recutita, Arctostaphylos uva, Eucommia ulmoides, Mytilus galloprovincialis, Diplazium esculentum, Manihot utilissima, Sauropous androgynus, Terminalia arjuna, Iberis amara, Crataegus spp., Arbutus unedo, Cynara scolymus, Amaranthus caudatus, Alchornea laxiflora, Alpinia officinarum, Xanthophyllomyces dendrorhous, Crataegus monogyna, Taxus yunnanensis, Bacopa monniera, Cistus albidus, Ocimum basilicum, Rosmarinus officinalis, Thymus vulgaris, Bixa orellana, Centella asiatica, Urtica dioica, Agrocybe aegerita, Crataegus laevigata, Satureja hortensis, Crocus sativus, Coccinia indica, Brugia malayi, Rubus spp., Silybum marianum, Cannabis spp., Cannabis sativa, Hypericum perforatum, Rhus coriaria, Olea europaea, Cyclopia intermedia, Ginkgo biloba, Lentinus lepideus, Pseudomonas putida, Sargassum micracanthum, Pinus radiata, Pinus sp., Phaseolus mungo, Cicer arietinum, Vigna sinensis, Phaseolus aureus, Dolichos lablab, Cajanus cajan, Vicia faba, Dolichos biflorus, Phaseolus lunatus, Phaseolus aconitifolius, Pisum sativum, Psophocarpus tetragonolobus, Arachis hypoagea, Brassica spp., Brassica campestris, Brassica napus, Valeriana officinalis, Echinacea purpurea, Echinacea pallida, Echinacea angustifolia, Glycyrrhiza glabra, Seronea repens, Vaccinium macrocarpon, Tancetum parthenium, Tancetum parthenium, Vaccinium macrocarpon, cereales, frutas con hueso, bayas silvestres, legumbres, té verde, té negro y microorganismos productores de ácidos grasos de cadena larga insaturados, Lactobacillus casei., L. acidophilus, L. rhamnosus, L. paracasei, L. gasseri, L. fermentum, L. plantarum, L. salivarius, L. crispatus, L. bulgaricus, L. fermentum, L. reuteri, Bifidobacterium infantis, B. bifidum, Streptococcus termophilus, S. bovis, Enterococcus durans, E. faecalis, E. Gallinarum, Escherichia coli, Propionibacterium freudenreichii, o bacterias u hongos o levaduras modificadas genéticamente en las que se han insertado genes propios de las bacterias probióticas, Saccharomyces cerevisiae, Kluyveromyces marxianus, Rhodotorula rubra, Sporobolomyces puniceus, Aureobasidium pullulans, Leucosporidium scotti.

24.- Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizadas por que las microcápsulas contienen, al menos, uno de los materiales biológicamente activos seleccionados de A y/o B en todas sus variantes estereoisoméricas, y/o isoméricas:

Compuestos A

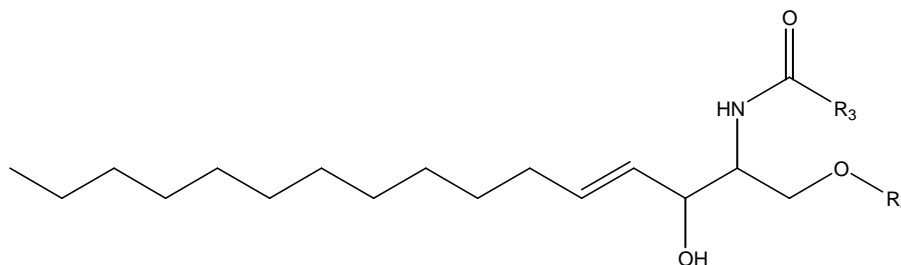


35 donde,

R₁ es un éster de un ácido graso omega-3 ó de un ácido graso omega-6

R₂ es un éster de un ácido graso omega-3 ó de un ácido graso omega-6

Compuestos B



donde,

R₃ es un éster de un ácido graso omega-3 ó de un ácido graso omega-6

R₄ es un éster de un ácido graso omega-3 ó de un ácido graso omega-6

10 25. Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizadas por que contienen al menos un ácido graso de cadena larga insaturado de al menos 6 átomos de carbonos, en cualquier configuración isomérica y/o estereoquímica, así como cualquier éster, éter, glicérido, fosfolípido y esfingolípido derivados de los mismos.

15 26. Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizadas por que contienen al menos un compuesto seleccionado del grupo de ácidos: araquidónico, estereadiónico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico, docosapentaenoico, linoleico, linoleicos conjugados, linolénico, gamma-linolénico, alfa-linolénico, dihomogamma-linolénico, araquidónico, ácido oleico; en cualquier configuración isomérica y/o estereoquímica, así como cualquier éster, éter, glicérido, fosfolípido y esfingolípido derivados de los mismos.

20 27. Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizada por que contienen una combinación de compuestos seleccionados de: ácidos grasos omega-3, omega-6, omega-9 y cerebrósidos.

25 28. Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizadas por que la liberación del o los materiales biológicamente activos se produce por al menos un factor perteneciente al grupo de: pH, temperatura, fuerza iónica, ósmosis, volatilización o presencia de productos químicos o enzimas que disuelven la pared de las microcápsulas.

30 29. Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, para su uso en alimentos para humanos.

30. Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, para su uso en alimentos para consumo animal.

35 31. Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, para su uso en alimentos para consumo animal para ganadería, avicultura, piscicultura y cría de animales domésticos.

32. Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, para su uso en la producción de una formulación seca de microcápsulas.
- 5 33. Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, para su uso en alimentación humana o piensos animales.
- 10 34. Microcápsulas de acuerdo con la reivindicación 19, para su uso en cereales, muesli, bollería y pastelería, productos lácteos, suplementos nutricionales, azúcares, chocolates, dulces, turrone, mazapanes, dulces dietéticos y para diabéticos, aceites, huevos, vegetales, frutas, tubérculos, tallos comestibles, snacks, aperitivos, raíces comestibles incluyendo regaliz, bayas y frutas silvestres, frutos secos, carnes, embutidos, pescados, mariscos y crustáceos, bebidas alcohólicas y no alcohólicas, bebidas carbonatadas o no carbonatadas, zumos, jarabes, néctares, especias, condimentos, comidas precocinadas, alimentos pre-procesados, masa de pan congelada, pizzas, miel.
- 15 35. Proceso de microencapsulación de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 18, caracterizado por que el o los materiales biológicamente activos se seleccionan de acuerdo con cualquiera de los mencionados en las reivindicaciones precedentes.

20

Fig. 1

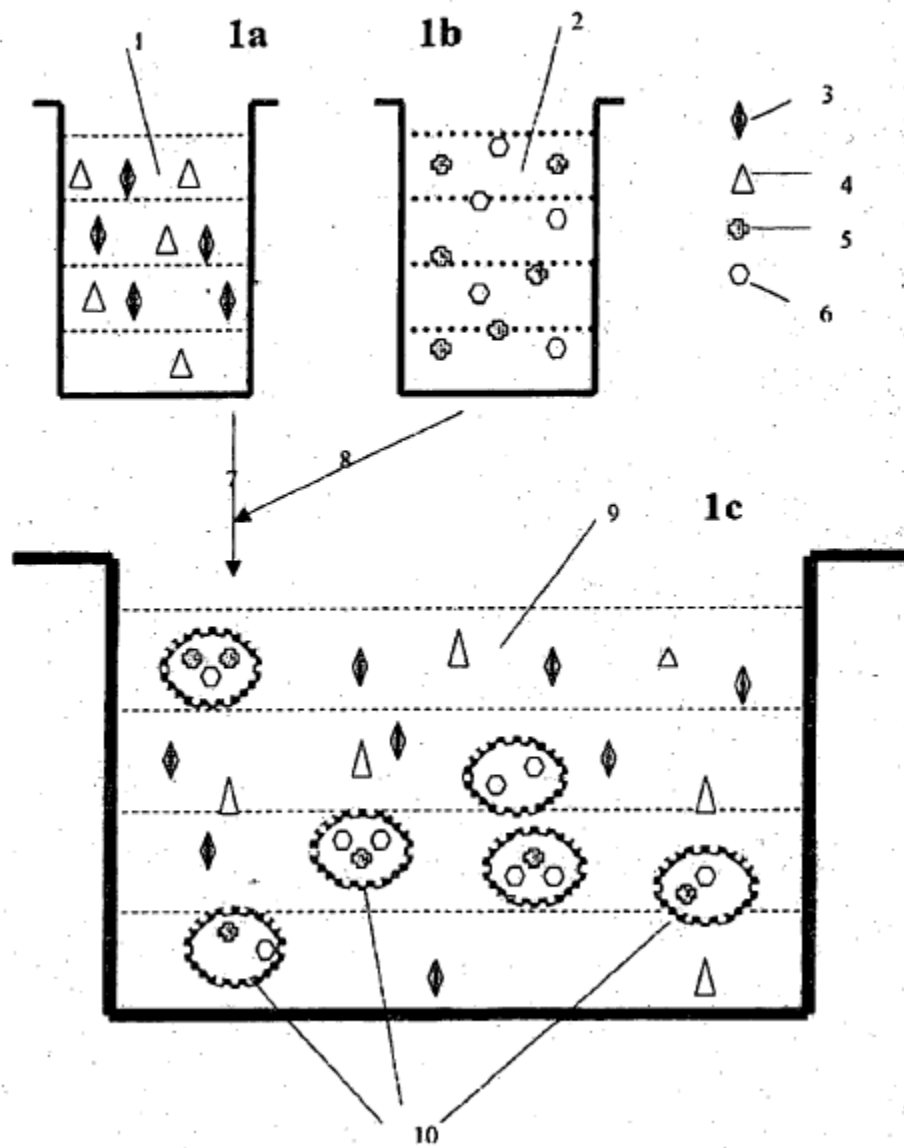


Fig. 2

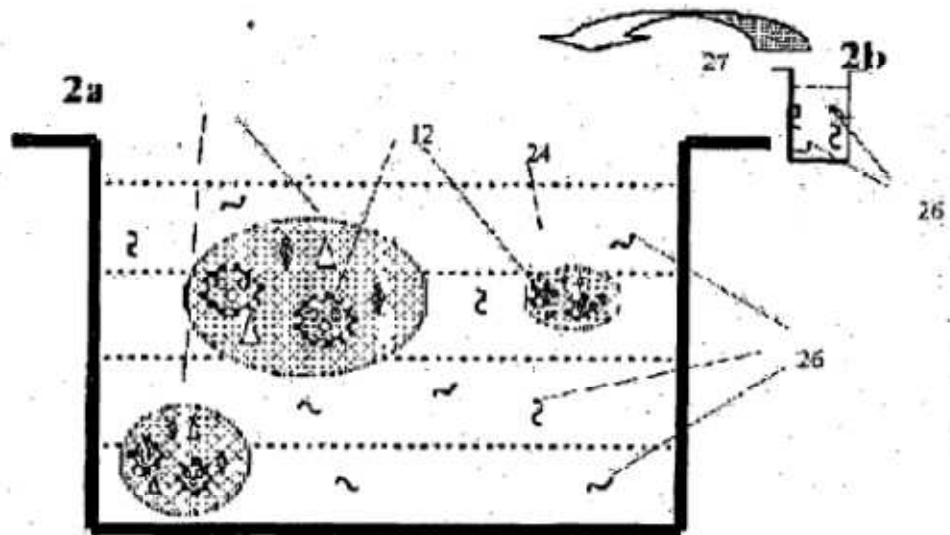


Fig. 3

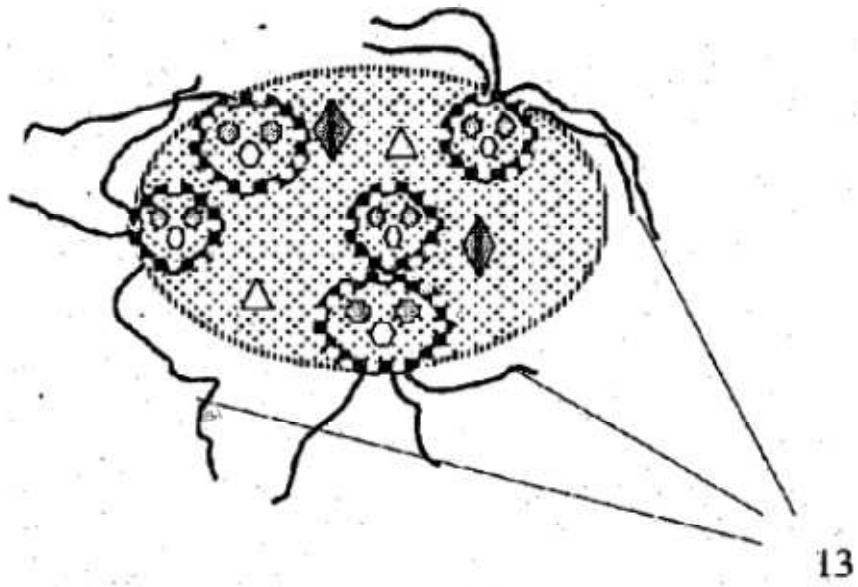


Fig.4

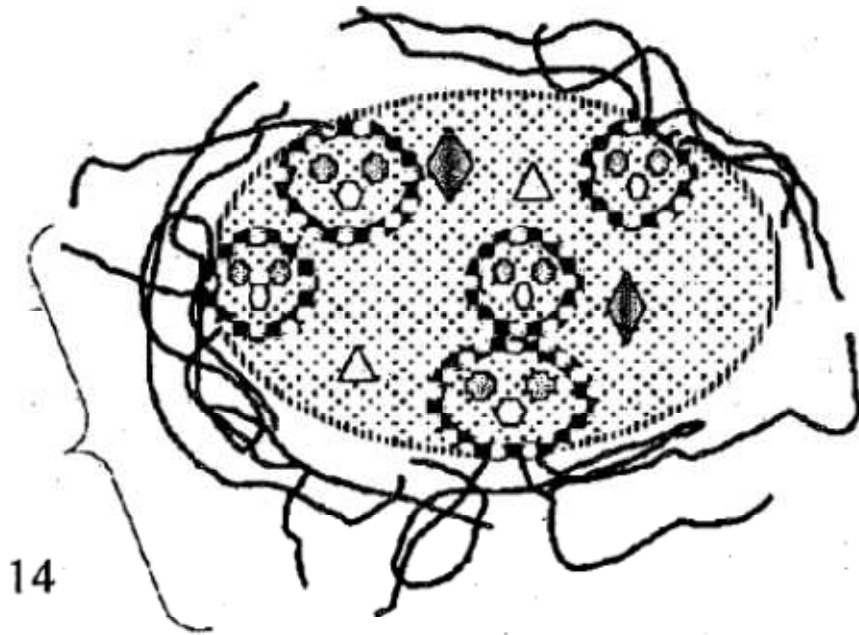


Fig. 5

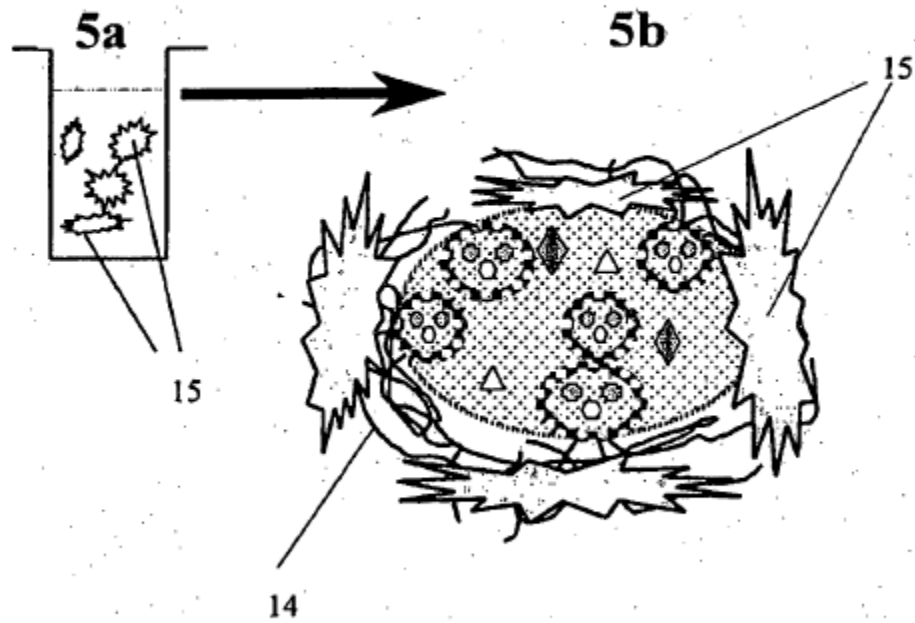


Fig.6

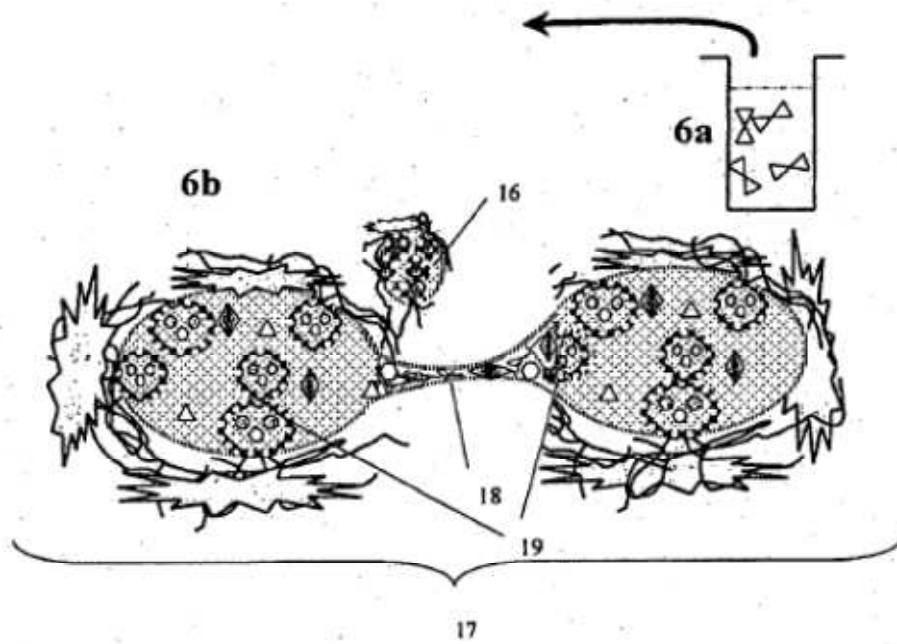


Fig. 7

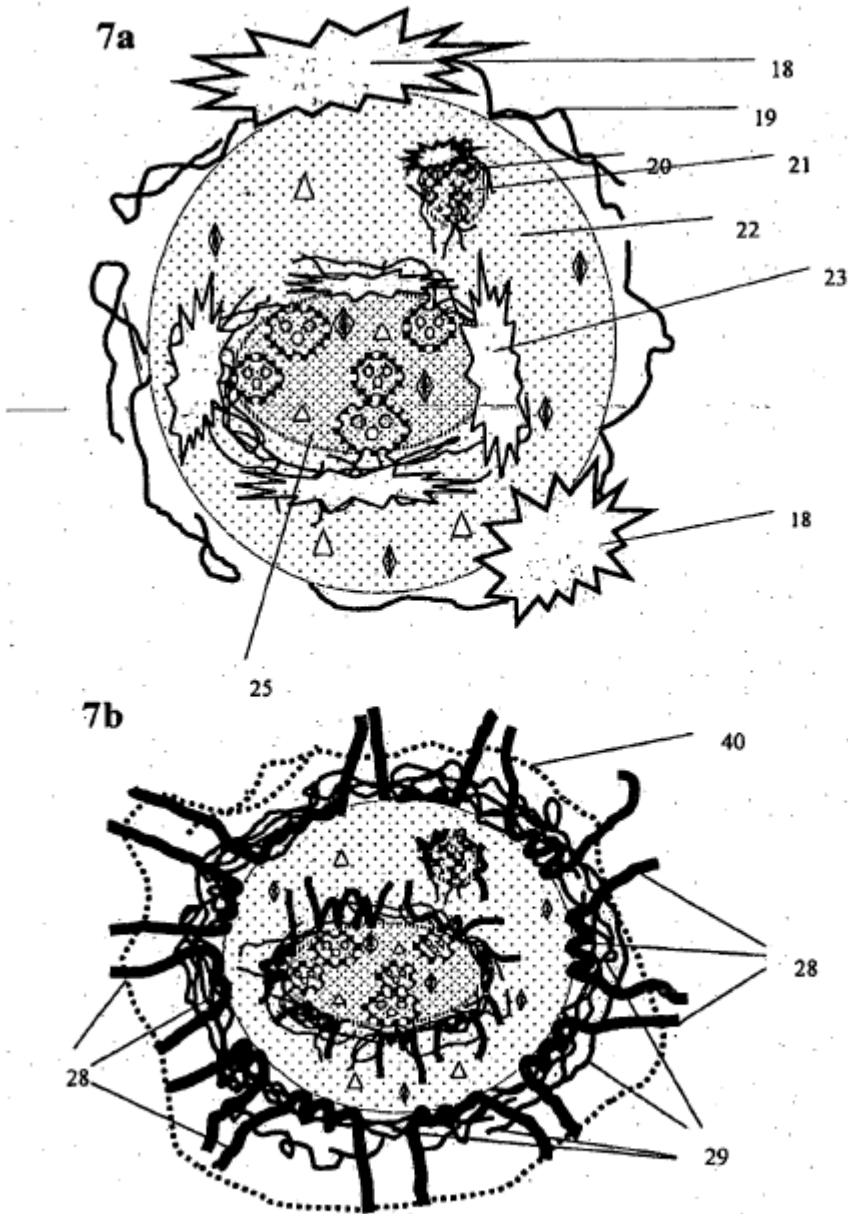


Fig.8

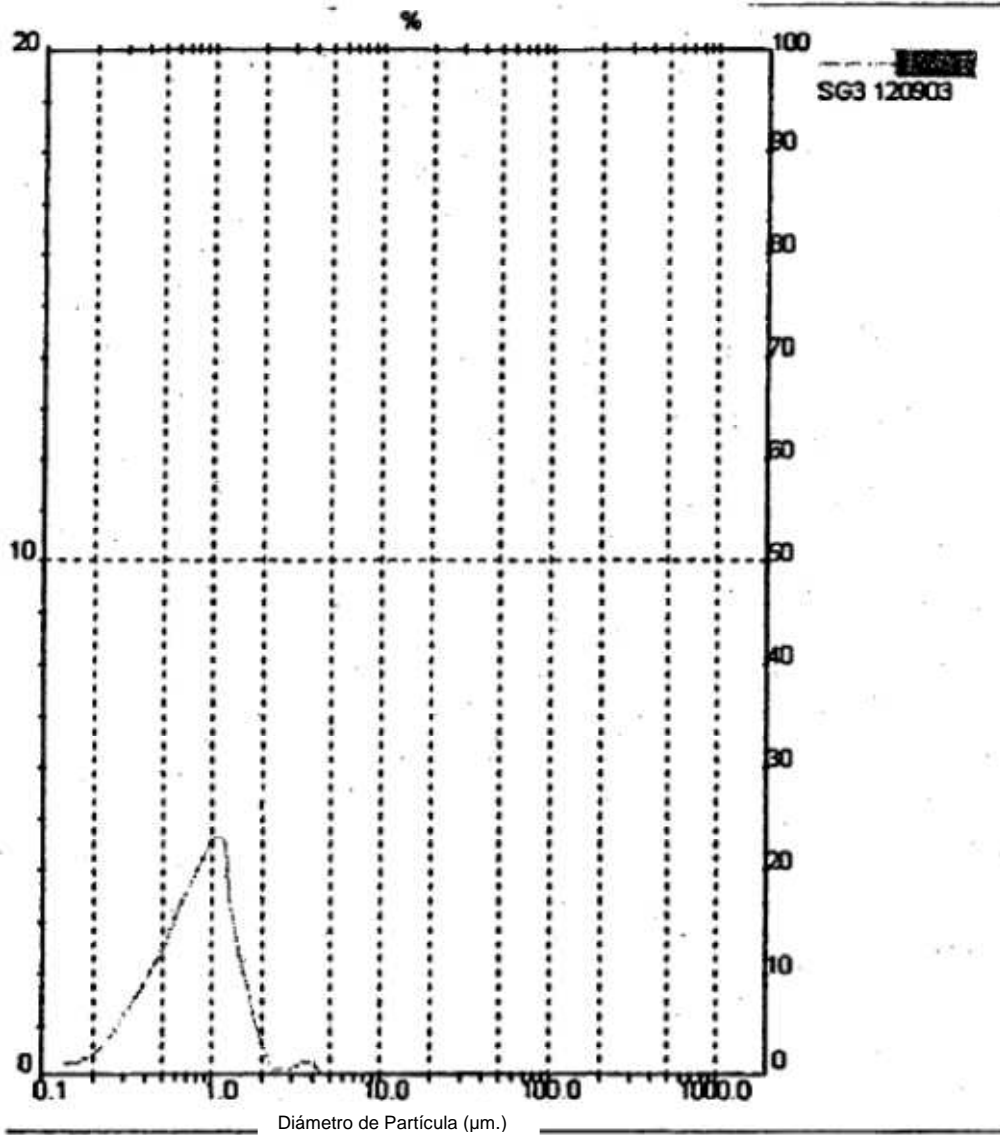


Fig. 9

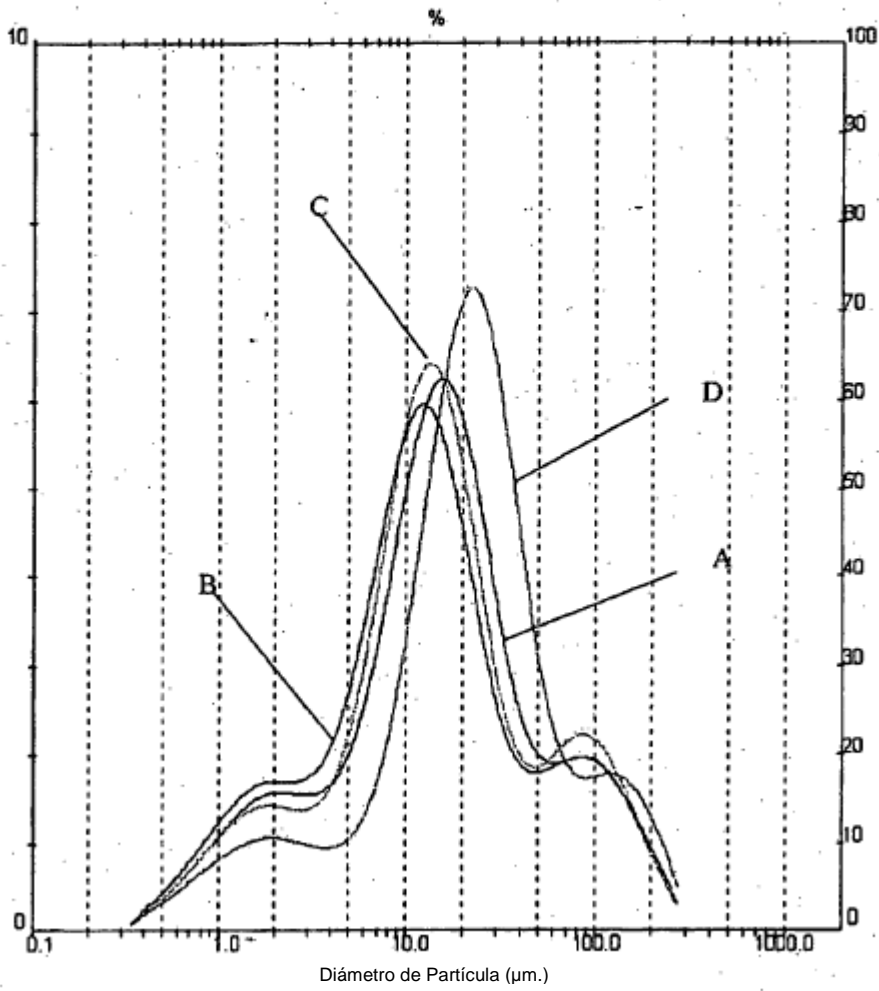


Fig. 10

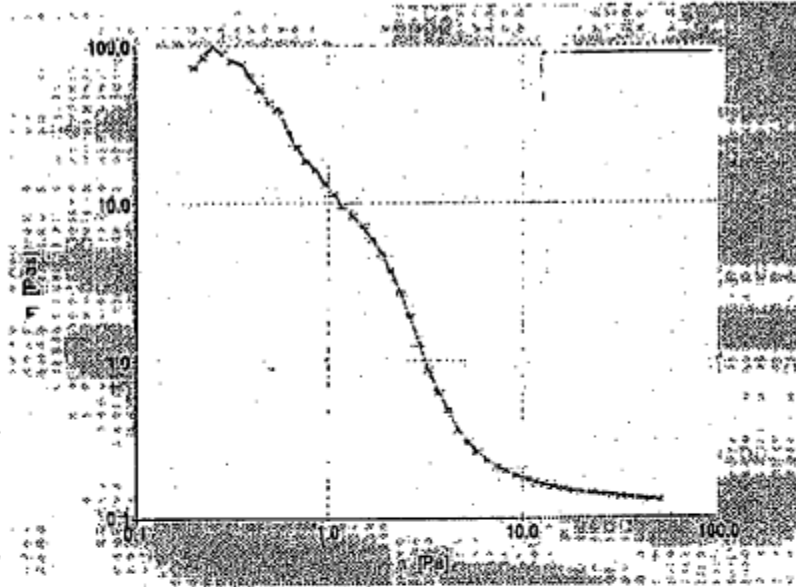


Fig. 11

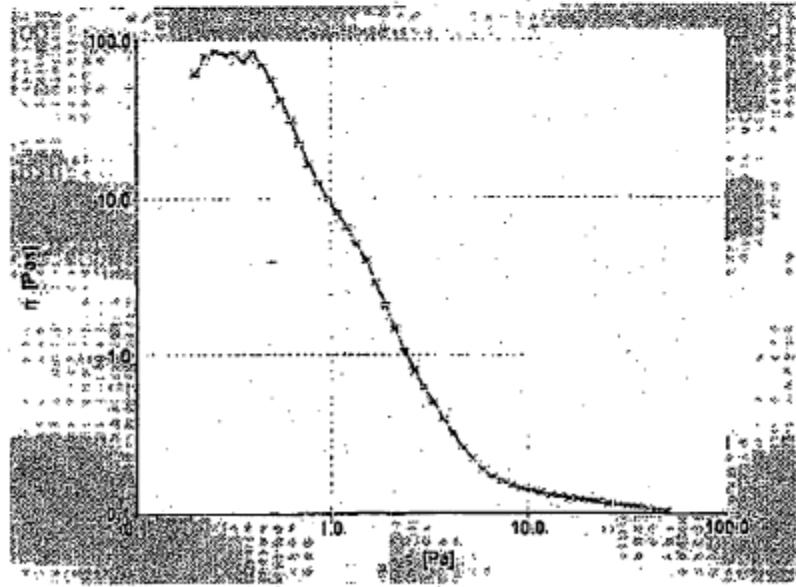


Fig. 12

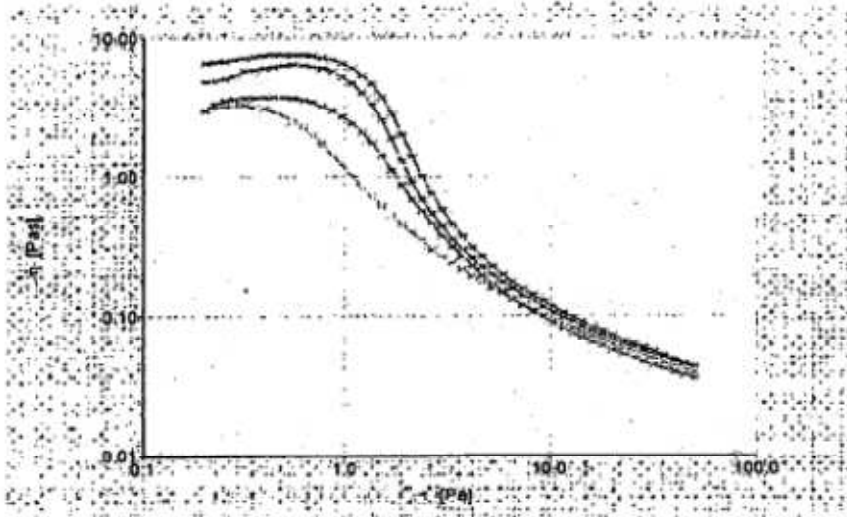


Fig. 13

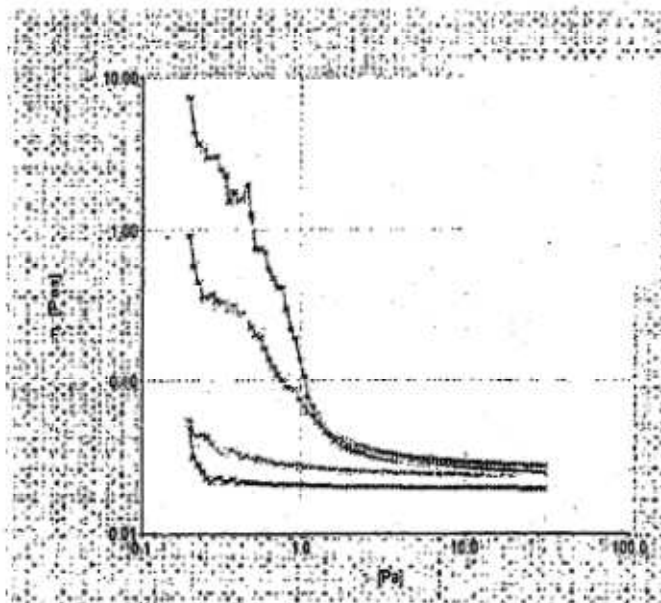


Fig.14

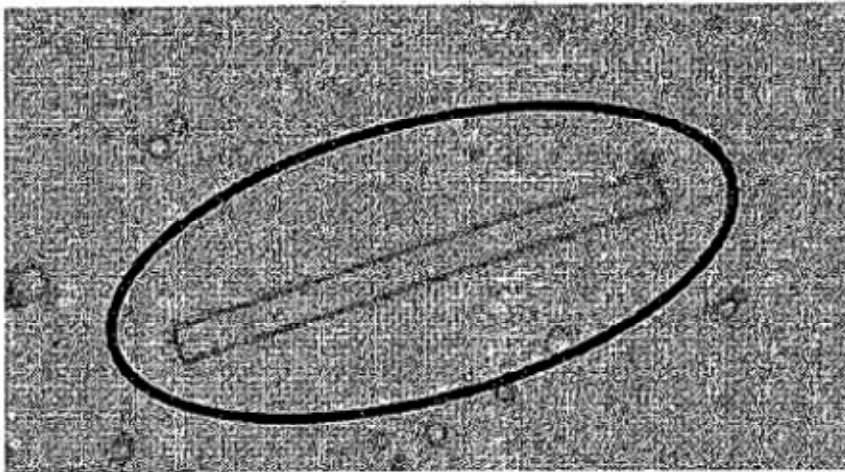


Fig. 15

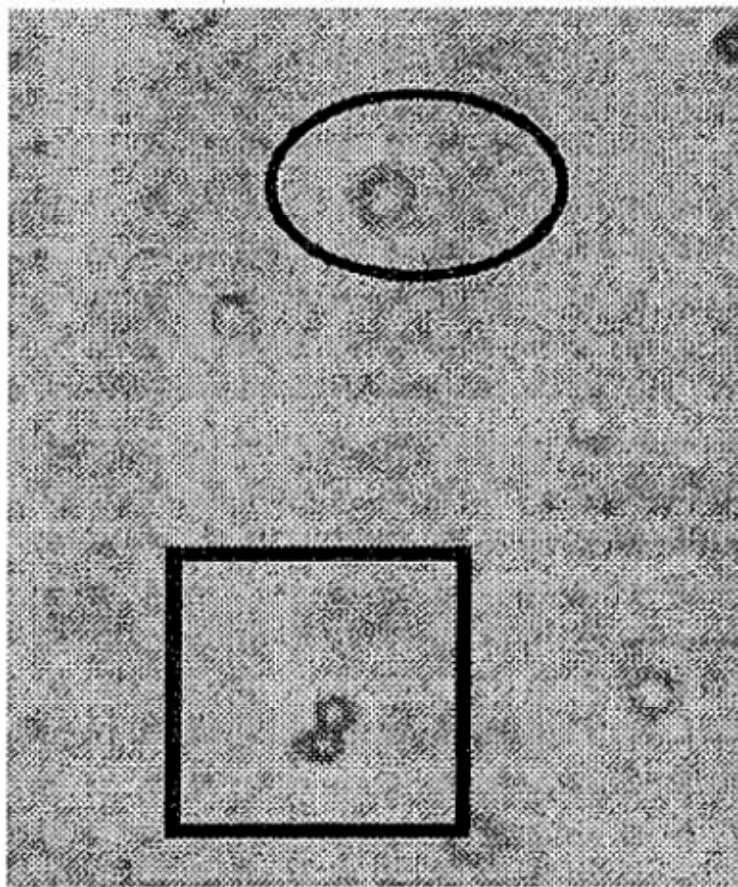


Fig. 16

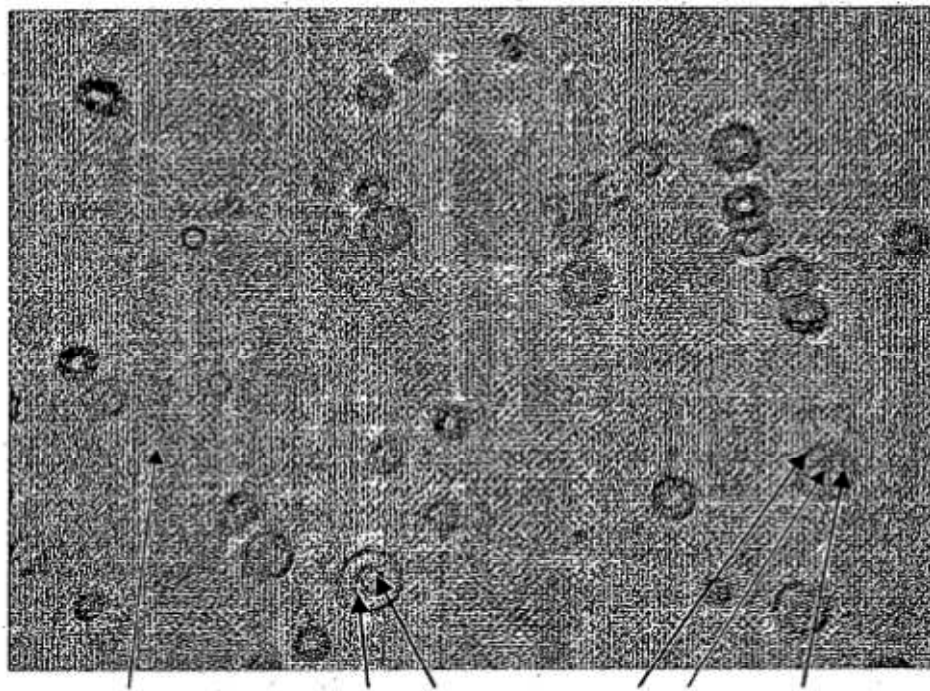


Fig.17

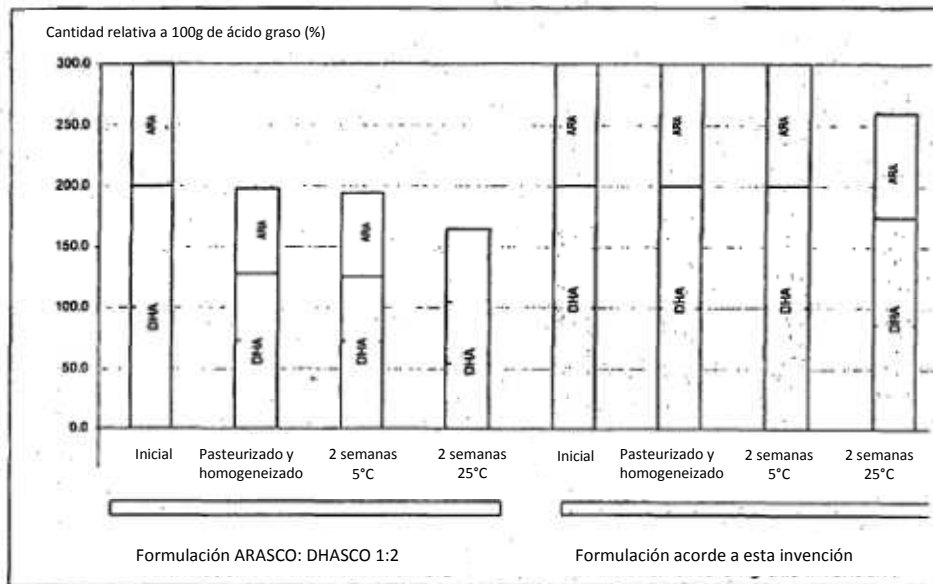
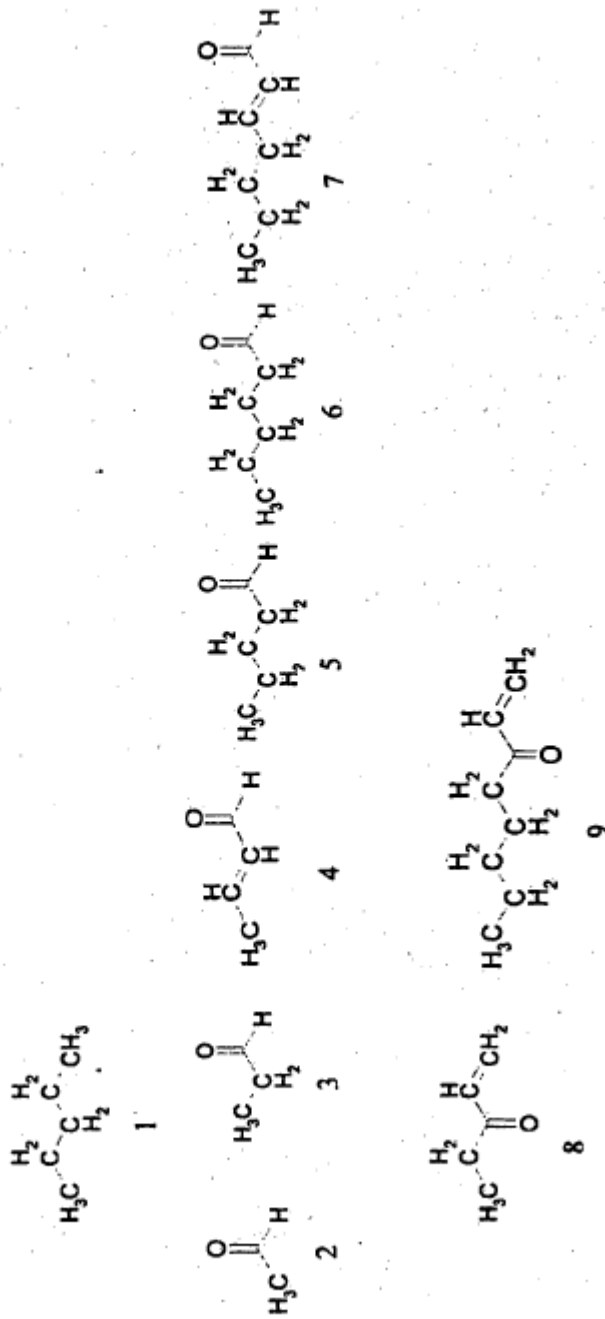


Fig.18



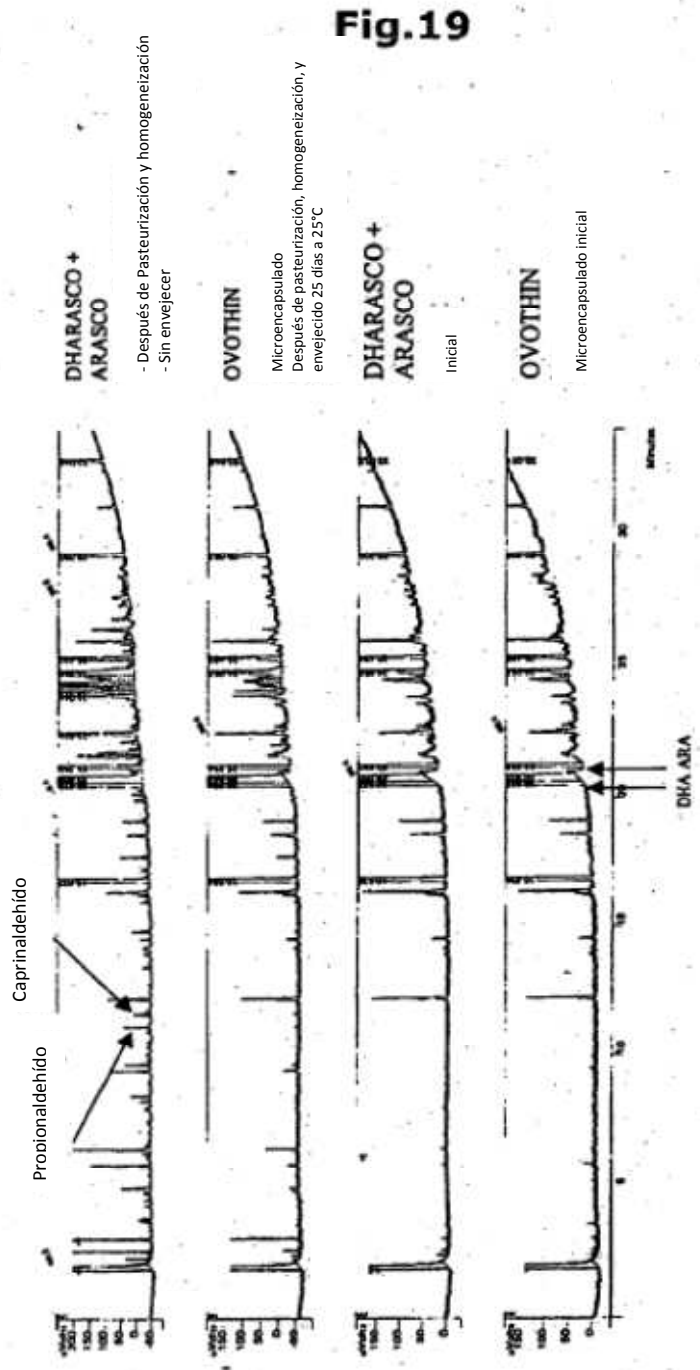


Fig.19