

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 647 791**

51 Int. Cl.:

A23L 33/15 (2006.01)

A23L 33/16 (2006.01)

A23L 5/00 (2006.01)

A23L 27/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.12.2014** **PCT/US2014/070583**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.06.2015** **WO15095185**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.12.2014** **E 14824684 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2017** **EP 3082471**

54 Título: **Formulaciones de sales enriquecidas en micronutrientes**

30 Prioridad:

16.12.2013 US 201361916485 P

12.08.2014 US 201462036405 P

21.10.2014 US 201462066551 P

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

26.12.2017

73 Titular/es:

MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY
(50.0%)

77 Massachusetts Avenue
Cambridge, MA 02139, US y
TOKITAE LLC (50.0%)

72 Inventor/es:

JAKLENEC, ANA;
XU, XIAN;
WOOD, LOWELL L.;
ECKHOFF, PHILIP A.;
GATES, WILLIAM;
NIKOLIC, BORIS y
LANGER, ROBERT S.

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 647 791 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

Formulaciones de sales enriquecidas en micronutrientes

5 Campo de la invención

La presente invención pertenece al campo de las sales enriquecidas, en particular, de las sales enriquecidas en micronutrientes que son térmicamente estables y que liberan los micronutrientes en la ubicación deseada del tracto gastrointestinal.

10 Antecedentes de la invención

La desnutrición/deficiencia de micronutrientes es un problema grave en el mundo en desarrollo que afecta a 870 millones de personas y causa cinco millones de muertes infantiles al año. Los intentos de abordar la deficiencia de micronutrientes incluyen la suplementación y los enriquecimientos. La suplementación puede proporcionar dosis más altas de micronutrientes a individuos específicos en un corto período de tiempo. Sin embargo, la suplementación tiene limitaciones, incluyendo la incapacidad para administrar todos los micronutrientes necesarios, descuidando a las personas que pertenecen a grupos no diana y el bajo cumplimiento debido a la dificultad para almacenar el producto en condiciones no controladas (almacenes húmedos calientes, mantenimiento deficiente), dificultades para distribuir suplementos y convencer a los usuarios finales de la necesidad de una ingesta regular.

El enriquecimiento de los alimentos se ha explorado como un medio para abordar la malnutrición/deficiencia de micronutrientes. Sin embargo, el enriquecimiento de los alimentos suele ser inasequible para aquellas personas que más lo necesitan. También se han observado efectos adversos, tales como las cualidades sensoriales de los alimentos, las interacciones adversas entre los nutrientes y la baja biodisponibilidad en los alimentos enriquecidos.

La sal es un producto universalmente consumido y, por lo tanto, tiene el potencial de suministrar vitaminas y minerales a los países en desarrollo. La sal enriquecida, también conocida como sal yodada, es la sal de mesa (NaCl) mezclada con pequeñas cantidades de diversas sales de yoduro, para prevenir la deficiencia de yodo. También se ha desarrollado la sal enriquecida doble, que es la sal de mesa que contiene hierro y yoduro. Se microencapsula el hierro con estearina para evitar que reaccione con el yodo de la sal. Sin embargo, la adición de hierro a la sal yodada se ve dificultada por una serie de problemas químicos, técnicos y organolépticos, incluyendo la tendencia del hierro a oxidarse en presencia de aire. La sal también se ha enriquecido con fluoruro de potasio en un intento por mejorar la salud dental. Ninguna de estas sales enriquecidas incluye suplementos más lábiles tales como las vitaminas.

Todas estas formulaciones implican la mezcla física de la sal con uno o más minerales. Sin embargo, como se ha descrito anteriormente, la reactividad no deseada entre vitaminas y minerales, y otras limitaciones, han impedido la comercialización de dichas formulaciones. Además, estas formulaciones no proporcionan una pluralidad de micronutrientes y no son estables en las condiciones encontradas durante la preparación y la cocción de los alimentos.

Kwan describe una sal enriquecida que contiene vitamina A, hierro y yodo. La formulación es una mezcla física de sal y enriquecedores. La formulación también contiene tensioactivos y lípidos para que la formulación se autoemulsione. Kwan desvela que se intentó aplicar un recubrimiento entérico a la vitamina A, pero las pérdidas del micronutriente después de un período de almacenamiento de tres meses variaron entre el 50 y el 99 % tanto a 25 °C/HR del 20 % como a 45 °C/HR del 60 %.

La sal Health Salt, comercializada por Sundar, es una sal enriquecida que contiene una pluralidad de micronutrientes, que supuestamente es térmicamente estable. La formulación parece ser una mezcla física de sal y los diversos micronutrientes. Vinodkumar *et al. Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 79(5):348-361 (2009) describen la fabricación de una sal enriquecida en múltiples micronutrientes en un mezclador de cinta y la evaluación de la homogeneidad de la distribución de los micronutrientes en la sal. Sin embargo, el producto cuesta de 2 a 3 veces más que la sal suelta, se observaron motas negras de enriquecedores en el producto, que podrían no gustar a los consumidores, el producto tenía un olor inusual y puede ser difícil verificar analíticamente algunos de los micronutrientes en el producto. El documento WO 2005/055986 A1 desvela una composición farmacológica de sabor enmascarado en la que el fármaco está recubierto con un polímero sensible al pH insoluble a pH > 3,5. El documento CA 2 238 925 A desvela una formulación de sal enriquecida en yodo en la que el compuesto de yodo está encapsulado en una matriz inerte, digerible, de modo que el yodo y la sal son independientes físicamente. Existe la necesidad de composiciones que proporcionen una pluralidad de micronutrientes de una manera segura y eficaz, al tiempo que superen las limitaciones de suplementación y enriquecimiento tratadas anteriormente.

Por lo tanto, es un objetivo de la invención proporcionar composiciones para proporcionar una pluralidad de micronutrientes lábiles al calor, a la humedad y a la sal, así como agentes terapéuticos y/o profilácticos, y métodos de fabricación y uso de los mismos.

Otro objetivo de la invención es proporcionar composiciones para proporcionar una pluralidad de micronutrientes, que sean estables durante la preparación y la cocción de los alimentos, y métodos de fabricación y uso de las mismas.

- 5 Otro objetivo más de la invención es proporcionar composiciones para proporcionar una pluralidad de micronutrientes, que sean estables durante la preparación y la cocción de los alimentos, y que liberen los micronutrientes en un sitio deseado del tracto gastrointestinal, y métodos de fabricación y uso de los mismos.

Sumario de la invención

10 Se han desarrollado formulaciones que son resistentes a la humedad y las temperaturas de cocción, y que se liberan en un intervalo de pH definido. Las formulaciones proporcionan partículas de micronutrientes y vitaminas ("MN") formuladas en una matriz estabilizadora formada por materiales tales como azúcares, que luego se encapsula dentro de polímeros insolubles en agua, resistentes al calor y sensibles al pH. La formulación se puede envasar
15 dentro de una cubierta de sal, cubierta de azúcar u otra cubierta. Los polímeros térmicamente estables, insolubles en agua, sensibles al pH, estabilizan los micronutrientes, especialmente en combinación con la sal, en particular a altas temperaturas, tales como durante la preparación y la cocción de los alimentos, y liberan los micronutrientes en las ubicaciones deseadas, tales como el estómago, el intestino delgado, etc. Los polímeros sensibles al pH preferidos se liberan a un pH bajo, tal como a pH 1-3, preferentemente 1-2 como el encontrado en el estómago. Las partículas pueden usarse para administrar dosis diarias recomendadas de micronutrientes simultáneamente con la sal u otra sustancia de la cubierta, eliminando la necesidad de otros suplementos vitamínicos. Esto es particularmente importante en poblaciones que padecen desnutrición grave. Se puede usar la misma tecnología para proporcionar agentes terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico, por ejemplo, agentes antiparasitarios. Las ventajas de esta formulación incluyen la estabilidad al calor y a la humedad, además de tener un color uniforme y ser
25 relativamente inodora.

Se desarrolló una plataforma de administración que consistía en un núcleo a base de partículas de hidrogel (HGP) de ácido hialurónico (HA) para la encapsulación de MN y una cubierta de microesferas (MS) termoestable y soluble a bajo pH que rodeaba a las HGP para su protección. La cubierta de las MS puede envolverse de cloruro de sodio, produciéndose sal enriquecida en MN. La cubierta de las MS también se puede envolver en otra sustancia, tal como el azúcar. Como alternativa, la cubierta de las MS se puede usar sin recubrimiento. Se muestra que el sistema encapsula eficazmente los MN, mantiene su estabilidad en condiciones de cocción y libera la carga útil en fluido gástrico simulado (SGF) con los perfiles de liberación deseados.

35 La misma tecnología también es ventajosa para proporcionar formulaciones de vitaminas y minerales resistentes al calor y a la intemperie para aplicaciones agrícolas, tales como la suplementación de ganado para rumiantes (pH del rumen de 5,5-6,5). El uso de polímeros que proporcionan una liberación específica basada en el pH proporciona un medio para dirigir la liberación en una determinada región gastrointestinal para la mayor eficacia de la absorción y la retención de la bioactividad.

Breve descripción de las figuras

Las Figuras 1A-1G son un esquema de los componentes de las formulaciones. En una forma, la cubierta de polímero (Figura 1A), el núcleo de la matriz estabilizadora que contiene partículas de micronutrientes (Figura 1B),
45 el núcleo que contiene partículas de micronutrientes encapsuladas en la capa externa polimérica (Figura 1C) y el núcleo polimérico encapsulado con una capa externa que contiene partículas recubiertas de sal (Figura 1D) En otra forma, semillas de micronutrientes (partículas) encapsuladas en matriz de hidrogel (Figura 1E), partículas de hidrogel encapsuladas en polímero (Figura 1F) y recubiertas con sal (Figura 1G).

La Figura 2 es un gráfico que muestra la solubilidad de 10 mg/ml de EUDRAGIT® E PO ("EPO") en función del pH a 37 °C durante un período de ocho horas.

La Figura 3 es un gráfico que muestra la solubilidad de EUDRAGIT® E PO en fluido gástrico simulado (pH 1,2) a 37 °C durante 2,5 horas.

La Figura 4 es un gráfico que muestra el espesor de la cubierta de EUDRAGIT® E PO (micrómetros) en función de la concentración de EUDRAGIT® E PO en la solución de recubrimiento.

55 Las Figuras 5A-D son gráficos que muestran la liberación de colorante (porcentaje liberado) a 25 °C en agua y fluido gástrico simulado para el recubrimiento de EUDRAGIT® E PO al 1 % (Figura 5A), recubrimiento de EUDRAGIT® E PO al 5 % (Figura 5B), recubrimiento de EUDRAGIT® E PO al 10 % (Figura 5C) y recubrimiento de EUDRAGIT® E PO al 20 % (Figura 5D).

Las Figuras 6A y 6B son gráficos que muestran la liberación de un colorante azul en el agua (Figura 6A) y el fluido gástrico simulado (Figura 6B) para el recubrimiento EUDRAGIT® E PO al 5 % a 25 °C y 37 °C.

60 Las Figuras 7A y 7B muestran la liberación de B9 (porcentaje de liberación) en el agua (Figura 7A) y el fluido resistente gástrico simulado (Figura 7B) en función de la temperatura.

Las Figuras 8A y 8B muestran la liberación de B12 (porcentaje de liberación) en el agua (Figura 8A) y el fluido resistente gástrico simulado (Figura 8B) en función de la temperatura.

65 La Figura 9 es un gráfico de la estabilidad hidrolítica de las partículas de hidrogel de HA. Se comparó la masa de gel en función del tiempo de incubación a temperatura ambiente en agua o a 37 °C en fluido gástrico simulado

con el tiempo en horas.

Las Figuras 10A y 10B son gráficos que muestran la liberación *in vitro* acumulativa de un mineral representativo, NaFeEDTA (Figura 10A) y una vitamina representativa, la Vitamina B12 (Figura 10B), a partir de las partículas de hidrogel a lo largo del tiempo en horas.

Las Figuras 11A y 11B son gráficos que muestran la liberación acumulativa de los micronutrientes, NaFeEDTA (Figura 11A) y vitamina B12 (Figura 11B), a partir de las microesferas de EPO-hidrogel de HA a temperatura ambiente en agua, 37 °C en fluido gástrico simulado y 100 °C en agua, a lo largo del tiempo en horas.

Las Figuras 12A y 12B son gráficos que muestran la liberación acumulativa (%) del micronutriente KIO₃ a partir de las microesferas de EPO a temperatura ambiente en agua, 37 °C en fluido gástrico simulado y 100 °C en agua, a lo largo del tiempo en horas. Las microesferas de EPO se formaron usando 100 mg/ml de EPO (Figura 12A) o 200 mg/ml (Figura 12B).

La Figura 13 es un gráfico que muestra la liberación acumulativa (%) del micronutriente vitamina A a partir de las microesferas de EPO a temperatura ambiente en agua, 37 °C en fluido gástrico simulado y 100 °C en agua, a lo largo del tiempo en horas.

La Figura 14 es un gráfico que muestra la liberación acumulativa (%) del micronutriente vitamina D3 a partir de las microesferas de EPO a temperatura ambiente en agua, 37 °C en fluido gástrico simulado y 100 °C en agua, a lo largo del tiempo en horas.

La Figura 15 es un gráfico que muestra la liberación acumulativa (%) del micronutriente vitamina C a partir de las microesferas de EPO a temperatura ambiente en agua, 37 °C en fluido gástrico simulado y 100 °C en agua, a lo largo del tiempo en horas.

La Figura 16 es un gráfico que muestra la liberación acumulativa (%) del micronutriente vitamina B9 (ácido fólico) a partir de las microesferas de EPO-gelatina a temperatura ambiente en agua, 37 °C en fluido gástrico simulado y 100 °C en agua, a lo largo del tiempo en horas.

Descripción detallada de la invención

I. Definiciones

"Sensible al pH", como se usa en el presente documento, se refiere, en general, a materiales tales como polímeros, cuyas propiedades de disolución dependen del pH.

"Insoluble en agua", como se usa en el presente documento, significa que un material, tal como un polímero, no se disuelve en soluciones acuosas ni tampones por encima de pH 5.

"Térmicamente estable", como se usa en el presente documento, significa, en general, que un material es química y/o físicamente estable (por ejemplo, no se degrada) a las temperaturas encontradas durante la preparación y/o la cocción de alimentos (por ejemplo, hasta e incluyendo la ebullición) durante un período de menos de diez a veinte minutos, por ejemplo, hasta aproximadamente dos a aproximadamente cuatro horas.

"Estable a la temperatura de almacenamiento", como se usa en el presente documento, significa, en general, que un material es química y/o físicamente estable (por ejemplo, no se degrada) de aproximadamente -4 °C (por ejemplo, temperatura del refrigerador) a aproximadamente 25-35 °C, con un humedad del 40-60 %

"Micronutrientes", como se usa en el presente documento, se refiere, en general, a una sustancia, tal como una vitamina o un mineral que es esencial en pequeñas cantidades (por ejemplo, menos de 100 mg/día) para el crecimiento y metabolismo adecuados de un organismo vivo tal como un ser humano. "Micronutrientes" incluye tanto microminerales u oligoelementos como microvitaminas.

"No poroso", como se usa en el presente documento, significa, en general, un material tal como un polímero, que es impermeable al agua (por ejemplo, cuando se sumerge en la misma) a temperatura ambiente y en condiciones de cocción durante al menos 10 minutos, preferentemente hasta al menos varios días (por ejemplo, una semana, dos semanas). El material también es impermeable a la humedad cuando se almacena en seco durante al menos 10 minutos a al menos semanas, por ejemplo, una semana, dos semanas, tres semanas, 4 semanas, 5 semanas o 6 semanas.

El término "diámetro" es reconocido en la técnica, y se usa en el presente documento para referirse bien al diámetro físico o al diámetro hidrodinámico. El diámetro de la emulsión normalmente se refiere al diámetro hidrodinámico. El diámetro de las cápsulas, tanto en forma esférica como no esférica, puede referirse al diámetro físico en el estado hidratado. El diámetro de las partículas, coloides y células que están encapsuladas dentro de las cápsulas se refiere al diámetro físico en el estado hidratado. Como se usa en el presente documento, el diámetro de una partícula no esférica o una cápsula no esférica puede referirse a la mayor distancia lineal entre dos puntos en la superficie de la partícula. Cuando se refiere a múltiples partículas o cápsulas, el diámetro de las partículas o cápsulas normalmente se refiere al diámetro medio de las partículas o de las cápsulas. El diámetro de las partículas o los coloides se puede medir usando varias técnicas, que incluyen, pero sin limitación, la microscopía óptica o electrónica, así como la dispersión dinámica de la luz.

El término "biocompatible", como se usa en el presente documento, se refiere a uno o más materiales que no son tóxicos para el hospedador (por ejemplo, un animal o un ser humano) ni se degradan (si el material se degrada) a una velocidad que produzca subunidades monoméricas u oligoméricas u otros subproductos a concentraciones tóxicas en el hospedador.

El término "biodegradable", como se usa en el presente documento, significa que los materiales se degradan o se descomponen en sus subunidades constituyentes, o se digieren, por ejemplo, mediante un proceso bioquímico, del material en subunidades más pequeñas (por ejemplo, no poliméricas).

El término "microesferas" o "microcápsulas" se reconoce en la técnica, e incluye estructuras sólidas o semisólidas esencialmente esféricas, por ejemplo, formadas a partir de polímeros biocompatibles tales como las presentes composiciones, que tienen un tamaño que varía de aproximadamente uno o más hasta aproximadamente 1000 micrómetros. El término "micropartículas" también es reconocido en la técnica, e incluye microesferas y microcápsulas, así como estructuras que pueden no ubicarse fácilmente en ninguna de las dos categorías anteriores, todas con dimensiones, como media, de menos de aproximadamente 1.000 micrómetros. Una micropartícula puede ser esférica o no esférica, y puede tener cualquier forma regular o irregular. Si las estructuras tienen menos de aproximadamente un micrómetro de diámetro, entonces se pueden usar los términos correspondientes reconocidos por la técnica "nanosfera", "nanocápsula" y "nanopartícula". En ciertas realizaciones, las nanoesferas, nanocápsulas y nanopartículas tienen un diámetro medio de aproximadamente 500 nm, 200 nm, 100 nm, 50 nm, 10 nm o 1 nm.

"Matriz", como se usa en el presente documento, se refiere, en general, a uno o más materiales sólidos o semisólidos en los que están embebidos uno o más de otros materiales.

"Hidrogel", como se usa en el presente documento, es una red de cadenas poliméricas que son hidrófilas, que a veces se encuentran como un gel coloidal en el que el agua es el medio de dispersión. Los hidrogeles son redes poliméricas naturales o sintéticas altamente absorbentes (pueden contener más del 90 % de agua). Los hidrogeles también poseen un grado de flexibilidad muy similar al tejido natural, debido a su importante contenido de agua.

II. Formulaciones

Las formulaciones formadas por partículas distribuidas en una matriz que está recubierta o encapsulada con uno o más materiales sensibles al pH, insolubles en agua, térmicamente estables, encapsulados en una sal, se usan para la administración simultánea de sales, vitaminas y minerales traza y, opcionalmente, uno o más agentes terapéuticos, profilácticos y/o de diagnóstico. Los materiales sensibles al pH, insolubles en agua y térmicamente estables ayudan a estabilizar las vitaminas y minerales traza, en particular, a altas temperaturas tales como durante la preparación y la cocción, y efectúan la liberación de vitaminas y micronutrientes en las ubicaciones deseadas tras la ingestión (por ejemplo, estómago, intestino delgado, etc.). Las partículas pueden usarse para administrar dosis diarias recomendadas de micronutrientes a través de la sal, eliminando la necesidad de píldoras vitamínicas u otros agentes terapéuticos y profilácticos. Esto es particularmente importante en poblaciones que padecen malnutrición grave en países del tercer mundo. En algunas realizaciones, las partículas no son autoemulsionantes.

Como se describe a continuación, las partículas se forman a partir de vitaminas y micronutrientes. Estas partículas se dispersan luego en una matriz estabilizadora, formada, por ejemplo, por azúcares y/o aceites. La matriz, preferentemente de forma regular, tal como esférica, se recubre o encapsula luego con un polímero sensible al pH, preferentemente que forma una impermeabilidad al agua o que tiene una permeabilidad al agua reducida, que también puede actuar enmascarando el sabor de las partículas. La matriz encapsulada con partículas en la misma se recubre luego con sal.

En algunas realizaciones, las formulaciones de partículas/matriz recubiertas o encapsuladas con un polímero sensible al pH pueden usarse sin un recubrimiento de sal u otro material.

En la Figura 1, se ilustran ejemplos de dos formas de las formulaciones desveladas.

A. Partículas

Las partículas o semillas están formadas por uno o más micronutrientes, agentes terapéuticos, profilácticos y/o de diagnóstico. El diámetro de las partículas o semillas puede variar. Sin embargo, en algunas realizaciones, el diámetro medio es de aproximadamente unos cuantos nanómetros hasta aproximadamente 1.000 micrómetros, preferentemente de unos cuantos nanómetros hasta aproximadamente 500 micrómetros. Las partículas pueden contener agentes terapéuticos, agentes profilácticos y/o agentes de diagnóstico, pero lo más preferentemente es que sean minerales traza y vitaminas y/u otros micronutrientes.

Los ejemplos de micronutrientes incluyen, pero sin limitación, hierro, cobalto, cinc, manganeso, cobre, yodo, selenio, molibdeno, cromo, vitamina A, beta caroteno, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B3, vitamina B6, vitamina B9 (ácido fólico), vitamina B12, vitamina C, vitamina D3, vitamina E, vitamina K, ácido pantoténico, biotina y combinaciones de

los mismos. La dosis diaria requerida de la mayoría de los micronutrientes es inferior a 100 mg/día. Los valores recomendados se muestran en la Tabla 1, del Departamento estadounidense de Agricultura de 2013.

5 La vitamina A participa en procesos fisiológicos que dan lugar a la diferenciación celular, la madurez celular y la especificidad celular. La vitamina A es un componente importante de un suplemento nutricional para sujetos en estados fisiológicamente estresantes, tales como los causados por el embarazo, la lactancia o un estado patológico. La vitamina A puede incluirse en forma de acetato. El 100 % del RDA para niños de 6 a 59 meses es de 0,9 mg/día. El 50 % del RDA para una mujer adulta es de 0,45 mg/día. Las formas útiles de vitamina A para las formulaciones desveladas incluyen palmitato de retinilo, acetato de retinilo y beta-caroteno.

10

Consumos alimentarios de referencia (DRI): Necesidades medias estimadas. Comité de Alimentación y Nutrición, Instituto de Medicina, Academias Nacionales

Grupo de edad	Calcio (mg/d)	CHO (g/d)	Proteína (g/kg/d)	Vit A (µg/d) ²	C (mg/d)	Vit D (µg/d)	Vit E (mg/d) ^b	Tiamina (mg/d)	Riboflavina (mg/d)	Niacina (mg/d) ^c
Lactantes										
0 a 6 meses										
6 a 12 meses			1,0							
Niños										
1-3 años	500	100	0,87	210	13	10	5	0,4	0,4	5
4-8 años	800	100	0,76	275	22	10	6	0,5	0,5	6
Varones										
9-13 años	1.100	100	0,76	445	39	10	9	0,7	0,8	9
14-18 años	1.100	100	0,73	630	63	10	12	1,0	1,1	12
19-30 años	800	100	0,66	625	75	10	12	1,0	1,1	12
31-50 años	800	100	0,66	625	75	10	12	1,0	1,1	12
51-70 años	800	100	0,66	625	75	10	12	1,0	1,1	12
> 70 años	1.000	100	0,66	625	75	10	12	1,0	1,1	12
Mujeres										
9-13 años	1.100	100	0,76	420	39	10	9	0,7	0,8	9
14-18 años	1.100	100	0,71	485	56	10	12	0,9	0,9	11
19-30 años	800	100	0,66	500	60	10	12	0,9	0,9	11
31-50 años	800	100	0,66	500	60	10	12	0,9	0,9	11
51-70 años	1.000	100	0,66	500	60	10	12	0,9	0,9	11
> 70 años	1.000	100	0,66	500	60	10	12	0,9	0,9	11
Embarazadas										
14-18 años	1.000	135	0,88	530	66	10	12	1,2	1,2	14
19-30 años	800	135	0,88	530	70	10	12	1,2	1,2	14
31-50 años	800	135	0,88	530	70	10	12	1,2	1,2	14
Lactancia										
14-18 años	1.000	160	1,05	885	96	10	16	1,2	1,3	13
19-30 años	800	160	1,05	900	100	10	16	1,2	1,3	13
31-50 años	800	160	1,05	900	100	10	16	1,2	1,3	13

Grupo de edad	Vit B6 (mg/d)	Folato (µg/d) ^d	Vit B12 (µg/d)	Cobre (µg/d)	Yodo (µg/d)	Hierro (mg/d)	Magnesio (mg/d)	Molibdeno (µg/d)	Fósforo (mg/d)	Selenio (µg/d)	Cinc (mg/d)
Lactantes 0 a 6 meses 6 a 12 meses						6,9					2,5
Niños 1-3 años 4-8 años	0,4 0,5	120 160	0,7 1,0	260 340	65 65	3,0 4,1	65 110	13 17	380 405	17 23	2,5 4,0
Varones 9-13 años 14-18 años 19-30 años 31-50 años 51-70 años > 70 años	0,8 1,1 1,1 1,1 1,4 1,4	250 330 320 320 320 320	1,5 2,0 2,0 2,0 2,0 2,0	540 685 700 700 700 700	73 95 95 95 95 95	5,9 7,7 6 6 6 6	200 340 330 350 350 350	26 33 34 34 34 34	1.055 1.055 580 580 580 580	35 45 45 45 45 45	7,0 8,5 9,4 9,4 9,4 9,4
Mujeres 9-13 años 14-18 años 19-30 años 31-50 años 51-70 años > 70 años	0,8 1,0 1,1 1,1 1,3 1,3	250 330 320 320 320 320	1,5 2,0 2,0 2,0 2,0 2,0	540 685 700 700 700 700	73 95 95 95 95 95	5,7 7,9 8,1 8,1 5 5	200 300 255 265 265 265	26 33 34 34 34 34	1.055 1.055 580 580 580 580	35 45 45 45 45 45	7,0 7,3 6,8 6,8 6,8 6,8
Embarazadas 14-18 años 19-30 años 31-50 años	1,6 1,6 1,6	520 520 520	2,2 2,2 2,2	785 800 800	160 160 160	23 22 22	335 290 290	40 40 40	1.055 580 580	49 49 49	10,5 9,5 9,5
Lactancia 14-18 años 19-30 años	1,7 1,7	450 450	2,4 2,4	985 1.000	209 209	7 6,5	300 255	35 36	1.055 580	59 59	10,9 10,4

Lactancia 31-50 años	1,7	450	2,4	1.000	209	6,5	265	36	580	59	10,4
-------------------------	-----	-----	-----	-------	-----	-----	-----	----	-----	----	------

NOTA: Las necesidades medias estimadas (EAR) son el nivel de consumo de nutrientes diario medio estimado para cubrir las necesidades de la mitad de los individuos sanos de un grupo. No se han establecido las EAR para la vitamina K, el ácido pantoténico, la biotina, la colina, el cromo, el fluoruro, el manganeso u otros nutrientes que todavía no se han evaluado mediante el proceso de DRI.

^aComo equivalentes de actividad del retinol (RAE). 1 RAE = 1 µg de retinol, 12 µg de β-caroteno, 24 µg de α-caroteno o 24 µg de β-criptoxantina. El RAE para los carotenoides de provitamina A de la dieta es dos veces superior a los equivalentes de retinol (RE), mientras que el RAE para la vitamina A es el mismo que el RE.

^bComo α-tocoferol. El α-tocoferol incluye el *RRR*-α-tocoferol, la única forma de α-tocoferol que se da de manera natural en los alimentos, y las formas 2*R*-estereoisoméricas de α-tocoferol (*RRR*-, *RSR*-, *RRS*- y *RSS*-α-tocoferol) que se dan en los alimentos enriquecidos y en los suplementos. No incluye las formas 2*S*-estereoisoméricas de α-tocoferol (*SRR*-, *SSR*-, *SRS*- y *SSS*-α-tocoferol) que también se dan en los alimentos enriquecidos y en los suplementos.

^cComo equivalentes de niacina (NE). 1 mg de niacina = 60 mg de triptófano.

^dComo equivalentes de folato de la dieta (DFE). 1 DFE = 1 µg de folato alimentario = 0.6 µg de ácido fólico del alimento enriquecido o como un suplemento consumido con el alimento = 0.5 µg de un suplemento tomado con el estómago vacío. FUENTES: "Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorous, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride (1997)"; "Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline (1998)"; "Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids (2000)"; "Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc (2001)"; "Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (2002/2005)"; y "Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D (2011)". Estos informes se pueden consultar en la página Web nap.edu.

El beta-caroteno se convierte en vitamina A en el organismo según sea necesario. El beta-caroteno también tiene poderosas propiedades antioxidantes. Los antioxidantes son importantes durante los eventos fisiológicamente estresantes por numerosas razones. Por ejemplo, la peroxidación lipídica se ha asociado con más de 200 procesos patológicos. Los antioxidantes son especialmente importantes durante el embarazo, porque, en el primer trimestre, el establecimiento del flujo sanguíneo hacia el espacio intervelloso se asocia con un estallido del estrés oxidativo. La incapacidad para montar una defensa antioxidante eficaz contra dicho estallido produce un aborto precoz. Además, el estrés oxidativo ha sido implicado en la fisiopatología de la preeclampsia, una toxemia del embarazo. Finalmente, el estrés oxidativo durante el embarazo desempeña un papel importante en el crecimiento fetal, y los niveles de antioxidantes saludables se correlacionan positivamente con el peso y la longitud en el nacimiento.

El complejo B contiene nutrientes hidrosolubles que, en general, no se almacenan en el organismo. Desempeñan papeles en varios procesos biológicos fundamentales para la salud de las mujeres embarazadas, las mujeres en época de lactancia y los fetos tales como, por ejemplo, el metabolismo de la homocisteína. Las vitaminas del complejo B contienen una o más de entre vitamina B, vitamina B2, vitamina B3, vitamina B6, vitamina B9 y vitamina B12. Las vitaminas B a menudo funcionan en concierto entre sí, y se supone que las deficiencias de múltiples vitaminas B son más comunes que las deficiencias de una sola vitamina B.

La vitamina B1 desempeña un papel en el metabolismo de los hidratos de carbono y la función neuronal. Es una coenzima para la descarboxilación oxidativa de los alfa-cetoácidos (por ejemplo, el alfa-cetoglutarato y piruvato) y para la transcetolasa, que es un componente de la vía de la pentosa fosfato. La vitamina B1 puede incluirse en forma de mononitrato de tiamina.

La vitamina B2 es un componente de dos coenzimas de flavina, el mononucleótido de flavina (FMN) y el dinucleótido de flavina y adenina (FAD). Estas flavoenzimas participan en una serie de reacciones de oxidación-reducción que incluyen la conversión de piridoxina y niacina. Las flavoenzimas también desempeñan un papel en una serie de vías metabólicas tales como la desaminación de aminoácidos, la degradación de las purinas y la oxidación de los ácidos grasos y, por lo tanto, ayudan a mantener el metabolismo de los hidratos de carbono, los aminoácidos y los lípidos. La vitamina B2 puede incluirse en forma de riboflavina.

La vitamina B3, o "niacina", es el nombre común de dos compuestos: el ácido nicotínico (también denominado niacina) y la niacinamida (también denominada nicotinamida). La vitamina B3 es importante para mantener niveles saludables y tipos de ácidos grasos. También se requiere para la síntesis de la piroxidina, la riboflavina y el ácido fólico. La administración de vitamina B3 también puede producir una reducción en los niveles de colesterol total (LDL) y de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y un aumento en los niveles de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL). El dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) y el fosfato de NAD (NADP) son coenzimas activas de niacina. Estas coenzimas participan en numerosas reacciones enzimáticas tales como la glucólisis, el metabolismo de los ácidos grasos y la síntesis de esteroides. La vitamina B3 puede incluirse en forma de niacinamida. En otra realización, la formulación puede incluir una cantidad molar equivalente de niacina.

La vitamina B6 puede reducir los niveles de homocisteína. Las formas activas de vitamina B6, el piridoxal-5'-fosfato (PLP) y el piridoxamina-5'-fosfato, son coenzimas para numerosas enzimas y, como tales, son importantes para la gluconeogénesis, la formación de niacina y el metabolismo de los eritrocitos. La vitamina B6 es una coenzima tanto para la cistationina sintasa como para la cistationasa, enzimas que catalizan la formación de cisteína a partir de metionina. La homocisteína es un producto intermedio en este proceso, y los niveles elevados de homocisteína plasmática se reconocen como un factor de riesgo tanto para la enfermedad vascular como para los defectos del tubo neuronal. La vitamina B6 puede incluirse en forma de clorhidrato de piridoxina.

La vitamina B9 puede prevenir los defectos del tubo neuronal tales como la espina bífida causada por el metabolismo alterado de la homocisteína. La vitamina B9 también es importante para la formación de glóbulos rojos y blancos dentro de la médula ósea, y desempeña un papel en la formación del hemo. Además, las deficiencias del folato inhiben la actividad de la vitamina B1. La vitamina B9 puede incluirse en forma de ácido fólico. En otra realización, la vitamina B9 puede incluirse en las formas de ácido fólico, folacina, metafolina, folato y/o uno o más isómeros naturales de folato que incluyen ácido (6S)-tetrahidrofólico o un derivado de poliglutamilo del mismo, ácido 5-metil-(6S)-tetrahidrofólico o un derivado de poliglutamilo del mismo, ácido 5-formil-(6S)-tetrahidrofólico o un derivado de poliglutamilo del mismo, ácido 10-formil-(6R)-tetrahidrofólico o un derivado de poliglutamilo del mismo, ácido 5,10-metilen-(6R)-tetrahidrofólico o un derivado de poliglutamilo del mismo, ácido 5,10-metenil-(6R)-tetrahidrofólico o un derivado de poliglutamilo del mismo y ácido 5-formimino-(6S)-tetrahidrofólico o un derivado de poliglutamilo del mismo. El 100 % del RDA para niños de 6-59 meses es de 0,15 mg/día. El 50 % del RDA para una mujer adulta es de 0,2 mg/día. Una forma útil de vitamina B9 para las formulaciones desveladas es el ácido fólico.

La vitamina B12 se puede convertir en las coenzimas activas metilcobalamina y 5'-desoxiadenosilcobalamina. Estas coenzimas son necesarias para el metabolismo del ácido fólico, la conversión de la coenzima A y la síntesis de mielina. La metilcobalamina también cataliza la desmetilación de un cofactor de folato, que está implicado en la síntesis de ADN. La falta de desmetilación puede ocasionar deficiencia de ácido fólico. La desoxiadenosilcobalamina es la coenzima para la conversión de metilmalonil-CoA en succinil-CoA, que desempeña un papel en el ciclo del ácido cítrico. La cobalamina, junto con la piridoxina y el ácido fólico, también participan en el metabolismo adecuado

de la homocisteína, un producto de degradación del aminoácido metionina que se correlaciona con un mayor riesgo de enfermedades del corazón debido a sus efectos negativos en la función endotelial. La vitamina B12 puede incluirse en forma de cianocobalamina. El 100 % del RDA para niños de 6 a 59 meses es de 0,0009 mg/día. El 50 % del RDA para una mujer adulta es de 0,0012 mg/día. Las formas útiles de vitamina B12 para las formulaciones desveladas incluyen la cianocobalamina y metilcobalamina.

La vitamina C es un cosustrato en las hidroxilaciones catalizadas con metal. Al igual que el beta-caroteno, la vitamina C tiene propiedades antioxidantes. Interactúa directamente con los radicales superóxido hidroxilo y el oxígeno singlete, y también proporciona protección antioxidante para el folato y la vitamina E, manteniendo la vitamina E en su forma más potente. La vitamina C puede producir efectos protectores contra la preeclampsia al participar en la eliminación de los radicales libres. De hecho, se han observado niveles significativamente más bajos de vitamina C en las mujeres preeclámpticas que en los controles.

La vitamina C también potencia la absorción del hierro. Además, se requiere vitamina C para la síntesis del colágeno, la síntesis de epinefrina y la formación de ácidos biliares. Además, la vitamina C ha estado implicada en la inhibición de la aterosclerosis al estar presente en el fluido extracelular de la pared arterial y potenciar la actividad del óxido nítrico, normalizando así la función vascular. La vitamina C puede incluirse en forma de ácido ascórbico. El 100 % del RDA para niños de 6 a 59 meses es de 30 mg/día. El 50 % del RDA para una mujer adulta es de 37,5 mg/día. Las formas útiles de vitamina C para las formulaciones desveladas incluyen ácido ascórbico y ascorbato de sodio.

La vitamina D3 es una sustancia "de tipo hormonal" soluble en grasa importante para el mantenimiento de los huesos sanos. Esta vitamina aumenta la absorción del calcio y del fósforo del tracto gastrointestinal y mejora la reabsorción de los minerales en el tejido óseo. La vitamina D se puede convertir en su forma activa a partir de la exposición de la piel a la luz solar. Las deficiencias en la vitamina D3 pueden conducir a un aumento del recambio y de la pérdida ósea, y cuando son graves, a la osteomalacia o ablandamiento de los huesos. Se ha demostrado que la suplementación con vitamina D3 reduce moderadamente la pérdida ósea, aumenta el nivel de 25-hidroxi-vitamina D y disminuye los niveles de hormona paratiroidea en suero. La vitamina D3 también desempeña un papel en el mantenimiento de la homeostasis del calcio y del fósforo, pero también es activa en la diferenciación celular y la función inmune. La vitamina D3 puede incluirse en forma de colecalciferol. El 100 % del RDA para niños de 6 a 59 meses es de 0,005 mg/día. El 50 % del RDA para una mujer adulta es de 0,0075 mg/día. Las formas útiles de vitamina D para las formulaciones desveladas incluyen el colecalciferol y el ergocalciferol.

La vitamina E es un antioxidante vitamínico soluble en grasa que se encuentra en las membranas biológicas donde protege la membrana fosfolípida del estrés oxidativo. La vitamina E inhibe la oxidación de los ácidos grasos insaturados atrapando los radicales libres de peróxido. También es un agente antiaterogénico, y los estudios han demostrado un riesgo reducido de enfermedad coronaria con un aumento de la ingesta de vitamina E. Además, la vitamina E, como el betacaroteno y la vitamina C, puede proporcionar efectos protectores contra la preeclampsia al participar en la eliminación de radicales libres. Al igual que con la vitamina C, se han observado niveles significativamente más bajos de vitamina E en las mujeres preeclámpticas que en los controles. La vitamina E puede incluirse en forma de acetato d-alfa-tocoferilo o succinato de d-alfa tocoferilo.

El hierro es necesario para transportar oxígeno a los tejidos corporales a través de la parte de hemoglobina de los glóbulos rojos. La ingesta suplementaria de hierro es fundamental para prevenir la anemia, un trastorno asociado con varios estados fisiológicos que incluyen, por ejemplo, el embarazo o una alta infestación parasitaria. Las formulaciones pueden incluir hierro en forma quelada o no quelada. El hierro puede incluirse en forma de un complejo de hierro polisacárido. En otra realización específica, el hierro puede incluirse en forma de una cantidad molar equivalente de fumarato ferroso. El 100 % del RDA para niños de 6 a 59 meses es de 10 mg/día. El 50 % del RDA para una mujer adulta es de 9 mg/día. Las formas útiles de hierro para las formulaciones desveladas incluyen NaFeEDTA, sulfato ferroso, gluconato ferroso, fumarato ferroso y pirofosfato férrico.

El magnesio se encuentra principalmente en los huesos y los músculos, y es importante para más de 300 reacciones enzimáticas diferentes. Una función primaria del magnesio es la de unirse a los grupos fosfato en trifosfato de adenosina (ATP), formando así un complejo que ayude en la transferencia del fosfato de ATP. El magnesio también funciona dentro de las células como un estabilizador de membrana. El magnesio desempeña papeles en la síntesis de ácidos nucleicos, la glucólisis, la transcripción del ADN y ARN, la activación de aminoácidos, el transporte de membranas, las reacciones de la transcetolasa y la síntesis de proteínas. También participa en la formación de cAMP, un segundo mensajero citosólico que desempeña un papel en los mecanismos de señalización celular. El magnesio también funciona de manera sinérgica y antagonista con el calcio en la transmisión neuromuscular. En concreto, el magnesio es fundamental para el mantenimiento de los potenciales electroquímicos de las membranas nerviosas y musculares, y las transmisiones de las conexiones neuromusculares, en particular importantes en el corazón. No es sorprendente que la deficiencia de magnesio esté ligada a la enfermedad cardiovascular y a la hipertensión. De hecho, la terapia oral con magnesio mejora la función endotelial en pacientes con enfermedad coronaria.

El magnesio está disponible en varias sales y puede incluirse en las formulaciones en forma quelada o no. En una realización, el magnesio se incluye en forma de óxido de magnesio.

El cinc desempeña un papel en numerosas actividades metabólicas tales como la producción de ácido nucleico, la síntesis de proteínas y el desarrollo del sistema inmunitario. Existen más de 200 metaloenzimas de cinc que incluyen la aldolasa, la alcohol deshidrogenasa, la ARN polimerasa y la proteína quinasa C. El cinc estabiliza las estructuras de ARN y ADN, forma dedos de cinc en los receptores nucleares y es un componente de proteínas de cromatina implicadas en la transcripción y la replicación. Se ha demostrado que las deficiencias de cinc durante el embarazo contribuyen a que se produzcan anomalías fetales graves. El cinc está disponible en muchas formas y puede incluirse en las formulaciones en forma quelatada o no. En una realización, el cinc puede incluirse en forma de óxido de cinc. El 100 % del RDA para niños de 6 a 59 meses es de 4,1 mg/día. El 50 % del RDA para una mujer adulta es de 8 mg/día. Las formas útiles de cinc para las formulaciones desveladas incluyen acetato de cinc, gluconato de cinc, picolinato de cinc y sulfato de cinc.

El selenio es un micronutriente esencial para los animales. El selenio es un componente de los aminoácidos selenocisteína y selenometionina. El selenio funciona como cofactor para la reducción de enzimas antioxidantes tales como las glutatión peroxidasas y ciertas formas de tioredoxina reductasa. La familia de enzimas de glutatión peroxidasa (GSH-Px) cataliza ciertas reacciones que eliminan las especies de oxígeno reactivo tales como el peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos orgánicos.

El selenio también desempeña un papel en el funcionamiento de la glándula tiroides y en cada célula que usa la hormona tiroidea, al participar como cofactor de los tres tipos conocidos de hormonas tiroideas desyodinasas, que activan y luego desactivan varias hormonas tiroideas y sus metabolitos: las yodotironinas desyodinasas son la subfamilia de enzimas desyodinasas que usan el selenio como el aminoácido selenocisteína, por lo demás, raro. El selenio puede inhibir la enfermedad de Hashimoto, en la que las propias células de la tiroides del organismo son atacadas como foráneas.

El manganeso es un nutriente traza esencial. Las clases de enzimas que tienen cofactores de manganeso son muy amplias e incluyen oxidorreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas, ligasas, lectinas e integrinas.

El cobre es un oligoelemento esencial en los animales. Debido a su función para facilitar la absorción del hierro, la deficiencia de cobre puede producir síntomas similares a la anemia, neutropenia, anomalías óseas, hipopigmentación, deterioro del crecimiento, aumento de la incidencia de infecciones, osteoporosis, hipertiroidismo y anomalías en el metabolismo de la glucosa y del colesterol.

El cobalto es un oligoelemento esencial. Es un componente clave de la cobalamina, también conocida como vitamina B12, que es el principal reservorio biológico de cobalto como "ultraoligoelemento". Las proteínas a base de cobalamina usan corrina para contener el cobalto. La coenzima B12 presenta un enlace reactivo C-Co que participa en sus reacciones. En seres humanos, la B12 existe con dos tipos de ligando de alquilo: metilo y adenosilo. MeB12 potencia las transferencias de grupos de metilo (-CH₃). La versión de adenosilo de B12 cataliza los reordenamientos en los que un átomo de hidrógeno se transfiere directamente entre dos átomos adyacentes con un intercambio concomitante del segundo sustituyente, X, que puede ser un átomo de carbono con sustituyentes, un átomo de oxígeno de un alcohol o una amina. La coenzima A metilmalonilo mutase (MUT) convierte la MM1-CoA en Su-CoA, una etapa importante en la extracción de energía de proteínas y grasas.

El papel principal de yodo en la biología animal es como componente de las hormonas tiroideas, la tiroxina (T₄) y la triyodotironina. Se componen de productos de condensación de adición del aminoácido tirosina, y se almacenan antes de su liberación en una proteína que contiene yodo denominada tiroglobulina. T₄ y T₃ contienen cuatro y tres átomos de yodo por molécula, respectivamente. La glándula tiroides absorbe activamente el yoduro de la sangre para producir y liberar estas hormonas en la sangre, acciones que están reguladas por una segunda hormona. Las hormonas tiroideas desempeñan un papel básico en la biología, actuando sobre la transcripción génica para regular la velocidad metabólica basal. La deficiencia total de hormonas tiroideas puede reducir la velocidad metabólica basal hasta en un 50 %, mientras que en la producción excesiva de hormonas tiroideas, la velocidad metabólica basal puede aumentarse en un 100 %.

El yodo tiene una relación nutricional con el selenio. Una familia de enzimas dependientes del selenio, denominadas desyodinasas, convierte la T₄ en T₃ (la hormona activa) eliminando un átomo de yodo del anillo externo de tirosina. Estas enzimas también convierten la T₄ en T₃ inversa (rT₃) eliminando un átomo de yodo del anillo interno y convirtiendo la T₃ en 3,3'-diyodotironina (T₂) también eliminando un átomo del anillo interno. También es importante para el desarrollo fetal y neonatal. El 100 % del RDA para niños de 6 a 59 meses es de 0,09 mg/día. El 50 % del RDA para una mujer adulta es de 0,075 mg/día. Las formas útiles de yodo para las formulaciones desveladas incluyen yoduro de potasio y yodato de potasio.

También se pueden incluir otros agentes terapéuticos, nutricionales, profilácticos o de diagnóstico. En una realización, se incorporan agentes antiparasitarios en las partículas. Los agentes antiparasitarios, tales como los agentes antiprotozoarios, antihelmínticos y combinaciones de los mismos, incluyen, pero sin limitación,

antinelmatodos, anticestodos, antitrematodos, antiamoébcos, antiprotozoarios y combinaciones de los mismos.

Los fármacos antinelmatodos adecuados incluyen, pero sin limitación, bencimidazoles (por ejemplo, mebendazol, tiabendazol), avermectinas (por ejemplo, ivermectina), pamoato de pirantel, dietilcarbamazina y combinaciones de los mismos.

Los anticestodos adecuados incluyen, pero sin limitación, niclosamina, praziquantel, albendazol, y combinaciones de los mismos.

Los antitrematodos adecuados incluyen, pero sin limitación, praziquantel.

Los antiamoébcos adecuados incluyen, pero sin limitación, rifampina, anfotericina B y combinaciones de los mismos.

Los antiprotozoarios adecuados incluyen, pero sin limitación, melarsoprol, eflornitina, metronidazol, tinidazol, miltefosina y combinaciones de los mismos.

Las partículas pueden contener uno o más agentes antivirales y/o antimicrobianos. Los agentes adecuados incluyen agentes antigripales, agentes antipoliavirus, agentes antihepatitis, agentes antiarborovirales (virus transmitidos por artrópodos tales como fiebre del dengue, fiebre amarilla y malaria), agentes antirrotavirus, agentes anti-ébola, agentes anti-virus Marburg, agentes anti-virus Lassa y combinaciones de los mismos. Los agentes antimicrobianos adecuados incluyen, pero sin limitación, agentes anti-cólera, agentes anti-*E-coli*, agentes antituberculosos, agentes anti-lepra y combinaciones de los mismos.

Se pueden combinar diferentes agentes y diferentes combinaciones de agentes en la misma partícula, diferentes partículas o combinaciones de las mismas. Esto se puede hacer por razones de conveniencia, tales como tener partículas separadas para diferentes agentes por la conveniencia de combinar o mezclar diferentes agentes en diferentes formulaciones, o para aumentar u optimizar la estabilidad o forma de los agentes en función de la composición de la partícula.

Se pueden dispersar diferentes agentes y diferentes combinaciones de agentes en las mismas partículas de la matriz, diferentes partículas de la matriz o combinaciones de las mismas. Esto se puede hacer por razones de conveniencia, tales como tener partículas de matriz separadas para diferentes agentes por la conveniencia de combinar o mezclar diferentes agentes en diferentes formulaciones, o para aumentar u optimizar la estabilidad o forma de los agentes en función de la composición de la partícula.

Los agentes deben ser estables en las condiciones que se encuentran durante el almacenamiento, la preparación y/o la cocción de los alimentos.

B. Materiales matriciales

Las partículas se dispersan en una matriz que puede incluir materiales estabilizantes tales como azúcares y aceites, hidrogeles o combinaciones de los mismos.

Azúcares/aceites estabilizantes

Las partículas se pueden dispersar en una matriz formada por uno o más materiales estabilizantes tales como azúcares y/o aceites. En una realización, la matriz se forma a partir de uno o más azúcares que estabilizan los materiales que forman las partículas. Los azúcares ilustrativos incluyen, pero sin limitación, sacarosa, trehalosa e hidratos de carbono tales como componentes vegetales.

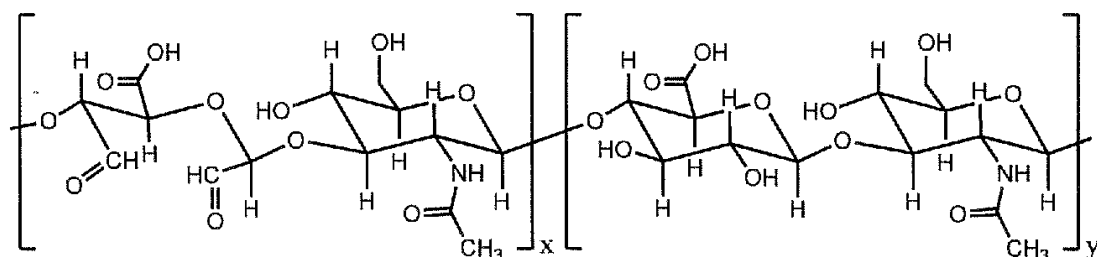
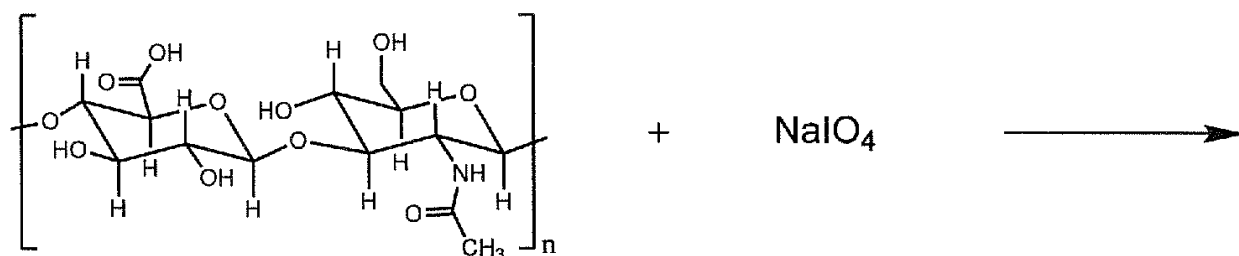
Hidrogeles

La matriz para los micronutrientes puede formarse de un hidrogel, que luego se encapsule con sal para la formulación y administración. Hay una serie de biocompatibles y GRAS (considerados, en general, seguros por la Administración de Alimentos y Medicamentos). Los ejemplos demuestran la formulación usando ácido hialurónico. Otros polímeros naturales incluyen ciclodextrina, colágeno, alginato, gelatina y quitina. Los polímeros sintéticos que forman hidrogeles incluyen polietilenglicol y copolímeros del mismo, dimetacrilato de etilenglicol, metacrilato de hidroxietilo, poli(óxido de butileno), policaprolactona, poli(óxido de etileno) y copolímeros del mismo, poli(etilenimina), poli(metacrilato de etilo), fumarato de propileno, poli(hidroxibutirato), poli(metacrilato de hidroxietilo), poli(metacrilamida de hidroxipropilo), poli(ácido láctico), poli(ácido láctico-co-glicólico), poli(N-vinilpirrolidona), poli(óxido de propileno), poli(alcohol vinílico), poli(acetato de vinilo) y poli(vinilamina). Se puede usar cualquier material para formar la matriz siempre que se pueda recubrir con el recubrimiento o la cubierta de polímero.

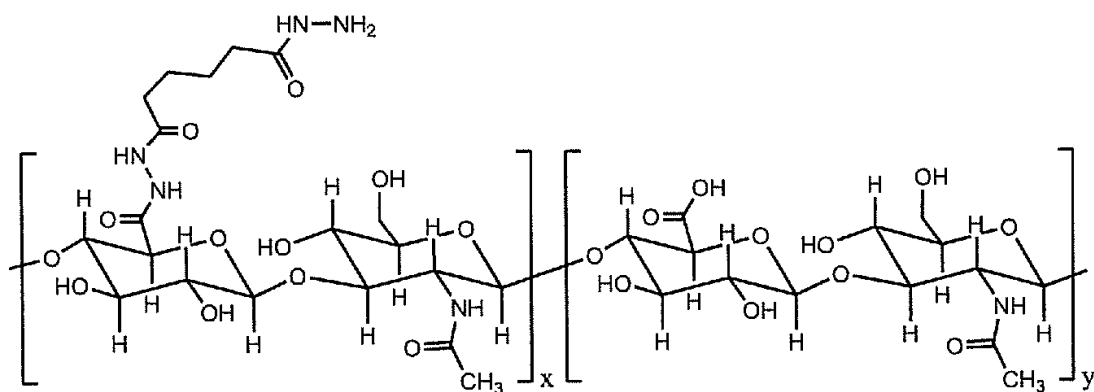
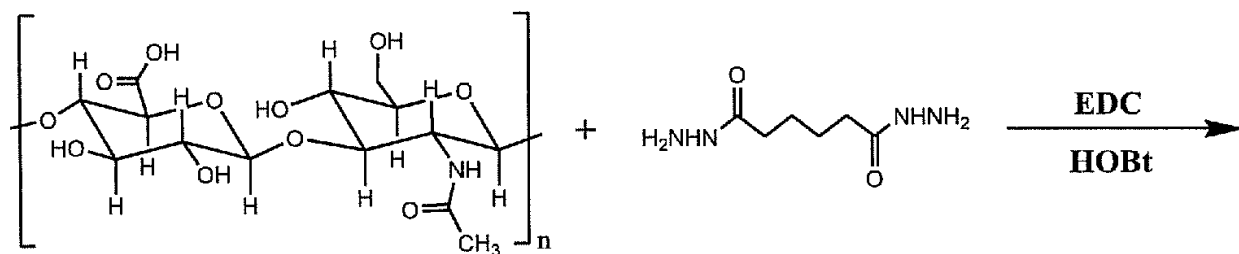
Los polímeros se seleccionan por su compatibilidad con las condiciones de procesamiento y los requisitos de estabilidad, y pueden requerir algunas modificaciones químicas para aumentar la estabilidad en las condiciones que

se usarán. Estos materiales se pueden usar en su forma polimérica pura (no gel), modificada y no modificada, o en forma de gel. Los criterios para la selección incluyen 1) mejor estabilidad de los micronutrientes del ambiente (por ejemplo, humedad, almacenamiento, cocción, etc.); 2) protección de los micronutrientes de otras especies químicamente reactivas; y 3) liberación rápida (< 1 h) en líquido gástrico/estómago.

5 En la realización preferida, la matriz se fabrica de un derivado de ácido hialurónico como se muestra a continuación.



HA-CHO



HA-HYZ

C. Polímeros sensibles al pH, térmicamente estables

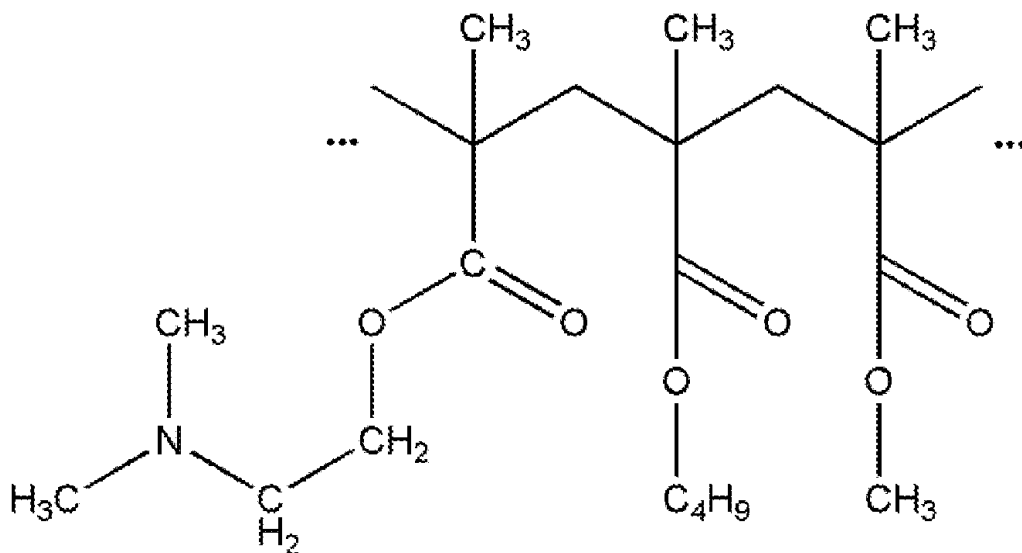
Se recubre o encapsula la matriz con uno o más polímeros biocompatibles térmicamente estables y sensibles al pH. La solubilidad del polímero depende del pH de modo que se pueda lograr un punto de liberación deseado seleccionando el polímero apropiado. Por ejemplo, si se desea liberar en el estómago, el polímero sensible al pH se disuelve idealmente a un pH inferior a 3, preferentemente inferior a 2, tal como 1-2. En otras realizaciones, se puede desear la liberación en el intestino delgado, en donde el polímero se disuelva al pH superior del duodeno (pH 6-6,5) o intestino delgado, tal como 6-8, más preferentemente 7-8. Para aplicaciones agrícolas, tales como los suplementos minerales para rumiantes como ganado, ovejas y cabras, la liberación de pH de entre 5 y 6 es deseable para lograr la liberación dentro del rumen.

El polímero también es térmicamente estable. "Térmicamente estable", como se usa en el presente documento, significa que a una temperatura dada, el recubrimiento polimérico no se degrada y permite la fuga de los materiales del núcleo. Los polímeros preferidos son térmicamente estables durante la cocción, de modo que la formulación se puede agregar a los alimentos como la sal normal. Por lo general, los alimentos se preparan hirviendo o cocinando a fuego lento durante de 10 minutos a horas, cocinando en una olla o sartén sobre el fuego, u horneando en un horno durante de 15 minutos a una hora. Las formulaciones normalmente se diseñarán para las condiciones de cocción más comunes en la región geográfica en la que se distribuirá la formulación de sal.

El polímero es preferentemente insoluble en agua, de modo que el recubrimiento polimérico no se disuelva cuando esté en contacto con humedad o agua o una solución acuosa, tal como durante el almacenamiento o la cocción. El recubrimiento polimérico debe permanecer lo suficientemente intacto, por ejemplo, hasta o al menos aproximadamente una hora, de modo que los agentes encapsulados no se liberen ni se desnaturalicen. El polímero es suficientemente no poroso de manera que el agua u otros medios acuosos no puedan difundirse a través del polímero y disolver los materiales en el núcleo. La ausencia de porosidad también puede servir para estabilizar los materiales en el núcleo al evitar la oxidación de los materiales sensibles al aire. El material debe permanecer no poroso en condiciones de almacenamiento durante un período de semanas a meses y durante al menos aproximadamente 20 minutos a aproximadamente 4 horas, preferentemente durante al menos aproximadamente 20 minutos a aproximadamente 2 horas, más durante al menos aproximadamente 20 minutos a aproximadamente 1 hora en condiciones de preparación y/o cocción de alimentos.

Los polímeros ilustrativos incluyen polimetacrilatos comercializados con el nombre comercial EUDRAGIT[®], polímeros celulósicos naturales (por ejemplo, succinato de acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa y succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulosa) y otros polisacáridos (por ejemplo, alginato de sodio, pectina, quitosano) o sus derivados semisintéticos o sintéticos, poli(2-vinilpiridina-co-estireno), ftalato de poli(acetato de vinilo), goma laca, ácidos grasos (por ejemplo, ácido esteárico), ceras, plásticos y fibras vegetales.

En algunas realizaciones, el uno o más polímeros es un EUDRAGIT[®]. En algunas realizaciones, el EUDRAGIT[®] se disuelve a un pH inferior a 6, preferentemente inferior a 5, 4 o 3, tal como de 1 a 3 o de 1 a 2. Dichos polímeros tienen normalmente grupos funcionales, que están protonados a bajo pH, tales como aminas, que aumentan la solubilidad en medios acuosos debido a la formación de grupos cargados. Los ejemplos de dichos polímeros incluyen, pero sin limitación, EUDRAGIT[®] E PO (metacrilato de dimetilaminoetilo, metacrilato de butilo y metacrilato de metilo (proporción 2:1:1); "EPO"), quitosano, polímeros que son catiónicos o se vuelven catiónicos en ciertas condiciones (por ejemplo, *in vivo*). A continuación, se muestra la estructura de EUDRAGIT[®] E PO:



Esquema 2

En otras realizaciones, el polímero es un polímero entérico que se disuelve a un pH superior al pH del estómago, tal como superior a pH 5-6. Dichos polímeros normalmente tienen grupos funcionales que forman sales (por ejemplo, ácidos carboxílicos) a un pH más alto para aumentar la solubilidad. En algunas realizaciones, el polímero se disuelve a un pH superior a aproximadamente 5,5, tal como EUDRAGIT® L 30 D-55 y L 100-55; superior a aproximadamente 6,0, tal como EUDRAGIT® L 100 y L 12,5; y superior a aproximadamente 7,0, tal como EUDRAGIT® S 100, S 12,5 y FS 30 D.

El espesor del recubrimiento o encapsulado polimérico puede variarse para lograr la velocidad de liberación deseada. En algunas realizaciones, el espesor del recubrimiento es de aproximadamente 1 Angstrom a cientos de micrómetros. En algunas realizaciones, el espesor del recubrimiento es de aproximadamente 5 a aproximadamente 200 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 micrómetros, más preferentemente de aproximadamente 10 micrómetros a aproximadamente 75 micrómetros, lo más preferentemente de aproximadamente 20 micrómetros a aproximadamente 50 micrómetros.

En algunas realizaciones, las partículas de micronutrientes se pueden dispersar en el recubrimiento polimérico sensible al pH, así como en la matriz.

D. Recubrimientos de sal y otros recubrimientos

La matriz con recubrimiento polimérico que contiene partículas se puede recubrir con sal, azúcar u otro material de recubrimiento, preferentemente sal. En la realización preferida, la sal es una o más sales que son adecuadas para ser consumidas por un animal, tal como un ser humano. Las sales ilustrativas incluyen, pero sin limitación, cloruro de sodio y/o potasio, cloruro de magnesio, yoduro de potasio, fosfatos y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el espesor del recubrimiento es de aproximadamente 1 Angstrom a cientos de micrómetros. En algunas realizaciones, el espesor del recubrimiento es de aproximadamente 5 a aproximadamente 200 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 micrómetros, más preferentemente de aproximadamente 10 micrómetros a aproximadamente 75 micrómetros, lo más preferentemente de aproximadamente 20 micrómetros a aproximadamente 50 micrómetros. Las sales pueden ser purificadas o impuras, tales como la sal obtenida por evaporación de sal o agua salobre. La concentración de la sal puede ser del aproximadamente 10 % al aproximadamente 80 % en peso de la partícula, preferentemente del aproximadamente 10 % al aproximadamente 70 %, más preferentemente del aproximadamente 20 % al aproximadamente 60 %, lo más preferentemente del aproximadamente 40 % al aproximadamente 60 %.

Otros materiales de recubrimiento incluyen azúcar y otros componentes alimentarios adecuados como recubrimiento. El material de recubrimiento preferido puede ser compatible con y/o puede ayudar a que las formulaciones sean compatibles con los alimentos, y los productos y componentes que se incluirán en los alimentos (tal como durante la preparación de alimentos o la cocción).

Para recubrir la matriz polimérica con sales, azúcar u otro material de recubrimiento, se pueden usar composiciones que sirvan como aglutinantes para facilitar el recubrimiento. Los aglutinantes se usan para unir los cristales de sal entre sí y con la superficie de la matriz polimérica. Las composiciones ilustrativas usadas como aglutinantes incluyen, pero sin limitación, almidón de trigo, almidón de maíz, almidón de patata, alcohol polivinílico (PVA), carboximetilcelulosa y metilcelulosa.

III. Métodos de fabricación

A. Preparación de partículas

Las partículas se pueden preparar usando técnicas conocidas en la técnica. La mezcla de vitaminas y minerales, y cualquier otro agente, se procesa con uno o más materiales estabilizantes para formar partículas usando una técnica adecuada, tal como la cristalización, técnicas basadas en emulsiones, secado por pulverización y secado instantáneo. La actividad y la estabilidad de las partículas se pueden evaluar usando técnicas conocidas en la técnica tales como ELISA, ensayo colorimétrico, análisis elemental, espectroscopia de masas y/o HPLC. Se pueden realizar estudios combinados de encapsulación de nutrientes para determinar si alguno de los agentes de la partícula reacciona de manera adversa entre sí. Si se observan dichas reacciones adversas, se pueden recubrir o tratar de otro modo uno o más de los agentes de las partículas para reducir o prevenir reacciones adversas. Las partículas pueden tener un diámetro medio de aproximadamente unos cuantos micrómetros a aproximadamente 200 micrómetros.

B. Encapsulación polimérica de partículas

La matriz de partículas se encapsula en el polímero sensible al pH usando técnicas conocidas en la técnica. Las técnicas adecuadas incluyen, pero sin limitación, inmersión, recubrimiento, técnicas de encapsulación basadas en emulsión, secado por pulverización y lecho fluidizado. La cinética de liberación de los agentes en las partículas depende de varios factores tales como el pH al que se disolvió el polímero y el espesor del recubrimiento. En

algunas realizaciones, el espesor del recubrimiento es de aproximadamente 1 Angstrom a cientos de micrómetros. En algunas realizaciones, el espesor del recubrimiento es de aproximadamente 5 a aproximadamente 200 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 micrómetros, más preferentemente de aproximadamente 10 micrómetros a aproximadamente 75 micrómetros, lo más preferentemente de aproximadamente 20 micrómetros a aproximadamente 50 micrómetros.

C. Recubrimiento de sal

Las partículas encapsuladas en polímero pueden recubrirse con una o más sales (u otro material de recubrimiento) usando técnicas conocidas en la técnica. Un método preferido usa un lecho fluidizado. Otras técnicas adecuadas incluyen la cristalización de la sal en la cubierta de polímero y las técnicas de fabricación de sal en seco y en húmedo. El diámetro de las partículas finales recubiertas de sal puede variar, pero normalmente es de aproximadamente 500 micrómetros a aproximadamente 1.000 micrómetros (1 mm).

IV. Métodos de uso

Las formulaciones tales como las formulaciones de sal enriquecida, se pueden envasar y distribuir para su uso durante la preparación y la cocción de alimentos. Las formulaciones pueden usarse sin recubrimiento de sal (u otros recubrimientos) para enriquecer harina y otros alimentos. El material de recubrimiento usado se puede seleccionar en función del alimento en el que se use la formulación. Además, las formulaciones pueden soportar la esterilización líquida y sólida, que es útil para bebidas, alimentos líquidos o preparados alimentarios sólidos.

Las formulaciones descritas en el presente documento se pueden usar para tratar o prevenir la desnutrición y/o la deficiencia de micronutrientes, en particular, en poblaciones susceptibles a dichas enfermedades, tales como niños y adultos de países en desarrollo y países que sufren sequía grave. Las formulaciones descritas en el presente documento pueden incorporarse en vehículos alimentarios para su uso por las poblaciones necesitadas. Debido a la gran variabilidad en los vehículos alimentarios de consumo común por las poblaciones necesitadas, las formulaciones desveladas se pueden usar con e incorporarse en varios vehículos alimentarios, que incluyen harina de trigo, aceite para cocinar, azúcar y sal.

En algunas realizaciones, las partículas contienen los micronutrientes esenciales vitaminas A, B1, B2, B3, B6, B7, B9, B12, C, D y E; molibdeno, cromo, selenio, yodo, cobre, manganeso, cinc y hierro. La cantidad de micronutrientes incorporada en las partículas puede basarse el RDA para un determinado micronutriente. Por ejemplo, la cantidad de micronutrientes puede basarse en el 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 100 % del RDA.

En algunas realizaciones, la formulación se usa para el enriquecimiento universal donde la población diana es la población general, incluyendo los individuos sanos. La formulación contiene el 100 % del RDA para el yodo y una cantidad inferior o igual al 50 % del RDA para el resto de los micronutrientes. En otras realizaciones, la formulación se usa para el enriquecimiento diana en el que la población diana son hogares deficientes en micronutrientes. La formulación puede contener, por ejemplo, el 100 % del RDA para niños de 6 a 59 meses.

En realizaciones particulares, 2 g/día de la formulación pueden proporcionar el 100 % del RDA para niños para los micronutrientes yodo (0,09 mg/día), cinc (4,1 mg/día), ácido fólico (0,15 mg/día), vitamina B12 (0,0009 mg/día), vitamina A (0,4 mg/día), vitamina C (30 mg/día), vitamina D (0,005 mg/día) y hierro (10 mg/día).

En otras realizaciones, 5 g/día de la formulación pueden proporcionar el 50 % del RDA para mujeres adultas para los micronutrientes yodo (0,075 mg/día), cinc (8 mg/día), ácido fólico (0,2 mg/día), vitamina B12 (0,0012 mg/día), vitamina A (0,45 mg/día), vitamina C (37,5 mg/día), vitamina D (0,0075 mg/día) y hierro (9 mg/día).

Los datos en los ejemplos muestran que las formulaciones que contenían B9 y B12 no mostraron liberación en agua a temperatura ambiente o a 100 °C. Sin embargo, en el fluido gástrico simulado (SGF), las formulaciones liberaron todas las B9 y B12 en aproximadamente una hora. El ELISA mostró que B9 y B12 eran estables en las formulaciones descritas en el presente documento y no se degradaron ni se desnaturalizaron.

En otras realizaciones, las formulaciones se pueden usar en varios alimentos e ingredientes básicos. Por ejemplo, las formulaciones pueden constituirse o incluirse en ingredientes alimentarios tales como sal, azúcar, aceite, harina, bicarbonato sódico, levadura en polvo, almidón de maíz, mantequilla, manteca, sémola (como de maíz u otra harina de grano), café, té, especias, saborizantes, extractos, etc. Los ejemplos de alimentos en los que se pueden incorporar las formulaciones incluyen bebidas tales como leche, agua, soda y otras bebidas carbonatadas, bebidas deportivas, zumos, productos horneados tales como panes, bizcochos, galletas y tartas, alimentos procesados tales como yogur, queso, y barritas nutritivas o energéticas.

En otras realizaciones, las formulaciones se usan para fines agrícolas. Los minerales y la sal son esenciales para la salud animal, y es difícil que estas formulaciones mantengan la integridad en condiciones climáticas adversas y en almacenamiento. Estas formulaciones son resistentes a la intemperie y son estables en almacenamiento con calor y alto nivel de humedad. Las ventajas de la liberación dependiente del pH son que las formulaciones pueden

diseñarse para proporcionar una liberación máxima en la zona del tracto gastrointestinal donde la absorción es más eficaz, tales como el rumen. Se obtienen beneficios adicionales mediante la incorporación de vitaminas y medicamentos tales como agentes antihelmínticos que, de otro modo, tendrían que administrarse por separado.

5 La presente invención se comprenderá mejor haciendo referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplos

Ejemplo 1. Estudios de solubilidad de polímeros

Métodos y materiales

Se evaluó la solubilidad del polímero disponible en el mercado metacrilato de dimetilaminoetilo, metacrilato de butilo y metacrilato de metilo (proporción de 2:1:1) (EUDRAGIT® E PO ("EPO")) a un pH de 1-12. Se añadieron 10 mg/ml del polímero a soluciones que tenían un pH de 1; 2; 4; 7,4; 10 y 12, y se observaron durante 8 horas.

Se disolvió EUDRAGIT® E PO en fluido gástrico simulado (SGF) a 37° C a diversas concentraciones durante 2,5 horas para determinar el límite de solubilidad en el fluido gástrico simulado.

Resultados

En la Figura 2, se muestra la solubilidad dependiente del pH. En un período de dos horas, se disuelve el polímero a pH 2 e inferior. El polímero resultó ser insoluble a pH 4, 7,4, 10 y 12.

En la Figura 3, se muestra disolución en el fluido gástrico simulado ("SGF"). EPO tiene una solubilidad máxima de 50 mg/ml. Dado que el volumen del estómago es de 20 a 100 ml, se pueden administrar de 1 a 5 g de EPO en el estómago y seguir manteniendo la disolución completa.

Ejemplo 2. Estudios de liberación de colorante de mezclas de colorante/azúcar cristalizadas recubiertas con EUDRAGIT® E PO

Materiales y métodos

Se cristalizaron 0,6 ml de una solución de azúcar/colorante (trehalosa 0,5 M + sacarosa) en un vaso de precipitados. Se recubrió la mezcla cristalizada con 1 ml de una solución de EUDRAGIT® E PO ("EPO") en acetona (1 %, 5 %, 10 % y 20 %). El espesor de la película de EPO se fotografió y se midió.

Se estudió la cinética de liberación en agua y SGF (volumen de liberación de 4 ml) durante un período de dos horas. Los puntos de tiempo se tomaron a los 10 min, 1 hora y 2 horas, y se cuantificó la liberación de colorante mediante la medición de la absorbancia a 628 nm.

Usando el recubrimiento de EPO al 5 %, se ensayó la liberación a diferentes temperaturas.

Resultados

En la Figura 4, se muestran los resultados del espesor de la película. En el EPO al 1 %, el espesor del recubrimiento era de aproximadamente 5 micrómetros, mientras que en el EPO al 20 %, el espesor del recubrimiento era de aproximadamente 200 micrómetros. La variación de la concentración del polímero varía el espesor del recubrimiento. Se puede usar cualquier disolvente orgánico volátil para disolver el polímero. Los disolventes poliméricos representativos incluyen disolventes orgánicos tales como cloroformo, diclorometano, tetrafluoroetileno y acetato de acilo.

Los resultados cinéticos de liberación se muestran en la Figura 5. En el agua, hubo liberación de colorante despreciable, y en el SGF, la velocidad de liberación del colorante se correlacionó con el espesor.

En las Figuras 6A y 6B, se muestran los resultados de la liberación con respecto a la temperatura. Se liberó un colorante despreciable en agua a 100 °C (Figura 6A). El colorante se liberó más rápido en el SGF a 37 °C, que es la condición fisiológicamente relevante (Figura 6B).

Ejemplo 3. Estudios de liberación de micronutrientes recubiertos con EUDRAGIT® E PO

Materiales y métodos

Se cristalizaron 0,6 ml de soluciones de nutrientes/azúcar (proporción 1:1) y se recubrieron con una solución al 5 % (en peso) de EUDRAGIT® E PO ("EPO") en acetona.

Para imitar la preparación del alimento y luego la ingestión, se sumergieron las muestras en 4 ml de agua (a 25 °C o 100 °C) durante una hora y se transfirieron a 4 ml de fluido gástrico simulado a 37 °C durante dos horas. Se tomaron alícuotas a 1, 2 y 3 horas, y se cuantificó la liberación usando ELISA.

5 Resultados

Los resultados se muestran en las Figuras 7A y 8A (una hora a temperatura ambiente, y luego a temperatura corporal) y 7B y 8B (una hora a la temperatura de ebullición del agua, luego a la temperatura corporal). Para la Vitamina B9 (Figuras 7A y 7B) y B12 (Figuras 8A y 8B), hubo liberación despreciable en el agua a 25 °C y 100 °C, y una liberación casi completa tras una hora en SGF.

Ejemplo 4. Encapsulación de micronutrientes en un hidrogel

Materiales y métodos

Preparación de las HGP de HA: las HGP se formularon mediante un método de reticulación en emulsión inversa según Jha *et al.*, *Biomaterials*, 30:6964 (2009). Se modularon tanto la densidad de reticulación como el tamaño de los HGP de manera sistemática. Se caracterizaron las HGP formuladas con microscopio electrónico de barrido (SEM), Coulter Counter Multisizer 3 y análisis de proporción de hinchamiento. Se cuantificó el perfil de degradación de las HGP de HA en respuesta al cambio de pH mediante el ensayo de carbazol siguiendo a Xu *et al.*, *Biomaterials*, 33:9049 (2012). Para formular las HGP cargadas con MN, se añadió la carga útil a la solución acuosa de HA antes del proceso de reticulación en emulsión inversa.

Formulación de MS que contienen HGP de HA: se usó poli(metacrilato de butilo-co-metacrilato de (2-dimetilaminoetilo)-co-metacrilato de metilo) ("EPO") como polímero para formular las MS. La formulación se realizó a través de una técnica de evaporación del disolvente. Las HGP de MS de EPO desarrolladas se caracterizaron por SEM, así como por microscopía confocal a través del marcaje fluorescente de HGP.

Estudios de liberación de MN de HGP de MS de EPO: el estudio de liberación se realizó en tres condiciones diferentes: (1) en agua a ta; (2) en SGF a 37 °C; y (3) en agua a 100 °C. Se cuantificó la liberación de los MN usando un espectrómetro UV-Vis o ELISA.

Resultados y análisis

Se desarrolló una plataforma de administración que consistía en un núcleo a base de partículas de hidrogel (HGP) de ácido hialurónico (HA) para la encapsulación de MN y una cubierta de microesferas (MS) termoestable y soluble a bajo pH que rodeaba a las HGP para su protección. La cubierta de las MS puede envolverse de cloruro de sodio, produciéndose sal enriquecida en MN. Se muestra que el sistema encapsula eficazmente los MN, mantiene su estabilidad en condiciones de cocción y libera la carga útil en fluido gástrico simulado (SGF) con los perfiles de liberación deseados. Esta plataforma de partículas poliméricas tiene un gran potencial para el enriquecimiento de sales en MN.

Preparación de HGP de HA: se formularon HGP con tamaños de $4 \pm 2 \mu\text{m}$ y $19 \pm 7 \mu\text{m}$ mediante el método de emulsión inversa. El tamaño de partícula obtenido por SEM y Coulter Counter coincide bien entre sí. Las proporciones de hinchamiento de las HGP se midieron como $23 \pm 3 \mu\text{m}$ y $20 \pm 4 \mu\text{m}$, respectivamente. Las HGP fueron estables en agua, sin embargo, se obtuvo un $58 \pm 4 \%$ de pérdida de peso sumergiendo las HGP en SGF durante 2 horas.

Formulación de MS que contenían HGP de HA: se formularon HGP de MS de EPO con un tamaño medio de 200 μm por evaporación del disolvente. Se distribuyeron HGP de HA homogéneamente dentro de las microesferas a base de EPO. La distribución de las HGP dentro de las MS también fue revelada por SEM y microscopía confocal.

Estudios de liberación de MN a partir de HGP de MS de EPO: se encontró una liberación limitada de MN al sumergir las HGP de MS de EPO en agua tanto a RT como a 100 °C. Por el contrario, se obtuvo la liberación completa de los MN en el SGF a 37 °C tras la disolución de EPO y la degradación hidrolítica de las HGP.

Conclusiones

Se desarrolló y se caracterizó un sistema de administración polimérico sensible al pH. La plataforma podía encapsular diversos tipos de MN para el enriquecimiento de sal.

Ejemplo 5. Caracterización y propiedades de liberación de partículas de hidrogel

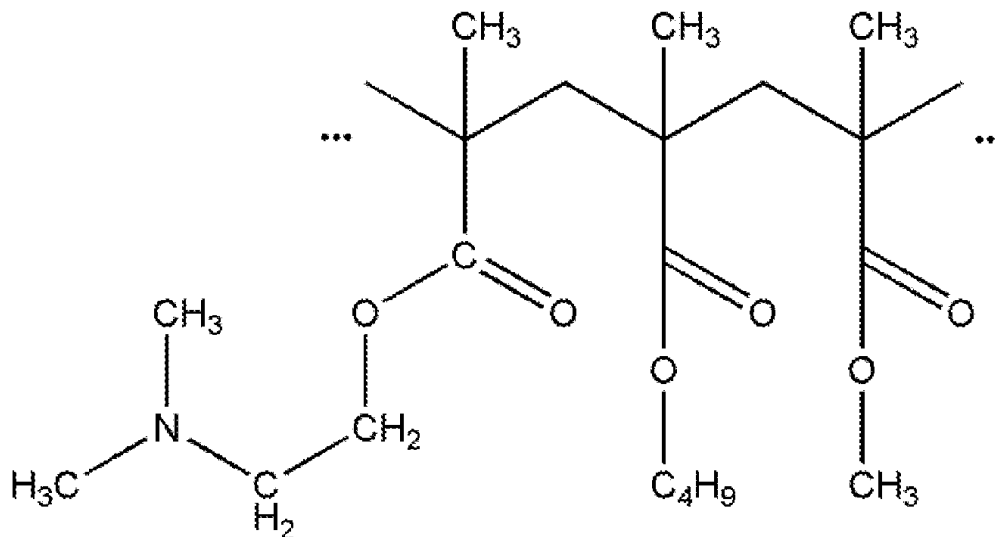
Materiales y métodos

65

Se encapsularon el mineral representativo, NaFeEDTA, y la vitamina representativa, Vitamina B12, dentro de partículas formadas como se describe en el Ejemplo 4 usando los derivados de ácido hialurónico descritos en el Esquema 1 anterior, HA-CHO y HA-HYZ.

- 5 Se caracterizaron las partículas de hidrogel por su liberación a lo largo del tiempo a temperatura ambiente y 37 °C, en agua y en fluido gástrico simulado.

A continuación, se encapsularon las partículas en EPO, como se muestra a continuación:



Esquema 2

EPO se refiere a un copolímero catiónico disponible en el mercado formado por metacrilato de butilo, metacrilato de dimetilaminoetilo y metacrilato de metilo. El nombre IUPAC apropiado es poli(metacrilato de butilo-co-metacrilato de (2-dimetilaminoetilo)-co-metacrilato de metilo). La estructura química del Esquema 2 muestra las unidades de repetición anteriores que constituyen el EPO.

Resultados

Tabla 2: Propiedades de derivados de HA y partículas resultantes

	PMp* (KDa)	PMn* (KDa)	PDI*	SD**
HA-HYZ	764	346	2,2	37
HA-CHO	609	304	2,0	65
Muestra	Velocidad de emulsión (rpm)	Tamaño de partícula	Proporción de hinchamiento	
HGP4	1.500	4 ± 2	23 ± 3	
HGP19	500	19 ± 7	20 ± 4	
* Determinado mediante GPC.				
** SD: Grado de sustitución, determinado por RMN de ¹ H o yodometría.				

La Figura 9 muestra la estabilidad hidrolítica de las partículas de hidrogel de HA. Se comparó la masa de gel en función del tiempo de incubación a temperatura ambiente en agua o a 37 °C en fluido gástrico simulado con el tiempo en horas.

Las Figuras 10A y 10B son gráficos que muestran la liberación *in vitro* acumulativa de un mineral representativo, NaFeEDTA, y una vitamina representativa, la Vitamina B12, a partir de las partículas de hidrogel a lo largo del tiempo en horas.

Los factores que afectan el tamaño de las partículas incluyen la velocidad de agitación, la cantidad de tensioactivo, la concentración de polímero, la proporción entre el disolvente orgánico (alcohol polivinílico, PVA) y el no disolvente (agua) y la temperatura. 10 mg/ml de PVA produjeron partículas de 200 micrómetros, y 50 mg/ml de PVA produjeron partículas de 25 micrómetros.

La SEM muestra que las partículas fueron estables a 100 °C durante dos horas. La SEM, microscopía óptica y microscopía confocal, mostró que las partículas de hidrogel se distribuyeron homogéneamente con las microesferas de EPO.

- 5 Las Figuras 11A y 11B muestran la liberación de los micronutrientes NaFeEDTA y vitamina B12 a partir de las microesferas de EPO-hidrogel de HA a temperatura ambiente en agua, a 37 °C en fluido gástrico simulado y a 100 °C en agua, a lo largo del tiempo en horas.

Ejemplo 6. Estudios de encapsulación y liberación de micronutrientes

10 Materiales y métodos

Se encapsularon ocho micronutrientes esenciales, presentados en la Tabla 3, y se estudió su liberación *in vitro*.

- 15 El micronutriente hierro se usa de dos formas, hierro-EDTA (NaFeEDTA) y sulfato de hierro (FeSO₄). El hierro-EDTA es una forma estable de hierro, pero a altas dosis, la formulación puede suministrar demasiado EDTA para los niños pequeños. La incorporación de sulfato de hierro a la formulación es más segura para los niños.

Tabla 3. Valores diarios recomendados de micronutrientes para algunos grupos (fuente: Instituto de Medicina)

Micronutriente	Formas	Mujeres de 19 a 30 años (mg/día)	Mujeres embarazadas de 19 a 30 años (mg/día)	Mujeres en lactancia de 19 a 30 años (mg/día)	Niños de 1 a 3 años (mg/día)
Hierro	NaFeEDTA/ FeSO ₄	18	27	18	7
Cinc	Óxido de cinc	8	11	12	3
Vitamina A	Palmitato de retinilo (deco)	0,70	0,77	1,3	0,30
Vitamina B9	Ácido fólico	0,4	0,6	0,5	0,15
Vitamina B12	Vitamina B12	0,0024	0,0026	0,015	15
Vitamina C	Ácido ascórbico	75	85	0,015	15
Vitamina D	Vitamina D3	0,015	0,015	0,015	0,015
Yodo	Yoduro de potasio	0,15	0,22	0,29	0,09

- 20 Se desarrollaron ensayos internos para la detección de micronutrientes y la determinación de la eficacia de la encapsulación y la cinética de liberación. En la siguiente Tabla 4, se presenta un resumen de los métodos de detección de micronutrientes.

Tabla 4 - Resumen de los ensayos de detección e intervalos de detección de los micronutrientes

Micronutrientes	Métodos	Intervalo de detección
Yodato (KIO ₃)	UV-Vis	0-12,5 µg/ml
Hierro (NaFeEDTA)	UV-Vis	0-50 µg/ml
Hierro (FeSO ₄)	Calorimétrico	0-100 µmol
Cinc (ZnSO ₄)	Calorimétrico	0-4 nmol
Vitamina A	UV-Vis	0-30 µg/ml
Vitamina B9, ácido fólico	UV-Vis	0-400 ng/ml
Vitamina B12	UV-Vis	0-40 ng/ml
Vitamina C	Calorimétrico	0-10 nmol
Vitamina D3	UV-Vis	0-300 µg/ml

- 25 Se encapsuló yodo a una eficiencia del $75,2 \pm 8,9$ %, con carga de yodo por mg de EPO de $21,2 \pm 2,5$ µg. El yodo, administrado en forma de yoduro de potasio (KIO₃), se encapsuló directamente en las MS de EPO a través de un proceso sólido/aceite/agua. EPO100: 100 mg/ml de EPO usado para la emulsión (Figura 12A); EPO200: 200 mg/ml EPO usado para la emulsión (Figura 12B).

Se encapsuló vitamina A a una eficiencia del $31,3 \pm 5,0$ %, con carga de vitamina A por mg de EPO de $7,4 \pm 1,2$ µg. La vitamina A se mezcló directamente con EPO en diclorometano (DCM) y se encapsuló en las microesferas de EPO.

- 5 Se encapsuló vitamina D3 a una eficiencia del $79,9 \pm 7,4$ %, con carga de vitamina D3 por mg de EPO de $19,8 \pm 1,8$ µg. La vitamina D3 se mezcló directamente con EPO en DCM y se encapsuló en las microesferas de EPO.

Se encapsuló vitamina C a una eficiencia del $11,95 \pm 0,65$ %, con carga de vitamina C por mg de EPO de $13,75 \pm 0,75$ µg. La vitamina C se mezcló directamente con EPO y se encapsuló en las microesferas de EPO.

- 10 Se encapsuló vitamina B9 (ácido fólico) en microesferas de EPO-gelatina a una eficiencia del $51,4 \pm 3,1$ %, con carga de vitamina B9 por mg de EPO de $1,66 \pm 0,11$ µg.

Resultados

- 15 KIO₃ se liberó de forma constante en un entorno de fluido gástrico simulado (SGF) a 37 °C, y un aumento en la concentración de EPO redujo la fuga del KIO₃. Además, las MS de EPO que contenían KIO₃ fueron estables a 100 °C en agua durante el tiempo de incubación de dos horas (Figuras 12A y 12B), con una liberación acumulativa de KIO₃ del aproximadamente 20 %. Una mayor concentración de EPO redujo la fuga de KIO₃.

- 20 Las MS de EPO con vitamina A encapsulada mostraron una liberación limitada de la vitamina a temperatura ambiente y a 100 °C en agua. La liberación completa de vitamina A se obtuvo en SGF a 37 °C (Figura 13).

- 25 Se observó una liberación rápida y completa de vitamina D3 en SGF a 37 °C y una liberación lenta y limitada en agua a temperatura ambiente y 100 °C (Figura 14).

- Se encontró una liberación limitada de vitamina C tanto a temperatura ambiente como a los 100 °C de ebullición del agua después de dos horas. La liberación completa de la vitamina C se observó en SGF a 37 °C después de 0,5 horas (Figura 15).

- 30 Se encontró una liberación limitada de vitamina B9 a temperatura ambiente tras dos horas. Se encontró una ligera fuga a los 100 °C de ebullición del agua. La liberación completa de la vitamina B9 se observó en SGF a 37 °C después de 0,5 horas (Figura 16).

- 35 La adición de aceite al 1 % durante la ebullición no aumentó la liberación de vitamina B12 después de dos horas.

Ejemplo 7. Recubrimiento de matriz polimérica con sales

Materiales y métodos

- 40 Se ensayaron diversas composiciones para determinar su capacidad para unir cristales de sal entre sí y con una superficie de perlas. Se preparó una solución homogénea de una composición de aglutinante y NaCl (200 mg/ml) en agua usando almidón de trigo (0,5 % en peso seco), almidón de maíz (0,5 % en peso seco), almidón de patata (0,1 % en peso seco), alcohol polivinílico (PVA) (1 % en peso seco), carboximetilcelulosa (1 % en peso seco) o metilcelulosa (1 % en peso seco) como aglutinantes. Las soluciones se secaron a 100 °C en vidrio de reloj, y se compararon la morfología y la flexibilidad de las películas resultantes.

- Se usaron perlas de poliestireno como partícula modelo para demostrar el recubrimiento de sal. Se recubrieron perlas de poliestireno (PS) marcadas con colorante hidrófobo con sal mediante la suspensión de las perlas de PS en solución de NaCl/aglutinante y se dejaron secar a 100°C en el horno durante la noche, o mediante el uso de un recubrimiento de lecho fluido. El lecho fluidizado se realizó en condiciones controladas y a gran escala (1 l de volumen) usando carboximetilcelulosa (4 mg/ml) y NaCl (200 mg/ml). La temperatura de entrada del lecho fluido fue de 93,9 °C (200 °F), el rendimiento del recubrimiento fue del 97,6 % en peso. El espesor del recubrimiento se podía adaptar ajustando la concentración de los materiales de recubrimiento.

- 50 Se usaron perlas de poliestireno como partícula modelo para demostrar el recubrimiento de sal. Se recubrieron perlas de poliestireno (PS) marcadas con colorante hidrófobo con sal mediante la suspensión de las perlas de PS en solución de NaCl/aglutinante y se dejaron secar a 100°C en el horno durante la noche, o mediante el uso de un recubrimiento de lecho fluido. El lecho fluidizado se realizó en condiciones controladas y a gran escala (1 l de volumen) usando carboximetilcelulosa (4 mg/ml) y NaCl (200 mg/ml). La temperatura de entrada del lecho fluido fue de 93,9 °C (200 °F), el rendimiento del recubrimiento fue del 97,6 % en peso. El espesor del recubrimiento se podía adaptar ajustando la concentración de los materiales de recubrimiento.

Resultados

- Basándose en la morfología y en la flexibilidad de las películas de aglutinante/sal obtenidas, se seleccionaron carboximetilcelulosa y almidón de maíz como los aglutinantes preferidos para el recubrimiento de sal.

- 60 Los experimentos de recubrimiento de perlas de PS demostraron que el lecho fluido era un enfoque factible para el recubrimiento de sal. El enfoque del lecho fluido permitió el recubrimiento homogéneo de las perlas de PS hasta un espesor uniforme con sal usando carboximetilcelulosa como aglutinante (Figura 18A). El espesor de la capa de recubrimiento salina fue de 135 µm. El espesor del recubrimiento se puede adaptar ajustando la concentración de los materiales de recubrimiento.

Sumario

Se formularon microesferas (MS) de HA (modificado y no modificado), gelatina y EPO mediante un método de emulsión. El tamaño de las partículas se puede ajustar fácilmente cambiando la concentración del tensioactivo, la velocidad de agitación, etc. La incorporación correcta de HA y partículas de gelatina en las MS de EPO se demostró mediante microscopio óptico, SEM y análisis de microscopio confocal. Las MS de EPO-HA y las MS de EPO-gelatina formuladas son estables en agua hirviendo durante al menos 2 horas. Los micronutrientes (8 fundamentales) se encapsularon fácilmente. Se encontró la fuga limitada de MN (< 20 %) sumergiendo la partícula en agua tanto a temperatura ambiente como en agua hirviendo durante 2 horas. Por el contrario, se encontró la liberación completa de los MN cuando las partículas se sumergieron en SGF (pH 1,2) después de 2 horas. La capa homogénea de sal (NaCl) se recubrió con éxito sobre la superficie de las perlas de PS (usadas como modelo). Se usaron aglutinantes farmacéuticos para ayudar al recubrimiento.

Se demostró que las formulaciones de EPO desarrolladas protegen a los MN en condiciones de cocción y los liberan en el estómago. El lecho fluidizado demostró ser una técnica para el recubrimiento de sal.

Ejemplo 8. Estudios de estabilidad

Se ensayaron las formulaciones para determinar los factores que aumentan la estabilidad y las características de fuga para determinados nutrientes.

Vitamina C

Al aumentar la concentración del recubrimiento polimérico, se redujo significativamente la liberación de ácido ascórbico durante la cocción a 100 °C, y la recuperación de ácido ascórbico aumentó significativamente. El ácido ascórbico puede oxidarse e hidrolizarse, produciendo una reducción de la bioactividad. Los compuestos identificados en concreto como estabilizantes, el ácido ascórbico, el ácido transferúlico (FA), el ácido cafeico (CA) y el ácido p-cumárico (p-CA) pueden usarse en las partículas y la matriz para estabilizar la vitamina C. Los ensayos con ácido transferúlico (FA) y ácido p-cumárico (p-CA) demostraron que la recuperación del ácido ascórbico aumentó significativamente después de 100 °C durante dos horas cuando se incluyeron en la formulación. El aumento de la concentración de ácido ascórbico (1 mg/ml frente a 78 µg/ml) también aumentó considerablemente su estabilidad y recuperación después de la cocción.

Para aumentar la carga del ácido ascórbico en las formulaciones, se deben añadir grandes cantidades de ácido ascórbico en el proceso de formulación inicial. Sin embargo, el uso de una gran cantidad de ácido ascórbico puede disminuir el pH del agua durante la formulación, y esta condición de bajo pH también puede disolver el polímero que se use para preparar las micropartículas. Para evitar este problema de bajo pH, se puede usar ascorbato de sodio, que tiene una bioactividad equivalente a la del ácido ascórbico. Se puede recuperar más del 60 % en peso de ascorbato de sodio (NaAA) después de 2 horas de calentamiento a 100 °C. El aumento del contenido de carga de vitamina C puede mejorar significativamente su estabilidad en condiciones de cocción (Tabla 5).

Tabla 5. Aumento de la concentración/del contenido de carga de la vitamina C (ascorbato de sodio)

NaAA para la formulación de las MS de EPO (mg)	EPO (mg)	Carga de NaAA por mg de MS de EPO (µg)	Eficiencia de encapsulación de NaAA (%)	% de recuperación tras 100 °C
100	200	117,05 ± 4,48	35,11 ± 1,34	59,90 ± 1,53
200	200	132,51 ± 0,69	26,50 ± 0,14	66,22 ± 1,37
50	200	123,31 ± 2,38	61,66 ± 1,19	72,01 ± 1,15

Vitamina D3

La vitamina D3 no es estable bajo el calor. La alteración implica el cierre de anillo que permite la generación de piroisómeros e isopiroisómeros. Nuestro estudio muestra que la vitamina D3 es estable en agua a temperatura ambiente, así como en condiciones ácidas, SGF (pH = 1,2) a 37 °C. Sin embargo, se degradó en agua a 100 °C después de 2 horas. La recuperación de vitamina D3 en agua a 100 °C depende de la concentración. Cuando la cantidad inicial de vitamina D3 aumentó, la recuperación después de 2 horas de cocción también aumentó, del 2 % (15 µg) al 12 % (60 µg), al 40 % (240 µg) y al 60 % (1 mg). La encapsulación de vitamina D3 en la matriz de EPO ayudó a estabilizar la vitamina D3. El pico de absorbancia característico de la vitamina D3 se conservó en EPO con D3 después de 100 °C en agua durante 2 horas. En comparación, la vitamina D3 por sí misma en las mismas condiciones se degradó por completo (a partir del resultado del espectro UV). Con HPLC, la recuperación de D3 en D3-EPO se cuantificó en aproximadamente el 47 %. Como conclusión, la encapsulación de vitamina D3 en la matriz de EPO aumentó drásticamente la estabilidad de la vitamina D3 en condiciones de cocción (100 °C durante 2 horas).

Vitamina B12

- 5 Se encapsuló vitamina B12 en las microesferas de EPO-HA, y se sometieron a autoclave. Las condiciones del autoclave fueron de 110,316 kPa (16 psig) y 121,1 °C (250 °F) durante 30 minutos. No se encontraron fugas graves de vitamina B12. Por lo tanto, las formulaciones pueden sobrevivir y prevenir la fuga de MN en condiciones de autoclave.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de sal que comprende:

- 5 partículas que comprenden uno o más agentes terapéuticos, agentes profilácticos, agentes nutracéuticos, agentes de diagnóstico o combinaciones de los mismos;
 una matriz formada por excipiente inerte que tiene las partículas dispersadas en el mismo;
 un recubrimiento polimérico sensible al pH sobre la superficie exterior de, o que rodea, la matriz, en donde el
 10 recubrimiento polimérico es resistente a la penetración del agua en la matriz y proporciona la liberación de las partículas tras la exposición a un pH definido; y
 un recubrimiento de una o más sales sobre el recubrimiento polimérico sensible al pH;
 en donde la formulación es estable hasta una hora a 100 °C.

- 15 2. La formulación de la reivindicación 1, en la que las partículas comprenden vitaminas, minerales traza, micronutrientes o combinaciones de los mismos.

- 20 3. La formulación de las reivindicaciones 1 o 2, en la que la matriz está parcial o completamente formada por materiales seleccionados del grupo que consiste en sales, azúcares, hidratos de carbono, aceites, grasas, ceras, proteínas y combinaciones de los mismos.

4. La formulación de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que la matriz está parcial o completamente formada por un hidrogel.

- 25 5. La formulación de la reivindicación 4, en la que el hidrogel está formado por uno o más polímeros seleccionados del grupo que consiste en ácido hialurónico, ciclodextrina, colágeno, alginato, quitina, polietilenglicol y copolímeros del mismo, dimetacrilato de etilenglicol, metacrilato de hidroxietilo, poli(óxido de butileno), polícaprolactona, poli(óxido de etileno) y copolímeros del mismo, poli(etilenimina), poli(metacrilato de etilo), fumarato de propileno, poli(hidroxiburirato), poli(metacrilato de hidroxietilo), poli(metacrilamida de hidroxipropilo), poli(ácido láctico), poli(ácido láctico-co-glicólico), poli(N-vinilpirrolidona), poli(óxido de propileno), poli(alcohol vinílico), poli(acetato de
 30 vinilo) y poli(vinilamina).

- 35 6. La formulación de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que el recubrimiento polimérico comprende uno o más polímeros sensibles al pH que se disuelven a un pH de aproximadamente 1 a 5, preferentemente de aproximadamente 1 a 3, más preferentemente de aproximadamente 1 a 2.

7. La formulación de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que el recubrimiento polimérico comprende uno o más polímeros sensibles al pH que se disuelven a un pH de aproximadamente 5 a 8, preferentemente de aproximadamente 5 a 7, más preferentemente de aproximadamente 5 a 6.

- 40 8. La formulación de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que el polímero sensible al pH se selecciona del grupo que consiste en poli(metacrilato de butilo)-co-(dimetilaminoetilo)-co-(metacrilato de metilo), polímeros catiónicos, polímeros que se vuelven catiónicos en condiciones fisiológicas y combinaciones de los mismos.

- 45 9. La formulación de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la que el polímero sensible al pH se selecciona del grupo que consiste en polimetacrilatos que contienen grupos funcionales que forman sales a un pH superior a 5,0, polímeros celulósicos naturales, polisacáridos, ftalato de acetato de polivinilo, goma laca, ácidos grasos, ceras, plásticos, fibras vegetales y combinaciones de los mismos.

- 50 10. La formulación de una cualquiera de las reivindicaciones 2-9, en la que las vitaminas, minerales traza y micronutrientes se seleccionan del grupo que consiste en hierro, cinc, manganeso, cobre, yodo, selenio, molibdeno, cromo, vitamina A, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B3, vitamina B6, vitamina B9 (ácido fólico), vitamina B12, vitamina C, vitamina D3, vitamina E, vitamina K, ácido pantoténico, biotina y combinaciones de los mismos.

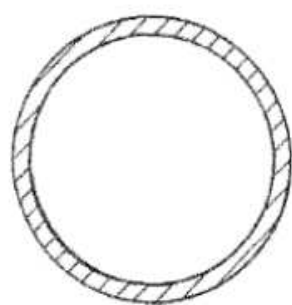
- 55 11. La formulación de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que comprende además agentes antiparasitarios.

12. La formulación de la reivindicación 11, en la que los agentes antiparasitarios se seleccionan del grupo que consiste en agentes antinematodos, anticestodos, antitrepatodos, antiamoebicos, antiprotozoarios y combinaciones de los mismos.

- 60 13. La formulación de la reivindicación 12, en la que los agentes antinematodos se seleccionan del grupo que consiste en mebendazol, pamoato de pirantel, tiabendazol, dietilcarbamazina, ivermectina y combinaciones de los mismos.

- 65 14. La formulación de la reivindicación 12, en la que los anticestodos se seleccionan del grupo que consiste en niclosamina, praziquantel, albendazol y combinaciones de los mismos.

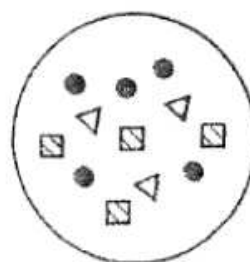
15. La formulación de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en la que la sal del recubrimiento de sal se selecciona del grupo que consiste en cloruro de sodio o de potasio, cloruro de magnesio, yoduro de potasio, fosfatos y combinaciones de los mismos.
- 5 16. La formulación de una cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para su uso en un método de suministro de sal, minerales traza, vitaminas, micronutrientes o combinaciones de los mismos a un individuo que lo necesita.
17. El método de la reivindicación 16, en el que la formulación se proporciona para la cocción.
- 10 18. El método de la reivindicación 16, en el que la formulación se proporciona en forma a granel a animales agrícolas.
19. La formulación de una cualquiera de las reivindicaciones 11-14 para su uso en un método de tratamiento de una infección parasitaria.
- 15



(1)

Cubierta
polimérica

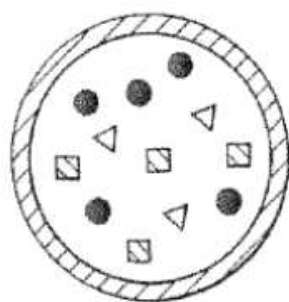
FIG. 1A



(2)

Semilla de
micronutrientes

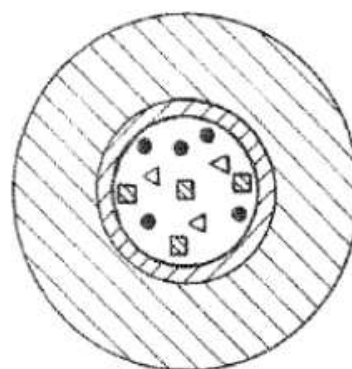
FIG. 1B



(3)

Semilla
encapsulada

FIG. 1C



(4)

Recubrimiento
de sal

FIG. 1D

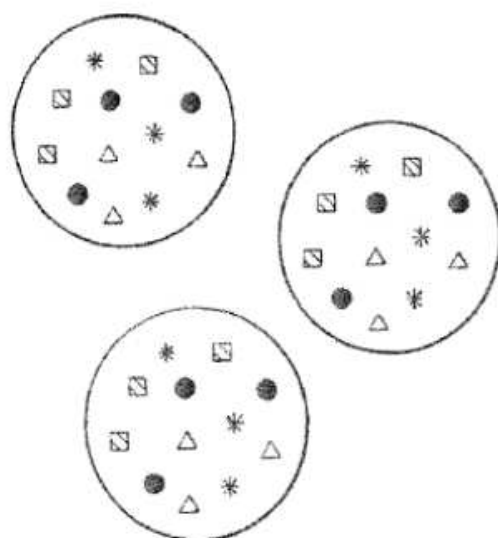
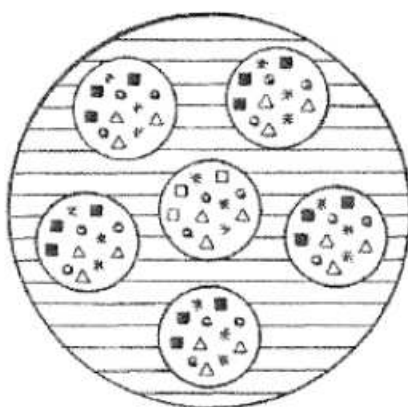


FIG. 1E

(1)

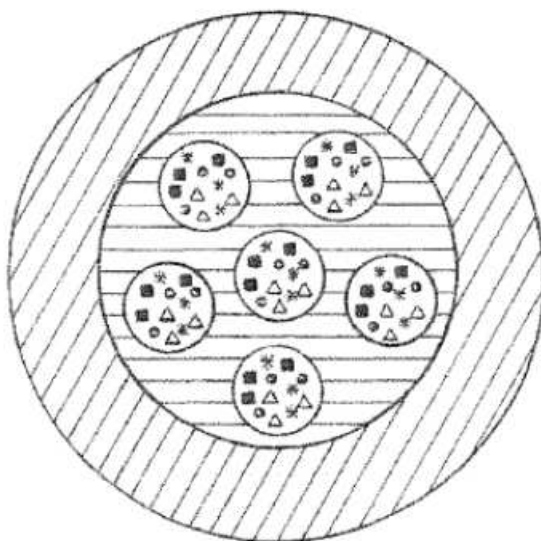
Semilla de
micronutrientes
(partículas de
hidrogel)



(2)

Semilla
encapsulada
(microesferas
protectoras)

FIG. 1F



(3)

Microesferas
recubiertas de
sal

FIG. 1G

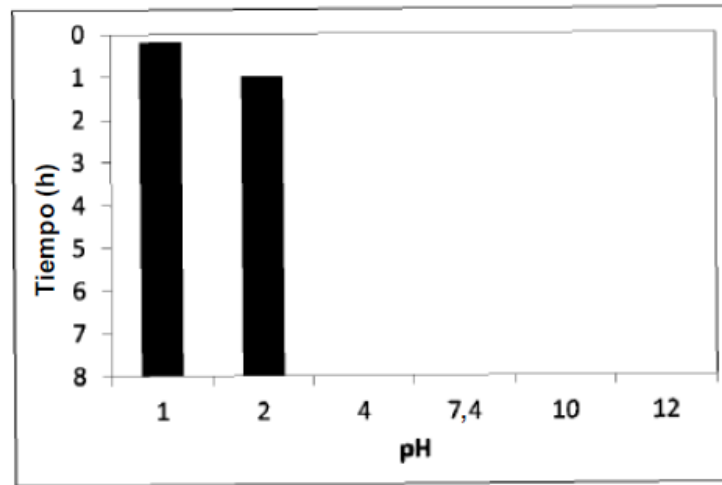


FIG. 2

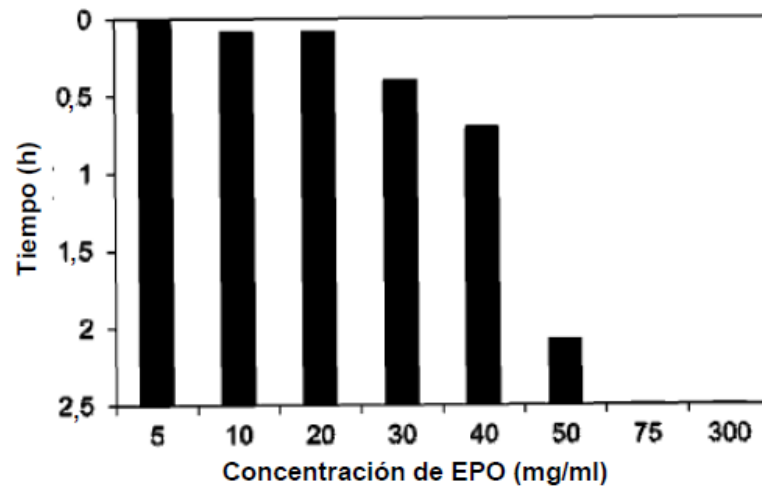


FIG. 3

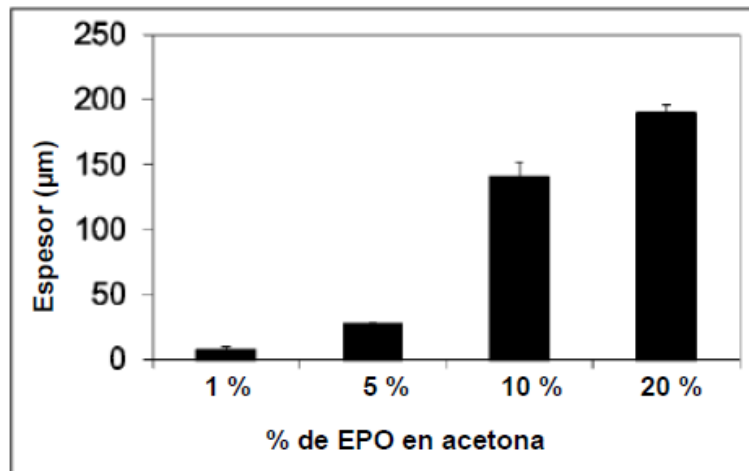
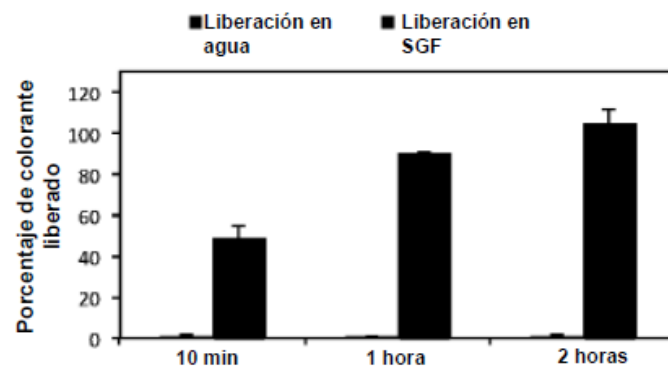


FIG. 4

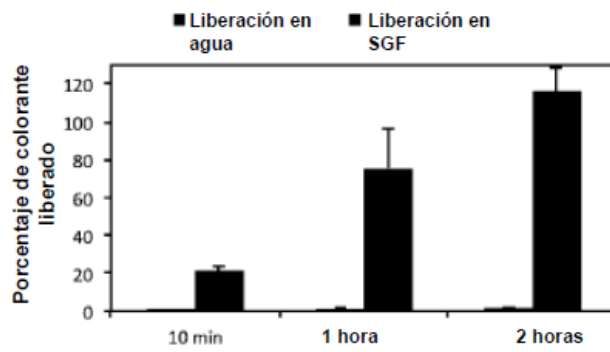
Recubrimiento de EPO al 1 % (25 °C)



Recubrimiento de EPO al 10 % (25 °C)

FIG. 5A

Recubrimiento de EPO al 5 % (25 °C)



Recubrimiento de EPO al 20 % (25 °C)

FIG. 5B

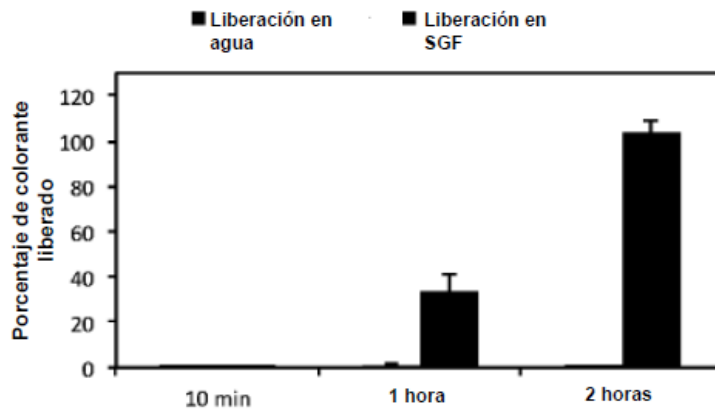


FIG. 5C

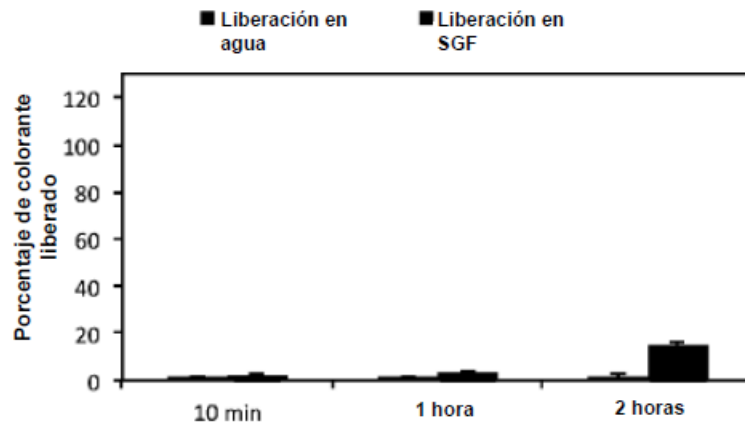


FIG. 5D

EPO al 5 % en agua

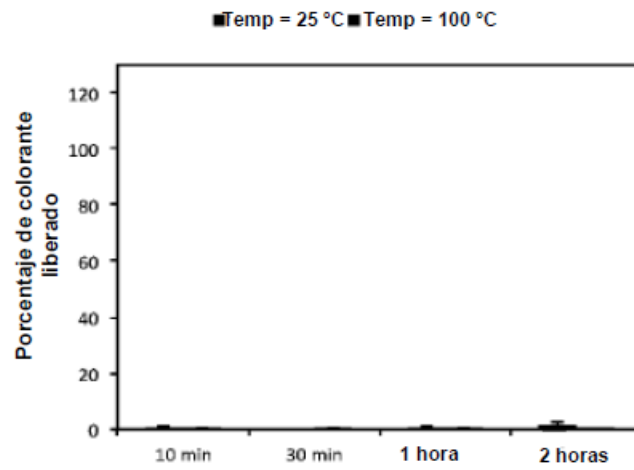


FIG. 6A

EPO al 5 % en SGF

■ Temp = 25 °C ■ Temp = 37 °C

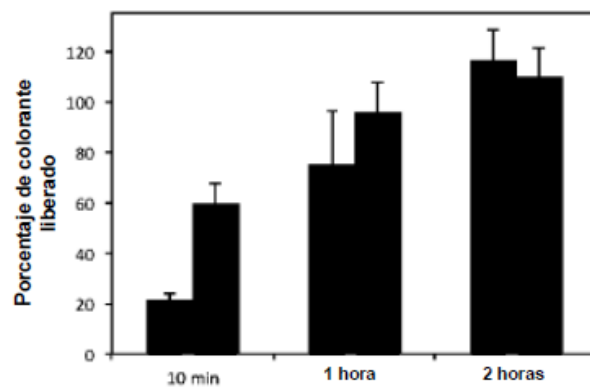


FIG. 6B

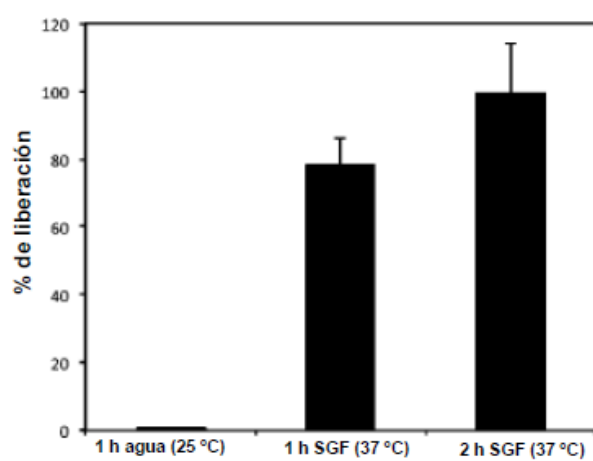


FIG. 7A

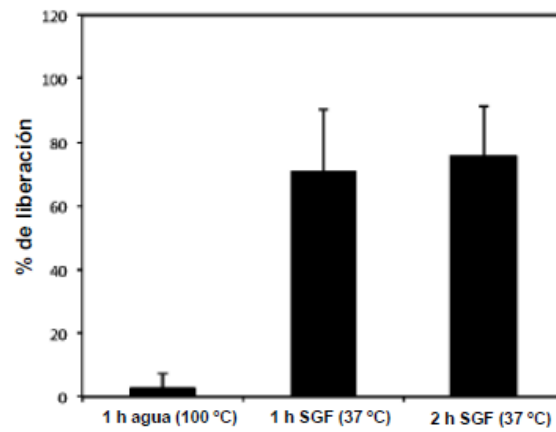


FIG. 7B

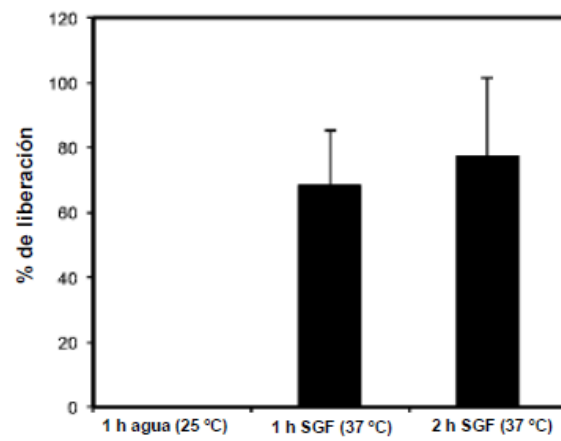


FIG. 8A

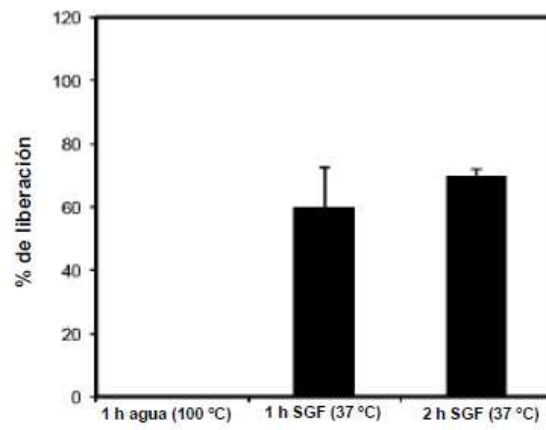


FIG. 8B

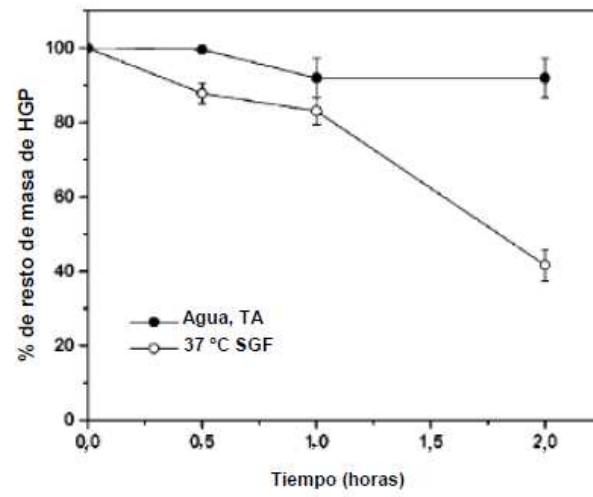


FIG. 9

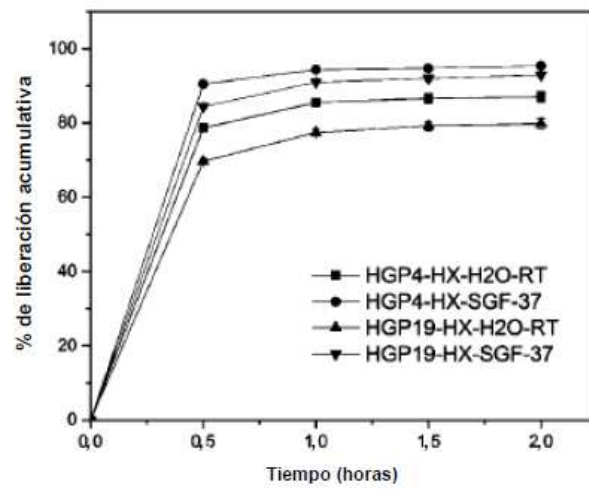


FIG. 10A

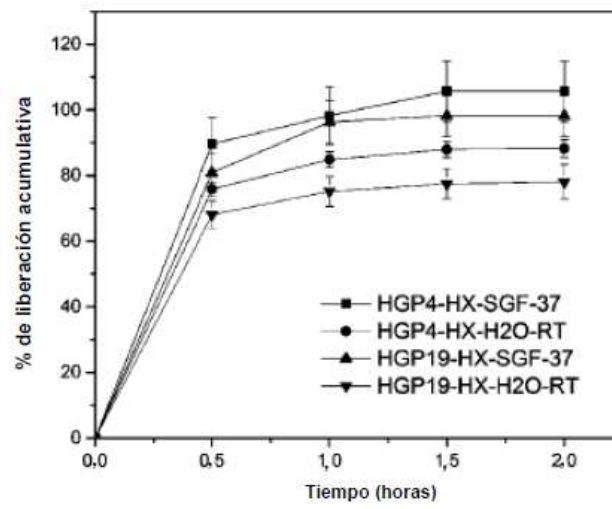


FIG 10B

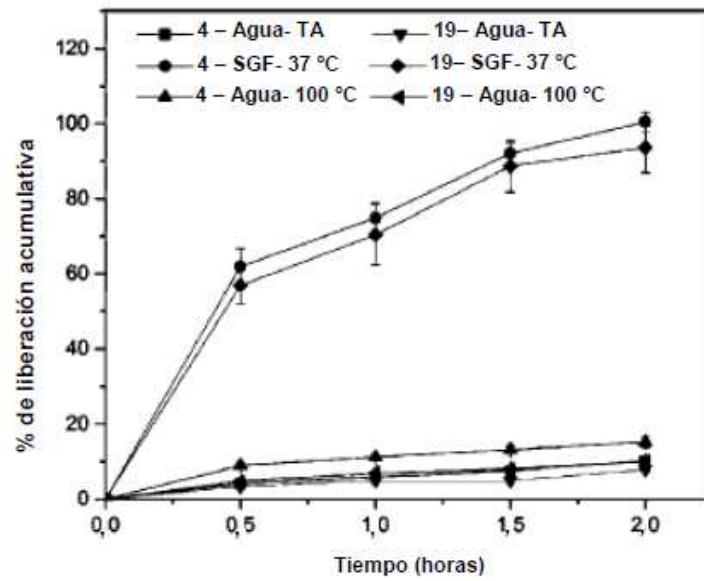


FIG 11A

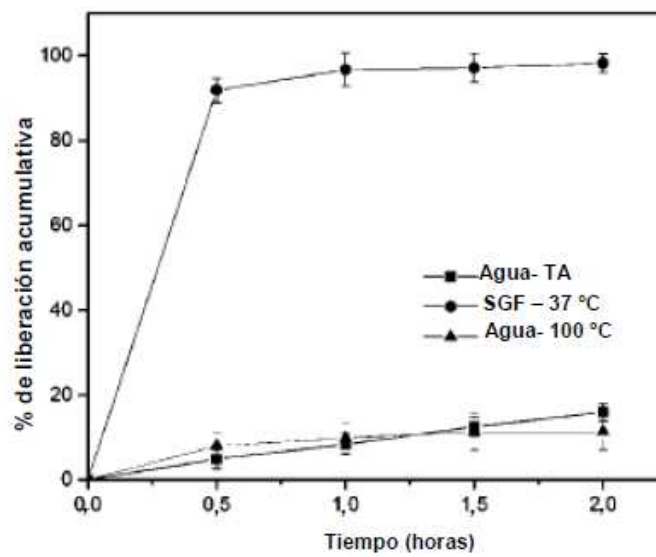


FIG 11B

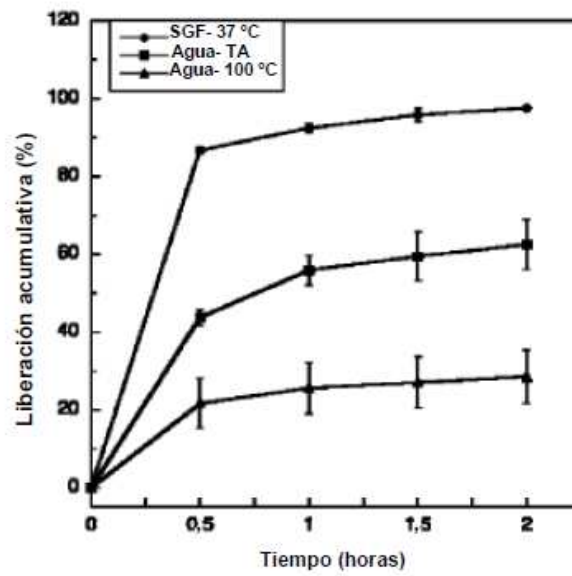


FIG. 12A

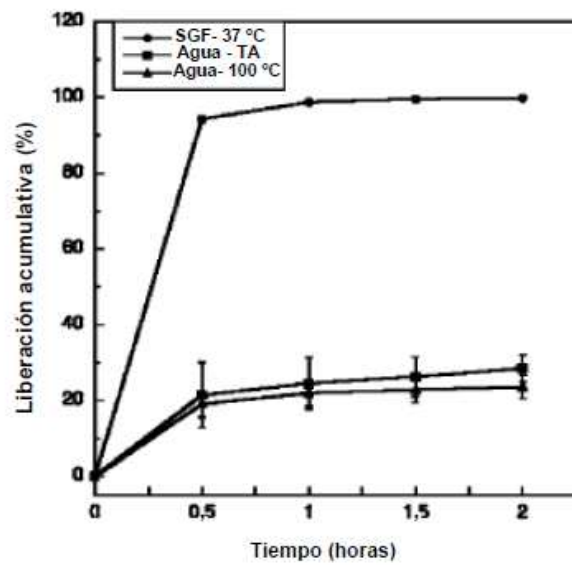


FIG. 12B

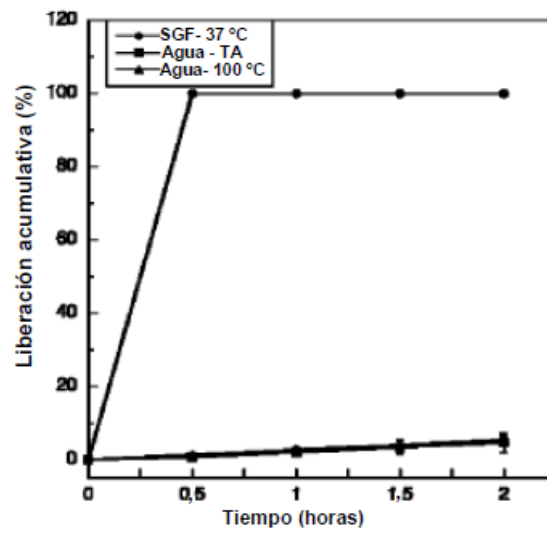


FIG. 13

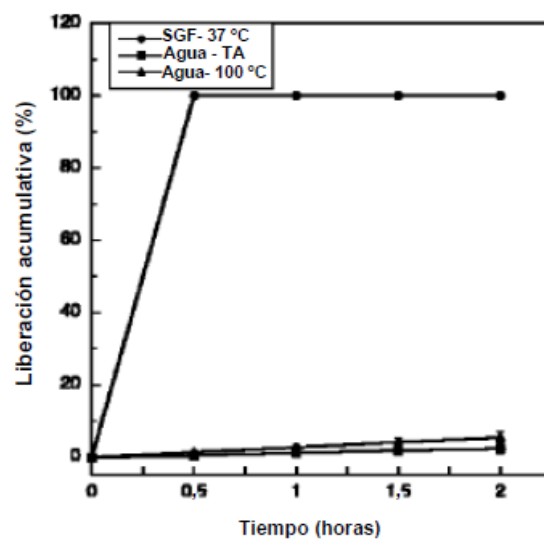


FIG. 14

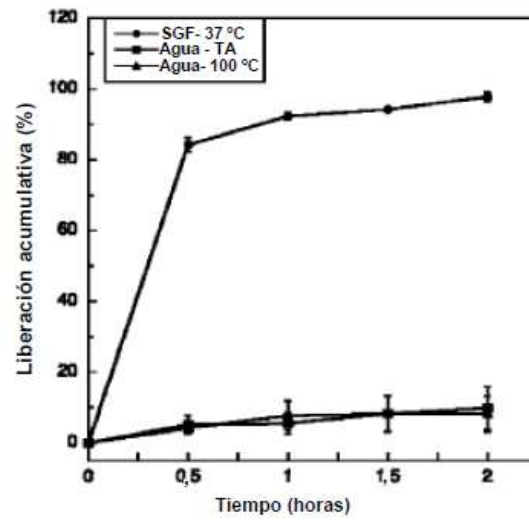


FIG. 15

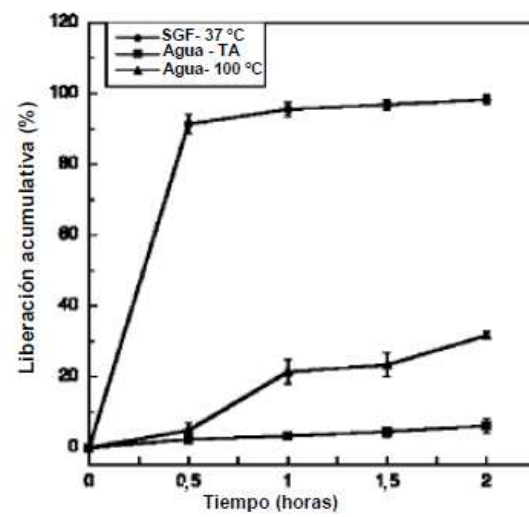


FIG. 16