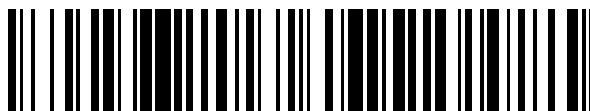


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 668 640**

51 Int. Cl.:

A61K 9/48

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.06.2007** **PCT/US2007/071938**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.12.2007** **WO07150047**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.06.2007** **E 07784519 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.02.2018** **EP 2034973**

54 Título: **Composiciones de compuestos lábiles encapsulados y métodos para preparar las mismas**

30 Prioridad:

22.06.2006 US 805590 P

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

21.05.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**SUBRAMANIAN, SRINIVASAN;
CONNOLLY, BRIAN J. y
HENDRICKSON, WILLIAM A.**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 668 640 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones de compuestos lábiles encapsulados y métodos para preparar las mismas

Campo de la invención

La invención se refiere a métodos para preparar compuestos lábiles encapsulados, incluyendo ácidos grasos poliinsaturados.

Antecedentes de la invención

Los compuestos lábiles y las composiciones, tales como los ácidos grasos poliinsaturados (los PUFA, por sus siglas en inglés), vitaminas, minerales, antioxidantes, hormonas, aminoácidos, proteínas, carbohidratos, coenzimas y agentes saborizantes, sensibles a un número cualquiera de factores, pueden perder actividad biológica u otra actividad deseada cuando no se encuentran protegidos, además, los productos (por ejemplo, productos de descomposición, productos de degradación y productos de oxidación) que resultan del cambio o la descomposición químicos, físicos o biológicos de compuestos lábiles y composiciones, podían carecer de la función biológica deseada y/o poseer características no deseadas, tales como tener sabores desagradables, olores no deseables, actividad promotora de irritación y similares. Con frecuencia, hay la necesidad de introducir compuestos lábiles y composiciones, que sean susceptibles de cambio o descomposición químicos, físicos o biológicos, en productos farmacéuticos, nutricionales, incluyendo nutracéuticos y productos industriales, en esos casos, es deseable la protección de esos compuestos y de esas composiciones. Con respecto a los PUFAs en particular, es deseable proteger los lípidos en los productos alimenticios del oxígeno, metales traza y otras sustancias que ataquen los dobles enlaces de los PUFAs. Dicha protección reduce la probabilidad de problemas organolépticos, es decir, problemas, relacionados con los sentidos (gusto, color, olor, tacto), tales como sabores desagradables y olores no deseables y otros problemas, tales como la pérdida de actividad fisiológica, por ejemplo. Esa protección podía aumentar potencialmente la duración de los productos que los contienen.

Encapsular compuestos inestables puede protegerlos de cambio o descomposición químicos, físicos o biológicos, no deseables, al tiempo que se mantiene su eficacia, tal como eficacia biológica o fisiológica. Pueden existir microcápsulas en forma de polvo y comprender partículas aproximadamente esféricas que contengan una sustancia encapsulada (retenida). La partícula normalmente tiene algún tipo de envoltura, con frecuencia una envoltura polimérica, tal como una envoltura de polipéptido o polisacárido y el producto activo encapsulado se sitúa dentro de la envoltura. La microencapsulación de un líquido, tal como un aceite, permite la formación de una partícula que presenta una superficie externa seca con un aceite ocluido. Con frecuencia las partículas son un polvo suelto. La microencapsulación permite, por lo tanto, con eficacia la conversión de líquidos en polvos. Se conocen numerosas técnicas de microencapsulación dependiendo de la naturaleza de la sustancia encapsulada y del tipo de material de envoltura usado. Los métodos implican típicamente solidificar gotitas de líquido emulsionadas cambiando la temperatura, evaporando disolvente o añadiendo agentes reticulantes químicos. Esos métodos incluyen, por ejemplo, secado por pulverización, polimerización interfacial, encapsulación de masas fundidas calientes, encapsulación con separación de fases (eliminación de disolvente y evaporación de disolvente), emulsión espontánea, microencapsulación con evaporación de disolvente, microencapsulación con eliminación de disolvente, coacervación y formación de microesferas a baja temperatura y nanoencapsulación con inversión de fases (PIN, por sus siglas en inglés). La microencapsulación es adecuada para fármacos, vitaminas y suplementos alimenticios puesto que este procedimiento es adaptable por variación de los ingredientes y las condiciones de la encapsulación.

La patente internacional WO 2004/016720 describe un procedimiento para recubrir una partícula portadora que contiene ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) o una partícula de matriz de PUFA, en donde el procedimiento comprende las etapas de:

(a) medir un material de recubrimiento líquido por un limitador de caudal;

(b) inyectar una corriente gaseosa por el limitador de caudal simultáneamente con la etapa (a) para (i) atomizar el material de recubrimiento líquido y (ii) crear flujo turbulento de la corriente gaseosa y el material de recubrimiento líquido atomizado, en donde la corriente gaseosa se calienta opcionalmente y

(c) añadir una partícula portadora que contiene PUFA o una partícula de matriz de PUFA a la región de flujo turbulento simultáneamente con las etapas (a) y (b), en donde la partícula portadora que contiene PUFA o la partícula de matriz de PUFA se mezcla con el material de recubrimiento líquido atomizado para proporcionar una partícula portadora que contiene PUFA recubierta o una partícula de matriz de PUFA.

La patente internacional WO0174175 describe un procedimiento para la encapsulación de aceites sensibles al oxígeno o aceites que contienen sustancias sensibles al oxígeno solubles en aceite, se encapsulan en proteínas que se han hecho reaccionar con carbohidratos que contienen grupos azúcar reductores.

La patente internacional WO9401001 describe un producto oleoso o graso microencapsulado, en donde al menos un aceite o una grasa se dispersa en el material de matriz como partículas o gotas con un diámetro promedio menor que, o igual a, 2 µm, conteniendo el aceite o la grasa al menos un 10 % en peso del ácido graso altamente

insaturado, estando el nivel de ácidos grasos libres por debajo del 5,0 % en peso y consistiendo el material de matriz en caseinato y opcionalmente al menos un carbohidrato.

La patente internacional WO06115420 describe la protección de lípidos oxidables y en particular, una emulsión que protege los lípidos oxidables de daño oxidativo por encapsulación de los lípidos en un complejo proteínico. La patente internacional WO06115420 también describe un método para preparar la emulsión y alimentos y cosméticos que contienen la emulsión.

La patente internacional WO07136263 describe un método para preparar partículas encapsuladas, que encapsulan aire, material de núcleo o gotitas de grasa mediante agentes encapsulantes a base de proteínas. Las partículas encapsuladas proporcionadas así son ingredientes adecuados para varios productos, en particular productos alimenticios.

La patente de EE. UU. US2003185960 describe un encapsulante para aceites sensibles al oxígeno o sustancias solubles en aceite sensibles al oxígeno que se prepara haciendo reaccionar una mezcla acuosa de una proteína con un carbohidrato que contiene grupos azúcar reductores.

Hay una necesidad particular de proporcionar formas microencapsuladas de grasas o aceites, tales como aceites vegetales y marinos, que contienen PUFA's. Dichas formas microencapsuladas se beneficiarían de las propiedades de digestibilidad, estabilidad, resistencia al cambio o a la descomposición químicos, físicos o biológicos. Los aceites microencapsulados pueden proporcionarse convenientemente como una forma en polvo suelto. Dicho polvo puede mezclarse fácilmente con otros componentes secos o líquidos para formar un producto útil. La capacidad para microencapsularse, sin embargo, puede estar limitada por factores debidos a la naturaleza del procedimiento de microencapsulación o al compuesto o a la composición que se tiene que encapsular. Esos factores pueden incluir pH, temperatura, uniformidad, viscosidad, hidrofobicidad, peso molecular y similares. Adicionalmente, un procedimiento de microencapsulación determinado puede presentar limitaciones inherentes. Por ejemplo, en técnicas de microencapsulación en las que se use calor para secar, los compuestos aromáticos de bajo punto de ebullición pueden perderse durante el procedimiento de secado. Adicionalmente, el núcleo puede adherirse a la superficie del material de encapsulación, presentando un potencial para oxidación aumentada y cambios en el equilibrio del sabor del producto acabado, en algunos casos, deben controlarse cuidadosamente las condiciones de almacenamiento para evitar un aumento de la actividad del agua y por lo tanto la estabilidad de la cápsula y la retención de compuestos volátiles en la cápsula. Durante la microencapsulación con secado por pulverización, la temperatura de la entrada de alimentación puede no ser suficientemente alta y dar como resultado un secado incompleto y pegajosidad en la cámara de secado o formación de grumos en el almacenamiento. También pueden producirse inconsistencias de partículas en algunas condiciones del procedimiento. A temperaturas que sean demasiado bajas, las partículas pueden hincharse y pueden formarse grietas en la superficie de las partículas. Esto puede producir pérdida de compuestos volátiles y comprometer la calidad del producto final. Asimismo, otra desventaja es que los recubrimientos producidos son con frecuencia solubles en agua y sensibles a la temperatura. Los presentes autores han reconocido los problemas anteriores y que hay la necesidad, por lo tanto, de proporcionar procedimientos adicionales para la encapsulación de compuestos y composiciones susceptibles de cambio o descomposición químicos, físicos o biológicos.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a métodos para preparar productos que comprenden compuestos lábiles, tales como ácidos grasos poliinsaturados, y que tienen primer y segundo compuestos encapsulados.

La invención proporciona un método para preparar un producto que comprende encapsular un primer producto encapsulado en presencia de una fuente de aminoácidos y un azúcar reductor para formar un segundo producto encapsulado, por lo cual se forman productos de la reacción de Maillard y en donde el primer producto encapsulado comprende un encapsulante de un compuesto lábil.

En algunas realizaciones, el método comprende además manipular el compuesto lábil en condiciones que reducen la degradación oxidativa previa a la encapsulación.

En algunas realizaciones del método, el primer producto encapsulado comprende la fuente de aminoácidos y el azúcar reductor. En otras realizaciones, el método comprende además tratar el segundo producto encapsulado en una forma de partículas. El tratamiento incluye secado en lecho fluido, secado de tambor (película), coacervación, polimerización interfacial, tratamiento de lecho fluido, recubrimiento en bombo, gelificación por pulverización, mezclado de cintas helicoidales, disco giratorio, coextrusión centrífuga, complejación por inclusión, estabilización de emulsión, recubrimiento por pulverización, extrusión, nanoencapsulación de liposomas, microencapsulación de fluidos supercríticos, polimerización en suspensión, procedimientos de deshidratación en frío, enfriamiento por pulverización (perlado) y procedimientos de dispersión evaporativa. En otras realizaciones, la etapa de encapsular el primer producto encapsulado se lleva a cabo a una temperatura por encima de aproximadamente 85 °C.

En algunas realizaciones, la etapa de encapsular el primer producto encapsulado se lleva a cabo durante entre aproximadamente 1 minuto y aproximadamente 15 minutos. En otras realizaciones, el primer producto encapsulado se forma por un método que comprende emulsionar una dispersión acuosa de un ácido graso poliinsaturado,

proteína y azúcar reductor para formar una emulsión y secar la emulsión para formar el primer producto encapsulado.

5 En otras realizaciones, el encapsulamiento del primer producto encapsulado comprende poner en contacto el primer producto encapsulado con un material perlado, pulverizar la mezcla del primer producto encapsulado con el material perlado en gotitas y enfriar las gotitas por debajo del punto de fusión del material perlado para formar el segundo producto encapsulado. En algunas realizaciones, el material perlado presenta un punto de fusión en el intervalo de aproximadamente 32 °C a aproximadamente 122 °C.

En otras realizaciones, la etapa de poner en contacto el primer producto encapsulado con el material perlado se lleva a cabo a una temperatura por encima de aproximadamente 85 °C.

10 En otras realizaciones más, la etapa de poner en contacto el primer producto encapsulado con el material perlado se lleva a cabo durante entre aproximadamente 1 minuto y aproximadamente 15 minutos.

En otras realizaciones, el material perlado es aceite vegetal hidrogenado y la etapa de poner en contacto el primer producto encapsulado con el material perlado se lleva a cabo durante entre aproximadamente 1 minuto y aproximadamente 15 minutos, entre 80 °C y 100 °C.

15 En algunas realizaciones, el primer producto encapsulado comprende aproximadamente 25 % en peso a aproximadamente 80 % en peso de compuesto lábil; aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 25 % en peso de una fuente de aminoácidos y aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 70 % en peso de un azúcar reductor.

20 En otras realizaciones, el segundo producto encapsulado está en forma de partículas y en donde los materiales en forma de partículas comprenden más de un producto encapsulado recubierto por material en forma de partículas.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona métodos para hacer compuestos lábiles encapsulados. En varias realizaciones, la invención proporciona un método para preparar un producto que comprende una composición que comprende un compuesto lábil, un primer encapsulante de la composición y un segundo encapsulante del primer encapsulante y, en algunas realizaciones, el segundo encapsulante puede ser un recubrimiento de perla. En algunas realizaciones, el producto comprende además un producto de la reacción de Maillard (PRM). Como se usa en la presente memoria, el término "un" o "una" se refiere a uno o más de esa entidad; por ejemplo, un PUFA se refiere a uno o más PUFAs o al menos un PUFA. Como tales, los términos "un" (o "una"), "uno o más" y "al menos uno" pueden usarse indistintamente en la presente memoria. También cabe señalar que los términos "que comprende", "que incluye" y "que tiene" pueden usarse indistintamente.

30 En una realización, la invención se refiere a un método para preparar un producto que incluye una composición que comprende un compuesto lábil con un primer encapsulante de la composición y recubrimiento de perla en el primer encapsulante. En esta realización, el producto comprende además un producto de la reacción de Maillard. La referencia a un recubrimiento de perla o un segundo encapsulante que sea "en el primer encapsulante" se refiere al recubrimiento de perla o segundo recubrimiento encapsulante o recubrimiento parcial del primer encapsulante y la composición que tiene un compuesto lábil. Se reconocerá que el recubrimiento de perla o el segundo encapsulante puede ponerse en contacto con el primer encapsulante directamente o puede ponerse en contacto con el primer encapsulante a través de una o más capas intervinientes de otros materiales.

35 En una realización, la invención se refiere a un método para preparar un producto que incluye una composición que comprende un compuesto lábil seleccionado del grupo que consiste en: un ácido graso poliinsaturado, una vitamina, un mineral, un antioxidante, una hormona, un aminoácido, una proteína, un carbohidrato, una coenzima y mezclas de los mismos. El producto incluye además un primer encapsulante de la composición y un recubrimiento de perla en el primer encapsulante.

40 En otra realización, la invención se refiere a un método para preparar un producto que incluye una composición que comprende un compuesto lábil con un primer encapsulante de la composición y un segundo encapsulante del primer encapsulante. En esta realización, el producto comprende además un producto de la reacción de Maillard formado poniendo en contacto el primer encapsulante con el segundo encapsulante.

45 En otra realización, la invención se refiere a un método para preparar un producto que incluye una composición que comprende un compuesto lábil con un primer encapsulante de la composición y un segundo encapsulante del primer encapsulante. En esta realización, el segundo encapsulante comprende además un producto de la reacción de Maillard.

50 En una realización adicional, la invención se refiere a un método para preparar un producto que incluye una composición que comprende un compuesto lábil con un primer encapsulante de la composición y un segundo encapsulante del primer encapsulante. En esta realización, el producto comprende además un producto de la reacción de Maillard formado en un entorno no acuoso.

Como se usa en la presente memoria, un compuesto lábil es un compuesto que experimentará fácilmente un cambio o descomposición químicos y/o biológicos; esto es, un compuesto que experimenta un cambio notable en las condiciones de uso deseadas. Por ejemplo, un PUFA en un producto alimenticio puede experimentar algo de degradación en la palatabilidad que es apreciable por un consumidor del producto alimenticio. Dichas condiciones pueden definirse en términos de temperatura, tiempo de almacenamiento, presencia de agua y similares. Los compuestos lábiles incluyen, sin limitación, ácidos grasos poliinsaturados (los PUFAs), vitaminas, minerales, antioxidantes, hormonas, aminoácidos, proteínas, carbohidratos, coenzimas, agentes saborizantes y mezclas de lo anterior. En una realización más, el compuesto lábil puede ser seleccionado de los PUFAs, vitaminas, minerales, antioxidantes, hormonas, aminoácidos, proteínas, carbohidratos, coenzimas y mezclas de los mismos. El compuesto lábil puede estar en la forma de una partícula sólida, una gotita líquida, una burbuja de gas o mezclas de estos. En una realización preferida, el compuesto lábil es una partícula sólida y en otra realización preferida, el compuesto lábil es un líquido.

En algunas realizaciones de la invención, el compuesto lábil es un PUFA. En algunas realizaciones, un PUFA tiene una longitud de cadena de al menos 18 carbonos. Dichos PUFAs se refieren en la presente memoria como los PUFAs de cadena larga o los LC PUFAs. En algunas realizaciones, el PUFA puede ser ácido docosahexaenoico C22:6(n-3) (DHA), ácido omega-3 docosapentaenoico C22:5(n-3) (DPA(n-3)), ácido omega-6 docosapentaenoico C22:5(n-6) (DPA(n-6)), ácido araquidónico C20:4(n-6) (ARA), ácido eicosapentaenoico C20:5(n-3) (EPA), ácido estearidónico, ácido linolénico, ácido alfa-linolénico (ALA), ácido gamma-linolénico (GLA), ácido linolénico conjugado (CLA) o mezclas de los mismos. Los PUFAs pueden estar en cualquiera de las formas comunes encontradas en los lípidos naturales incluyendo, pero no limitándose a, triacilgliceroles, diacilgliceroles, monoacilgliceroles, fosfolípidos, ácidos grasos libres o en formas derivadas naturales o sintéticas de estos ácidos grasos (por ejemplo, sales de calcio u otras sales de ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, incluyendo ésteres metílicos, ésteres etílicos y similares). La referencia a un aceite u otra composición que comprenda un LC PUFA, como se usa en la presente invención, puede referirse a una composición que comprenda sólo un único LC PUFA tal como DHA o una composición que comprenda una mezcla de los LC PUFAs tales como DHA y EPA o DHA y ARA.

Si bien algunas realizaciones se describen en la presente memoria con referencia a los PUFAs por conveniencia y concisión, se tiene que entender que los productos que comprenden otros compuestos lábiles están incluidos dentro del alcance de la invención. Los PUFAs pueden obtenerse de, o derivarse de, una planta (incluyendo semillas oleaginosas; como apreciará un experto en la materia, una semilla oleaginosa es parte de una planta), un microorganismo, un animal o mezclas de lo anterior. Los microorganismos pueden ser algas, bacterias, hongos o protistas. Las fuentes microbianas y los métodos para cultivar microorganismos que comprenden nutrientes y/o los PUFAs son conocidos en la técnica (Industrial Microbiology and Biotechnology, 2ª edición, 1999, American Society for Microbiology). Por ejemplo, los microorganismos pueden cultivarse en un medio de fermentación en un fermentador. Los PUFAs producidos por microorganismos pueden usarse en los métodos y las composiciones de la presente invención. En algunas realizaciones, los organismos incluyen los seleccionados del grupo que consiste en algas doradas (tales como microorganismos del reino Stramenopiles), algas verdes, diatomeas, dinoflagelados (tales como microorganismos del orden Diiophyceae incluyendo miembros del género *Cryptothecodinium* tales como, por ejemplo, *Cryptothecodinium cohnii*), levaduras y hongos de los géneros *Mucor* y *Mortierella*, incluyendo, pero no limitándose a *Mortierella alpina* y *Mortierella* sect. *schnuckeri*. Los miembros del grupo microbiano Stramenopiles incluyen microalgas y microorganismos de tipo alga, incluyendo los siguientes grupos de microorganismos: Hamatores, Proteromonadales, Opalines, Develpayella, Diplophrys, Labirintúlidos, Traustochytridos, Biosecidos, Oomicetos, Hipoquitridiomicetos, Commation, Reticulosphaera, Pelagomonas, Pelagococcus, Ollicola, Aureococcus, Parmales, Diatomeas, Xantofitos, Feofitos (alga parda), Eustigmatofitos, Rafidofitos, Sinúridos, Axodines (incluyendo Rliizocliromulinales, Pedinelales, Dictiocales), Crisomeridales, Sarcinocrisidales, Hidrurales, Hibberdiales y ChiOiiulinales. Los traustochytridos incluyen los géneros *Schizochytrium* (la especie incluye *aggregatum*, *limnaceum*, *mangrovei*, *minutum*, *octosporum*), *Thraustochytrium* (la especie incluye *arudimentale*, *aureum*, *benthicola*, *globosum*, *kinnei*, *motiviim*, *multirudimentale*, *pachydermum*, *proliferum*, *roseum*, *striatum*), *Ulkenia* (la especie incluye *amoeboides*, *keruelensis*, *minuta*, *profunda*, *radiata*, *sailens*, *sarkariana*, *schizochytrids*, *visurgensis*, *yorkensis*), *Aplanochytrium* (la especie incluye *halitidis*, *keruelensis*, *profunda*, *stocchinoi*), *Japonochytrium* (la especie incluye *marinum*), *Althornia* (la especie incluye *couchii*) y *Elina* (la especie incluye *marisalba*, *sinorifica*). Los labirintúlidos incluyen los géneros *Labyrinthula* (la especie incluye *algeriensis*, *coenocystis*, *chattonii*, *macrocystis*, *macrocystis atlantica*, *macrocystis marina*, *minuta*, *roscoffensis*, *valkanovii*, *vitellina*, *vitellina pacifica*, *vitellina*, *zopfi*), *Labyrinthomyxa* (la especie incluye *marina*), *Labyrinthuloides* (la especie incluye *halitidis*, *yorkensis*), *Diplophrys* (la especie incluye *archeri*), *Pyrrhosorus** (la especie incluye *marinus*), *Sorodiplophrys** (la especie incluye *stercorea*), *Chlamydomyxa** (la especie incluye *labyrinthuloides*, *montana*). (* = no hay consenso general en la actualidad sobre la ubicación taxonómica exacta de estos géneros).

Los microorganismos adecuados incluyen los capaces de producir lípidos que comprenden los compuestos lábiles ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y/u omega-6 y en particular se describirán microorganismos que son capaces de producir DHA, DPA(n-3), DPA(n-6), EPA o ARA). Más en particular, los microorganismos preferidos son algas, tales como Traustochytridos del orden Thraustochytriales, incluyendo *Thraustochytrium* (incluyendo *Ulkenia*) y *Schizochytrium* e incluyendo Thraustochytriales que se describen en las patentes de EE. UU. cedidas comúnmente con la presente números 5,340,594 y 5,340,742, ambas expedidas a Barclay. Más preferiblemente, los microorganismos se seleccionan del grupo que consiste en microorganismos que tienen las características de

identificación de número ATCC 20888, número ATCC 20889, número ATCC 20890, número ATCC 20891 y número ATCC 20892. Puesto que hay algo de desacuerdo entre los expertos en cuanto a si *Ulkenia* es un género separado del género *Thraustochytrium*, para los fines de esta solicitud, el género *Thraustochytrium* incluirá *Ulkenia*. También se prefieren cepas de *Mortierella schmuckeri* (por ejemplo, incluyendo ATCC 74371) y *Mortierella alpina*. También se prefieren cepas de *Cryptocodinium cohnii*, incluyendo microorganismos que tienen las características de identificación de los números ATCC 30021, 30334-30348, 30541-30543, 30555-30557, 30571, 30572, 30772-30775, 30812, 40750, 50050-50060 y 50297-50300. También se prefieren microorganismos oleaginosos. Como se usa en la presente memoria, "microorganismos oleaginosos" se definen como microorganismos capaces de acumular más del 20 % del peso seco de sus células en la forma de lípidos. Los microorganismos genéticamente modificados que producen PUFAs son también adecuados para la presente invención. Estos pueden incluir microorganismos que producen PUFA de manera natural que han sido modificados genéticamente, así como microorganismos que no producen de manera natural PUFAs pero que han sido modificados genéticamente para que lo hagan.

Pueden obtenerse organismos adecuados a partir de una serie de fuentes disponibles, incluyendo por recogida del medio natural. Por ejemplo, la colección de cultivos tipo de EE. UU. enumera en la actualidad muchas cepas, disponibles al público, de microorganismos identificados anteriormente. Como se usa en la presente memoria, cualquier organismo, o cualquier tipo específico de organismo, incluye cepas naturales, mutantes o tipos recombinantes. Las condiciones de crecimiento en las que estos organismos se cultivan o crecen son conocidas en la técnica y las condiciones de crecimiento apropiadas para al menos algunos de estos organismos se describen en, por ejemplo, la patente de EE. UU. número 5,130,242, la patente de EE. UU. número 5,407,957, la patente de EE. UU. número 5,397,591, la patente de EE. UU. número 5,492,938 y la patente de EE. UU. número 5,711,983.

Otra fuente de PUFAs, en las composiciones y métodos de la presente invención incluye una fuente vegetal, tal como plantas oleaginosas. Las plantas que producen PUFA, en realizaciones alternativas, pueden incluir las logradas genéticamente para que expresen genes que produzcan PUFAs y las que produzcan PUFAs de manera natural. Dichos genes pueden incluir genes que codifiquen proteínas implicadas en las rutas de ácidos grasos sintasas clásicas o genes que codifiquen proteínas implicadas en la ruta de la PUFA policétido sintasa (PKS, por sus siglas en inglés). Los genes y las proteínas implicados en las rutas de ácido graso sintasa, clásicas, y los organismos genéticamente modificados, tales como plantas, transformados con tales genes, se describen, por ejemplo, en Napier and Sayanova, *Proceedings of the Nutrition Society* (2005), 64:387- 393; Robert et al., *Functional Plant Biology* (2005) 32:473-479 o la publicación de la solicitud de patente de EE. UU. 2004/0172682. La ruta de la PUFA PKS, los genes y proteínas incluidos en esta ruta, y los microorganismos genéticamente modificados y las plantas transformadas con esos genes para la expresión y la producción de los PUFAs se describen con detalle en: la patente de EE. UU. número 6,566,583; la publicación de la solicitud de patente de EE. UU. número 20020194641, la publicación de la solicitud de patente de EE. UU. número 20040235127A1 y la publicación de la solicitud de patente de EE. UU. número 20050100995A1.

Los cultivos de oleaginosas adecuados para uso en la presente invención incluyen: semillas de soja, maíz, cártamo, girasol, canola, lino, cacahuete, mostaza, colza, garbanzo, algodón, lenteja, trébol blanco, oliva, aceite de palma, borraja, onagra, linaza y tabaco que han sido modificados genéticamente para producir PUFA como se describió anteriormente.

Las técnicas de transformación genética para microorganismos y plantas son conocidas en la técnica. Las técnicas de transformación para microorganismos son conocidas en la técnica y se analizan, por ejemplo, en Sambrook et al., 1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Labs Press. Una técnica general para la transformación de dinoflagelados, que puede adaptarse para uso con *Cryptocodinium cohnii*, se describe con detalle en Lohuis and Miller, *The Plant Journal* (1998) 13(3): 427-435. Una técnica general para la transformación genética de Traustochytridos se describe con detalle en la publicación de la solicitud de patente de EE. UU. número 20030166207, publicada el 4 de septiembre de 2003. Los métodos para lograr genéticamente plantas también son conocidos en la técnica. Por ejemplo, se han desarrollado numerosos métodos para transformación de plantas, incluyendo protocolos de transformación biológicos y físicos. Véase, por ejemplo, Mild et al., "Procedures for Introducing Foreign DNA into Plants" en *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, Glide, B. R. y Thompson, J. E. Eds. (CRC Press, Inc., Boca Raton, 1993) pp. 67-88. Además, están disponibles vectores y métodos de cultivo in vitro para transformación de células o tejidos vegetales y la regeneración de plantas. Véase, por ejemplo, Gruber et al., "Vectors for Plant Transformation" en *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, Glick, B. R. y Thompson, J. E. Eds. (CRC Press, Inc., Boca Raton, 1993) pp. 89-119. Véase también Horsch et al., *Science* 227:1229 (1985); Kado, CL, *Crit. Rev. Plant. Sci.* 10: 1 (1991); Moloney et al., *Plant Cell Reports* 8:238 (1989); patente de EE. UU. número 4,940,838; patente de EE. UU. número 5,464,763; Sanford et al., *Part. Sci. Technol.* 5:27 (1987); Sanford, J. C., *Trends Biotech.* 6:299 (1988); Sanford, J. C., *Physiol. Plant* 79:206 (1990); Klein et al., *Biotechnology* 10:268 (1992); Zhang et al., *Bio/Technology* 9:996 (1991); Deshayes et al., *EMBO J.*, 4:2731 (1985); Christou et al., *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 84:3962 (1987); Hain et al., *Mol. Gen. Genet.* 199: 161 (1985); Draper et al., *Plant Cell Physiol.* 23:451 (1982); Donn et al., en Resúmenes del VII Congreso Internacional sobre cultivo de células y tejidos vegetales de la Asociación Internacional de Cultivos de Tejidos Vegetales (IAPTC, por sus siglas en inglés), A2-38, p. 53 (1990); D'Halluin et al., *Plant Cell* 4:1495 - 1505 (1992) y Spencer et al., *Plant Mol. Biol.* 24:51-61 (1994).

Cuando las plantas oleaginosas son la fuente de PUFAs, se pueden recoger y tratar las semillas para retirar

- impurezas, partículas o porciones indigeribles de las semillas recogidas. Las etapas de tratamiento varían dependiendo del tipo de planta oleaginosa y son conocidas en la técnica. Las etapas de tratamiento pueden incluir trillado (tal como, por ejemplo, cuando se separan semillas de soja de las vainas), descascarillado (retirando la cubierta externa seca, o cáscara, de una fruta, semilla o fruto seco), secado, limpieza, trituración, molienda y descortezado. Después de que se hayan tratado las semillas para retirar las impurezas, partículas o materiales indigeribles, pueden añadirse a una disolución acuosa y mezclarse después para producir una suspensión. En algunas realizaciones, se realiza molienda, molturación o descascarado previamente al mezclado con agua. Una suspensión producida de esta manera puede tratarse y procesarse de la misma forma que se describe para un caldo de fermentación microbiano.
- 5 Otra fuente de biomasa de nutrientes, incluyendo los PUFAs, en las composiciones y métodos de la presente invención incluye una fuente animal. Ejemplos de fuentes animales incluyen animales acuáticos (por ejemplo, peces, mamíferos marinos y crustáceos tales como krill y otros eufasiáceos) y tejidos animales (por ejemplo, cerebro, hígado, ojos, etc.) y productos animales tales como huevos o leche. Las técnicas para recuperación de aceites que contienen PUFA de dichas fuentes son conocidas en la técnica.
- 10 En algunas realizaciones, el compuesto lábil es una vitamina, tal como, por ejemplo, vitamina A, vitamina D, vitamina E, vitamina K, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B3, vitamina B6, vitamina C, ácido fólico, vitamina B-12, biotina, vitamina B5 o mezclas de los mismos.
- En algunas realizaciones, el compuesto lábil es mineral, tal como, por ejemplo, calcio, hierro, yodo, magnesio, cinc, selenio, cobre, manganeso, cromo, molibdeno, formas iónicas de lo anterior, sales biológicamente aceptables de lo anterior o mezclas de los mismos.
- 20 En algunas realizaciones, el compuesto lábil comprende un antioxidante, carotenoide o xantofila, tal como, por ejemplo, licopeno, luteína, zeaxantina, astaxantina, ácido alfa-lipoico, coenzima Q, betacaroteno o mezclas de los mismos.
- En algunas realizaciones, el compuesto lábil es un aminoácido, tal como, por ejemplo, arginina, ácido aspártico, carnitina, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina, SAM-e o mezclas de los mismos.
- 25 En algunas realizaciones, el compuesto lábil comprende un agente saborizante, tal como un aceite saborizante (o esencial), oleorresina, otra esencia saborizante o mezclas de los mismos. El término aceite aromatizante se reconoce en general en la técnica que es un compuesto aromático aromatizante y/o aceite o extracto derivado de fuentes botánicas, es decir, hojas, corteza o piel de frutas o vegetales y que normalmente son insolubles en agua. Ejemplos de aceites aromatizantes incluyen: aceite de menta, aceite de hierbabuena, aceite de canela, aceite de gaulteria, aceite de nuez, palodulce, vainilla, aceites cítricos, esencias de frutas y mezclas de los mismos. Los aceites cítricos y las esencias de fruta incluyen manzana, albaricoque, banana, arándano, cereza, coco, uva, pomelo, limón, lima, naranja, pera, melocotones, piña, ciruela, frambuesa, fresa y mezclas de los mismos. los extractos de oleorresina de especias incluyen, por ejemplo, extractos de oleorresina de estragón, tomillo, salvia, romero, orégano, nuez moscada, albahaca, laurel, aroma de cardamomo, apio, cilantro, canela, clavo, culantro, comino, hinojo, ajo, jengibre, macis, mejorana, pimentón, pimienta negra, pimienta blanca, achiote, pimienta de España, cúrcuma, cajún y mezclas de los mismos.
- 30 Sin desear estar limitados por ninguna teoría, se cree que el primer encapsulante protege a la composición que comprende el compuesto lábil para reducir la probabilidad de, o el grado en que, el compuesto lábil experimente un cambio o descomposición químicos, físicos o biológicos. El primer encapsulante puede formar un recubrimiento continuo en la composición que comprende el compuesto lábil (encapsulamiento del 100 %) o alternativamente, forma un recubrimiento no continuo (por ejemplo, en un nivel que proporcione cubrimiento sustancial del compuesto lábil, por ejemplo, cubrimiento al 80 %, 90 %, 95 % o 99 %). En otras realizaciones, el primer encapsulante puede ser una matriz en la que esté retenido el compuesto lábil.
- 35 En varias realizaciones, la composición que comprende el compuesto lábil con un primer encapsulante puede ser cualquiera de una composición encapsulada que comprenda un compuesto lábil, una biomasa celular completa, un hidrolizado de biomasa o una semilla oleaginosa.
- 40 La encapsulación de composiciones que comprenden compuestos lábiles, incluyendo los PUFAs, con un primer encapsulante puede ser por cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, la composición que comprende un compuesto lábil puede ser secada por pulverización. Se conocen otros métodos para encapsulación, tales como secado en lecho fluido, secado de tambor (película), coacervación, polimerización interfacial, tratamiento de lecho fluido, recubrimiento en bombo, gelificación por pulverización, mezclado de cintas helicoidales, disco giratorio, coextrusión centrífuga, complejación por inclusión, estabilización de emulsión, recubrimiento por pulverización, extrusión, nanoencapsulación de liposomas, microencapsulación de fluidos supercríticos, polimerización en suspensión, procedimientos de deshidratación en frío, enfriamiento/refrigeración por pulverización (perlado), procedimientos de dispersión evaporativa y métodos que aprovechan la solubilidad diferencial de los recubrimientos a temperaturas variables. Algunas técnicas de encapsulación ejemplares se resumen a continuación. Se debería
- 50
- 55

reconocer que la referencia a las diversas técnicas resumidas a continuación incluye la descripción en la presente memoria y variaciones a esas descripciones conocidas para los expertos en la materia.

En secado por pulverización, el material de núcleo que se tiene que encapsular se dispersa o se disuelve en una disolución. Típicamente, la disolución es acuosa y la disolución incluye un polímero. Se bombea la disolución o dispersión por una boquilla micronizada accionada por un flujo de gas comprimido y se suspende el aerosol resultante en un ciclón calentado de aire, permitiendo que se evapore el disolvente de las microgotitas. Las micropartículas solidificadas pasan a una segunda cámara y son atrapadas en un matraz de recogida.

Se usa policondensación interfacial para encapsular un material de núcleo de la siguiente manera. Se disuelve un monómero y el material de núcleo en un disolvente. Se disuelve un segundo monómero en un segundo disolvente (típicamente acuoso) que es inmiscible con el primero. Se forma una emulsión por suspensión de la primera disolución en la segunda disolución por agitación. Una vez que se estabiliza la emulsión, se añade un iniciador a la fase acuosa que produce polimerización interfacial en la interfase de cada gotita de emulsión. En encapsulación de masa fundida caliente el material de núcleo se añade a polímero fundido. Esta mezcla se suspende como gotitas fundidas en un no disolvente para el polímero (con frecuencia de base oleosa) que ha sido calentado a aproximadamente 10 °C por encima del punto de fusión del polímero. Se mantiene la emulsión con agitación vigorosa al tiempo que se enfría rápidamente el baño del no disolvente por debajo de la transición vítrea del polímero, haciendo que solidifiquen las gotitas fundidas y se retenga el material de núcleo.

En encapsulación con evaporación de disolvente, se disuelve típicamente un polímero en un disolvente orgánico inmiscible en agua y se añade el material que se tiene que encapsular a la disolución de polímero como una suspensión o disolución en disolvente orgánico. Se forma una emulsión por adición de esta suspensión o disolución a un recipiente de agua agitada vigorosamente (con frecuencia conteniendo un agente tensioactivo para estabilizar la emulsión). Se evapora el disolvente orgánico al tiempo que se continúa agitando. La evaporación da como resultado precipitación del polímero, formándose microcápsulas sólidas que contienen material de núcleo.

El procedimiento de evaporación de disolvente se diseña para retener un material de núcleo, líquido, en un polímero, copolímero o microcápsulas de copolímero. El polímero o copolímero se disuelve en una mezcla miscible de disolvente y disolvente, en una concentración de no disolvente que está inmediatamente por debajo de la concentración que produciría separación de fases (es decir, punto de turbidez). El material de núcleo líquido se añade a la disolución al tiempo que se agita para formar una emulsión y se dispersa el material como gotitas. Se vaporizan disolvente y no disolvente, vaporizándose el disolvente a una velocidad más rápida, haciendo que el polímero o copolímero se separe en fases y migre a la superficie de las gotitas de material de núcleo. Esta disolución que se ha separado en fases se transfiere después a un volumen agitado de no disolvente, haciendo que precipite todo el polímero o copolímero disuelto restante y extrayéndose el disolvente residual de la membrana formada. El resultado es una microcápsula constituida por envoltura de polímero o copolímero con un núcleo de material líquido.

En encapsulación con eliminación de disolvente, se disuelve típicamente un polímero en un disolvente orgánico miscible en aceite y el material que se tiene que encapsular se añade a la disolución de polímero como una suspensión o disolución en disolvente orgánico. Se forma una emulsión por adición de esta suspensión o disolución a un recipiente de aceite agitado vigorosamente, en la que el aceite es un no disolvente para el polímero y la disolución de polímero/disolvente es inmiscible en el aceite. Se retira el disolvente orgánico por difusión en la fase oleosa al tiempo que se continúa agitando. La eliminación de disolvente da como resultado precipitación del polímero, formándose microcápsulas sólidas que contienen material de núcleo.

En encapsulación con separación de fases, el material que se tiene que encapsular se dispersa en una disolución de polímero por agitación. Al tiempo que se continúa la suspensión de manera uniforme del material por agitación, se añade lentamente a la disolución un no disolvente para el polímero para disminuir la solubilidad del polímero. Dependiendo de la solubilidad del polímero en el disolvente y no disolvente, el polímero precipita o se separa en fases en una fase rica en polímero y una fase deficiente en polímero. En las condiciones apropiadas, el polímero en la fase rica en polímero migrará a la interfase con la fase continua, encapsulándose el material de núcleo en una gotita con una envoltura de polímero externa.

La emulsificación espontánea implica solidificar gotitas de polímero líquido emulsionadas cambiando la temperatura, evaporando el disolvente o añadiendo agentes reticulantes químicos. Las propiedades físicas y químicas del encapsulante y el material que se tiene que encapsular dictan los métodos de encapsulación adecuados. Factores tales como hidrofobicidad, peso molecular, estabilidad química y estabilidad térmica afectan a la encapsulación.

La coacervación es un procedimiento que implica separación de disoluciones coloidales en dos o más capas líquidas inmiscibles (Dowben, R. General Physiology, Harper & Row, Nueva York, 1969, pp. 142-143). Por el procedimiento de coacervación pueden producirse composiciones constituidas por dos o más fases y conocidas como coacervatos. Los ingredientes que comprenden el sistema coacervado de dos fases están presentes en ambas fases; sin embargo, la fase rica en coloides presenta una mayor concentración de los componentes que la fase deficiente en coloides.

Se ha descrito la formación de microesferas a baja temperatura, véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. número 5,019,400. El método es un procedimiento para preparar microesferas que implica el uso de temperaturas muy frías para congelar mezclas de polímero-agente biológicamente activo en microesferas poliméricas. El polímero se disuelve generalmente en un disolvente junto con un agente activo que puede estar disuelto en el disolvente o dispersado en el disolvente en la forma de micropartículas. La mezcla de polímero/agente activo se atomiza en un recipiente que contiene un no disolvente líquido, solo o congelado y revestido con un gas licuado, a una temperatura por debajo del punto de congelación de la disolución de polímero/agente activo. El gas licuado o líquido, frío, congela inmediatamente las gotitas de polímero. A medida que disminuyen las gotitas y el no disolvente para el polímero, el disolvente en las gotitas se descongela y se extrae en el no disolvente, dando como resultado microesferas endurecidas.

La encapsulación con separación de fases generalmente transcurre más rápidamente que los procedimientos descritos en los párrafos precedentes. Se disuelve un polímero en el disolvente. Después se disuelve o se dispersa en ese disolvente un agente que se tiene que encapsular. Después se combina la mezcla con un exceso de no disolvente y se emulsiona y se estabiliza, por lo cual el disolvente de polímero ya no es la fase continua. Se aplican condiciones enérgicas de emulsificación para producir microgotitas del disolvente polimérico. Después de la emulsificación, se introduce la emulsión estable en un gran volumen de no disolvente para extraer el disolvente polimérico y formar micropartículas. El tamaño de las micropartículas se determina por el tamaño de las microgotitas de disolvente polimérico.

Otro método para encapsular es por nanoencapsulación con inversión de fases (PIN).

En la PIN, se disuelve un polímero en una cantidad eficaz de un disolvente. El agente que se tiene que encapsular también se disuelve o se dispersa en la cantidad eficaz del disolvente. El polímero, el agente y el disolvente juntos forman una mezcla que tiene una fase continua, en donde el disolvente es la fase continua. Se introduce la mezcla en una cantidad eficaz de un no disolvente para producir la formación espontánea del producto microencapsulado, en donde el disolvente y el no disolvente son miscibles.

En la preparación de un primer encapsulante de una composición que comprende un compuesto lábil, las condiciones pueden ser controladas por un experto en la materia para proporcionar material encapsulado con los atributos deseados. Por ejemplo, el tamaño promedio de partícula, hidrofiliidad, biocompatibilidad, relación de material de núcleo a encapsulante, estabilidad térmica y similares, pueden ser variados por un experto en la materia.

En el caso en que la composición que comprende el compuesto lábil con un primer encapsulante comprenda una biomasa celular completa, se reconocerá que la célula, por ejemplo, una célula microbiana, puede incluir un compuesto lábil tal como un PUFA, una vitamina u otro compuesto beneficioso. Las células completas incluyen las descritas anteriormente como fuentes para PUFAs. La estructura celular (por ejemplo, una pared celular o membrana celular), al menos en parte, constituye el primer encapsulante y proporciona protección al compuesto lábil basándose en su aislamiento del entorno circundante. Como se usa en la presente memoria, biomasa puede referirse a múltiples células completas que, en el agregado, constituyen una biomasa. Una biomasa microbiana puede referirse a una biomasa que no haya sido separada del medio de cultivo en el que se cultivó el organismo de la biomasa. Un ejemplo de un medio de cultivo es un caldo de fermentación. En una realización más, la biomasa se separa de su medio de cultivo por separación sólido/líquido, previa a tratamiento por métodos de la presente invención. Las técnicas de separación sólido/líquido, típicas, incluyen centrifugación, filtración y filtro prensa de membrana (filtro prensa de placa y armazón con membranas prensadoras). Esta biomasa (recogida) normalmente presenta un contenido en materia seca que varía entre un 5 % y un 60 %. Si el contenido en agua es demasiado alto, la biomasa puede deshidratarse por cualquier método conocido en la técnica, tal como, por ejemplo, secado por pulverización, secado de lecho fluidizado, liofilización, secado por congelación, secado en bandejas, secado en bandejas a vacío, secado en tambor, secado de disolvente, secado de excipiente, secado en mezclador/reactor a vacío, secado usando secado de lecho de pulverización, secado por pulverización fluidizado, secado de cinta transportadora, ultrafiltración, evaporación, deshidratación osmótica, congelación, extrusión, adición de absorbente u otros métodos similares o combinaciones de los mismos. Las técnicas de secado referidas en la presente memoria son conocidas en la técnica. Por ejemplo, secado de excipiente se refiere al procedimiento de atomización de líquidos sobre un lecho de material tal como almidón y secado de disolvente se refiere a un procedimiento donde se usa un disolvente, miscible con agua, en exceso, para reemplazar al agua. La biomasa puede lavarse opcionalmente para reducir componentes extracelulares. El caldo de fermentación puede secarse y reconstituirse después a un contenido de humedad de cualquier nivel deseado antes de tratamiento por cualquiera de los métodos de la presente invención. Alternativamente, pueden aplicarse enzimas hidrolizantes a biomasa seca para formar un hidrolizado de biomasa, descrito en otra parte en la presente memoria.

En una realización más en la que la composición que comprende el compuesto lábil con un primer encapsulante comprende una célula completa, la célula completa es un organismo probiótico. Como se entiende, los probióticos son microorganismos que se destinan a conferir un efecto saludable beneficioso cuando se consumen por modificación de manera favorable del equilibrio de la microflora intestinal, inhibiendo el crecimiento de bacterias perjudiciales, produciendo composiciones beneficiosas, activando una buena digestión, reforzando la función inmunitaria y/o aumentando la resistencia a infección. Por ejemplo, se considera que el *Lactobacillus acidophilus* es beneficioso porque produce vitamina K, lactasa y sustancias antimicrobianas tales como acidolina, acidolplilina,

lactocidina y bacteriocina. Los probióticos incluyen, por ejemplo, bacterias de ácido láctico y bifidobacterias. Las bacterias de ácido láctico incluyen, por ejemplo, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrückii*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus GG*. Las bifidobacterias incluyen, por ejemplo, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis* y *Bifidobacterium longum*. Bacterias probióticas adicionales incluyen, por ejemplo, *Streptococcus thermophilus* y *Leuconostoc mesenteroides*. Sin desear estar limitados por la teoría, los efectos beneficiosos de estos microorganismos pueden conservarse si se encapsulan por un segundo encapsulante. En una realización, el microorganismo probiótico es encapsulado en condiciones en las que el microorganismo retiene sus propiedades probióticas beneficiosas. Por ejemplo, la encapsulación con un segundo encapsulante puede realizarse a una temperatura menor que la temperatura requerida para la inactivación del microorganismo, en general en el intervalo de 90 °C - 100 °C.

En una realización más, la composición que comprende el compuesto lábil con un primer encapsulante comprende un hidrolizado de biomasa emulsionado. Dichas composiciones y métodos para prepararlas se describen con detalle en la solicitud de patente provisional de EE. UU. número de serie 60/680,740, presentada el 12 de mayo de 2005; la solicitud de patente provisional de EE. UU. número de serie 60/781,430, presentada el 10 de marzo de 2006 y la solicitud de patente de EE. UU. número de serie 11/433,752, presentada el 12 de mayo de 2006. En resumen, se obtiene un hidrolizado de biomasa emulsionado por hidrólisis de una biomasa que contiene nutrientes para producir una biomasa hidrolizada y emulsionar la biomasa hidrolizada para formar un producto estable. El producto estable es típicamente una emulsión o una composición seca que resulta de secar con posterioridad la emulsión.

En una realización más, la composición que comprende el compuesto lábil con un primer encapsulante comprende una semilla oleaginosa. Dichas semillas oleaginosas pueden seleccionarse de las descritas en general anteriormente como fuentes para los PUFAs y pueden incluir semillas oleaginosas de plantas que hayan sido modificadas genéticamente y plantas que no hayan sido modificadas genéticamente.

Como se indicó anteriormente, los productos de la presente invención incluyen un segundo encapsulante del primer encapsulante. Sin desear estar limitados por la teoría, se cree que el segundo encapsulante del primer encapsulante protege además la composición que comprende el compuesto lábil para reducir la probabilidad de, o el grado en que, el compuesto lábil experimenta un cambio o descomposición químicos, físicos o biológicos. El segundo encapsulante puede formar un recubrimiento continuo sobre el primer encapsulante (encapsulamiento del 100 %) o alternativamente, forma un recubrimiento no continuo (por ejemplo, en un nivel que proporcione cubrimiento sustancial del primer encapsulante, por ejemplo, cubrimiento al 80 %, 90 %, 95 % o 99 %). En otras realizaciones, el segundo encapsulante puede ser una matriz en la que esté retenido el primer encapsulante.

Puede aplicarse el segundo encapsulante por cualquier método conocido en la técnica, tal como secado por pulverización, secado de lecho fluido, secado de tambor (película), coacervación, polimerización interfacial, tratamiento de lecho fluido, recubrimiento en bombo, gelificación por pulverización, mezclado de cintas helicoidales, disco giratorio, coextrusión centrífuga, complejación por inclusión, estabilización de emulsión, recubrimiento por pulverización, extrusión, nanoencapsulación de liposomas, microencapsulación de fluidos supercríticos, polimerización en suspensión, procedimientos de deshidratación en frío, enfriamiento/refrigeración por pulverización (perlado), procedimientos de dispersión evaporativa y métodos que aprovechan la solubilidad diferencial de los recubrimientos a temperaturas variables. Si bien un segundo encapsulante puede encapsular una única partícula discreta (es decir, una partícula que sea un primer encapsulante de una composición que comprenda un compuesto lábil), un segundo encapsulante puede encapsular alternativamente una variedad de partículas discretas dentro de un único segundo encapsulante.

En realizaciones preferidas, el segundo encapsulante del primer encapsulante es un recubrimiento de perla. El perlado es un procedimiento de encapsulación de compuestos en una matriz de masa fundida a alta temperatura en la que el material perlado pasa de sólido a líquido por encima de temperatura ambiente. Como se usa en la presente memoria, un recubrimiento de perla es una cera, aceite, grasa o resina, que tiene típicamente un punto de fusión de aproximadamente 25 °C - 150 °C. El recubrimiento de perla puede envolver el primer encapsulante completamente (encapsulamiento del 100 %) o el recubrimiento de perla puede envolver el primer encapsulante en algún nivel menor que el 100 %, pero en un nivel que proporcione cubrimiento sustancial del primer encapsulante, por ejemplo, a aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 % o aproximadamente 99 %. En algunas realizaciones, el recubrimiento de perla es comestible. Mas en particular, el recubrimiento de perla puede comprender, por ejemplo, un monoglicérido de ácido graso; un diglicérido de ácido graso; un triglicérido de ácido graso; un ácido graso libre (tal como ácido esteárico, ácido palmítico y ácido oleico); sebo (tal como sebo de ternera, sebo de oveja y sebo de cordero); tocino (grasa porcina); cera de abejas; lanolina; cera shell; cera de insectos incluyendo cera de insectos chinos; cera vegetal; cera de carnauba; cera de candelilla; cera de arrayán; cera de caña de azúcar; cera mineral; cera de petróleo de parafina microcristalina; cera de ozoquerita; cera de ceresina; cera montana sintética, poliolefina de bajo peso molecular; éteres-ésteres de poliol, sorbitol; cera sintética del procedimiento de Fischer-Tropsch; colofonia; bálsamo; goma laca; estearilamida; etilenbisestearilamida; aceite de ricino hidrogenado; ésteres de pentaeritritol; mono- y tetraésteres de ácido esteárico; aceite vegetal (tales como aceite de semilla de algodón,

aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de soja, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de colza, aceite de lino, aceite de linaza); aceite vegetal hidrogenado y mezclas y derivados de lo anterior. En algunas realizaciones, el recubrimiento de perla es aceite de semilla de algodón hidrogenado, aceite de girasol hidrogenado, aceite de cártamo hidrogenado, aceite de soja hidrogenado, aceite de maíz hidrogenado, aceite de oliva hidrogenado, aceite de colza hidrogenado, aceite de lino hidrogenado o aceite de linaza hidrogenado. En algunas realizaciones, el recubrimiento de perla comprende además un componente adicional. El componente adicional puede ser, por ejemplo, un antioxidante, eliminador de oxígeno, colorante o agente saborizante solubles en grasa o dispersibles en grasa. Dicho antioxidante puede ser, por ejemplo, vitamina E, tocoferol, butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), terc-butilhidroquinona (TBHQ), galato de propilo (PG), vitamina C, palmitato de ascorbilo, fosfolípidos, un producto de reacción de Maillard, antioxidantes naturales (tales como extractos de especias, por ejemplo, extractos de romero u orégano y extractos de semillas, por ejemplo, extractos de semillas de uva o extracto de granada) y combinaciones de los mismos. El producto de la reacción de Maillard puede añadirse como antioxidante además de productos de reacción de Maillard descritos en otra parte. Dicho eliminador de oxígeno puede ser, por ejemplo, ácido ascórbico, ácido isoascórbico, ácido eritórbito o mezclas de sales de los mismos. El componente colorante se selecciona del grupo que consiste en tintes naturales o artificiales solubles en agua que incluyen tintes FD&C (tintes de uso en alimentos, medicamentos y cosméticos) azules, verdes, naranjas, rojos, amarillos y violetas; tintes de óxidos de hierro; pigmentos ultramarinos azules, rosas, rojos y violetas y equivalentes de los mismos. Los tintes indicados anteriormente son conocidos y son materiales comercialmente disponibles. Ejemplos de agente saborizantes incluyen aceites saborizantes tales como aceite de menta, aceite de hierbabuena, aceite de canela, aceite de gaulteria, aceite de nuez, palodulce, vainilla, aceites cítricos, esencias de frutas y mezclas de los mismos. Los aceites cítricos y las esencias de fruta incluyen manzana, albaricoque, banana, arándano, cereza, coco, uva, pomelo, limón, lima, naranja, pera, melocotones, piña, ciruela, frambuesa, fresa y mezclas de los mismos. Otros ejemplos de agentes saborizantes incluyen extractos de oleoresina de especias, incluyen, por ejemplo, extractos de oleoresina de estragón, tomillo, salvia, romero, orégano, nuez moscada, albahaca, laurel, aroma de cardamomo, apio, cilantro, canela, clavo, culantro, comino, hinojo, ajo, jengibre, macis, mejorana, pimentón, pimienta negra, pimienta blanca, achiote, pimienta de España, cúrcuma, cajún y mezclas de los mismos.

En algunas realizaciones, el recubrimiento de perla se aplica por un método de perlado siendo el producto resultante una perla o bolita. El perlado también es conocido en la técnica como enfriamiento por pulverización, refrigeración por pulverización y/o encapsulamiento de matriz. El perlado es similar a secado por pulverización porque un material de núcleo, en el caso presente, un primer encapsulante de una composición que comprende un compuesto lábil se dispersa en un recubrimiento licuado o material de pared y es atomizado. A diferencia del secado por pulverización, no hay agua presente para evaporar. El material de núcleo y el segundo encapsulante pueden atomizarse en aire enfriado o refrigerado, que hace que solidifique la pared alrededor del núcleo. En refrigeración por pulverización, el recubrimiento de perla presenta típicamente un punto de fusión entre aproximadamente 32 °C y aproximadamente 42 °C. En enfriamiento por pulverización, el recubrimiento de perla presenta típicamente un punto de fusión de entre aproximadamente 45 °C y aproximadamente 122 °C. En algunas realizaciones, el recubrimiento de perla se aplica por un método de perlado modificado. Un método de perlado modificado, por ejemplo, puede ser un procedimiento de disco giratorio o un procedimiento de coextrusión centrífuga. En algunas realizaciones, el producto que tiene un recubrimiento de perla está en una forma que da como resultado un polvo suelto.

En algunas realizaciones, el recubrimiento de perla se aplica de manera que se forme un producto en configuraciones distintas de polvos, tales como virutas o escamas. En todas esas realizaciones, el equipo convierte el material de recubrimiento de perla, líquido, en un sólido por enfriamiento mientras se aplica a un primer producto encapsulado. Por ejemplo, el recubrimiento de perla y el primer encapsulante de una composición que comprende un compuesto lábil se enfrían a medida que la mezcla pasa por rodillos y se conforma en una lámina plana, que puede transformarse después en virutas o escamas. Alternativamente, la mezcla puede excluirse por boquillas para formar conformaciones o por hojas para cortarse en cintas.

En una realización más, el segundo encapsulante del primer encapsulante es un recubrimiento de lecho fluido. La aplicación de un recubrimiento de lecho fluido es adecuada para recubrir de manera uniforme o encapsular materiales en forma de partículas individuales. El aparato para aplicar un recubrimiento del lecho fluido se caracteriza típicamente por la disposición de una boquilla de pulverización en el fondo de un lecho fluidizado de partículas sólidas y las partículas se suspenden en una corriente de aire de fluidización que se diseña para inducir flujo cíclico de las partículas pasada la boquilla de pulverización. La boquilla pulveriza un flujo atomizado de disolución de recubrimiento, suspensión u otro material de recubrimiento. El material de recubrimiento atomizado choca con las partículas a medida que son alejadas de la boquilla. La temperatura del aire de fluidización se fija para que solidifique de manera apropiada el material de recubrimiento poco tiempo después del choque con las partículas. Los materiales de recubrimiento adecuados incluyen los materiales identificados anteriormente como materiales para recubrimientos de perla. Por ejemplo, los recubrimientos de fusión en caliente son una grasa sólida (a temperatura ambiente) que ha sido fundida y pulverizada sobre una partícula (es decir, un primer encapsulante) donde solidifica. Un beneficio de usar recubrimientos de fusión en caliente es que no tienen que evaporar disolvente y son insolubles en agua, son también de bajo coste y son fáciles de obtener. El volumen de recubrimiento típico para aplicación de fusión en caliente a un primer encapsulante es el 50 % (la mitad recubrimiento de fusión en caliente y la mitad primer encapsulante y material de núcleo).

También se consideran en la presente invención encapsulados adicionales, por ejemplo, un tercer encapsulante, un

cuarto encapsulante, un quinto encapsulante, etc. Pueden aplicarse encapsulantes adicionales por métodos descritos en la presente memoria y pueden proporcionarse propiedades deseables adicionales a los productos. Por ejemplo, los encapsulantes adicionales pueden mejorar además la duración de los productos o modificar las propiedades de liberación del producto para proporcionar liberación controlada o liberación retardada del compuesto lábil.

En algunas realizaciones, el producto comprende además un producto de la reacción de Maillard (PRM). La reacción de Maillard tiene lugar cuando reaccionan azúcares reductores y aminoácidos. Un azúcar reductor es un azúcar con un grupo funcional cetona o uno aldehído, que permite que el azúcar actúe como agente reductor en la reacción de Maillard. Esta reacción tiene lugar en la mayoría de los alimentos con el calentamiento. La química de la reacción de Maillard puede afectar a los sabores y color deseables de una amplia variedad de alimentos y bebidas. Aunque no se desea estar limitados por la teoría, se cree que la formación de los PRMs en los productos de la invención produce aromas y sabores que son deseables para la inclusión en productos alimenticios u otros productos que se consumen. Los PRMs también pueden poseer actividad antioxidante y sin estar limitados por la teoría, se cree que esta propiedad de los PRMs imparte una estabilidad y una duración aumentadas a los productos de la presente invención. Las reacciones de Maillard son conocidas y a partir de la especificación detallada en la presente memoria, pueden determinarse la temperatura y el tiempo requeridos para llevar a cabo la reacción en la extensión deseada.

Los PRMs pueden incluirse en los productos de la presente invención en una serie de formas. En algunas realizaciones, el PRM es un producto de un azúcar reductor y una fuente de aminoácidos que es una proteína. Las proteínas que pueden usarse para producir un PRM incluyen caseína, sólidos de suero, aislado de proteínas de suero, proteína de soja, leche en polvo desnatada, caseína hidrolizada, proteína de suero hidrolizada, proteína de soja hidrolizada, sólidos de leche desnatada, gelatina, zeína, albúmina y similares. Alternativamente, pueden proporcionarse aminoácidos directamente o por formación *in situ*, tal como por hidrólisis ácida, alcalina o enzimática. En varias realizaciones, el azúcar reductor puede incluir azúcares, tales como fructosa, glucosa, gliceraldehído, lactosa, arabinosa y maltosa. Como se usa en la presente memoria, el término azúcar reductor también incluye fuentes complejas de azúcares reductores. Por ejemplo, las fuentes complejas adecuadas incluyen sólidos de jarabe de maíz y almidones modificados tales como almidones modificados químicamente y almidones hidrolizados o dextrinas, tales como maltodextrina. Los almidones hidrolizados (dextrinas) se usan en algunas realizaciones, en algunas realizaciones, el azúcar reductor se forma *in situ* a partir de, por ejemplo, un compuesto que no es un azúcar reductor, pero que comprende azúcares reductores. Por ejemplo, el almidón no es un azúcar reductor, pero es un polímero de glucosa, que es un azúcar reductor. La hidrólisis de almidón, por medios químicos o enzimáticos, proporciona glucosa. Esta hidrólisis puede tener lugar *in situ*, para proporcionar el azúcar reductor glucosa. Los azúcares reductores y la proteína usados para formar los PRMs en varias realizaciones de la presente invención, pueden presentarse de manera natural en el primer encapsulante de la composición o el segundo encapsulante. Por ejemplo, en el caso de que el primer encapsulante sea una emulsión de hidrolizado de biomasa microbiana, pueden estar presentes los azúcares reductores y proteínas sin que sean añadidos. Alternativamente, varias realizaciones de la invención contemplan la adición de algo o todo del azúcar reductor y proteína.

En una realización, se forma un PRM poniendo en contacto el primer encapsulante con el segundo encapsulante. Así, la invención proporciona una realización adicional, un producto que comprende una composición que comprende un compuesto lábil, un primer encapsulante de la composición y un segundo encapsulante del primer encapsulante, en donde el producto comprende además un PRM formado poniendo en contacto el primer encapsulante con el segundo encapsulante. En esta realización, en el momento en que se ponen en contacto el primer encapsulante y el segundo encapsulante, se hace así en presencia de azúcares reductores y proteína en las condiciones adecuadas de temperatura y tiempo para formar los PRMs. Por ejemplo, cuando el segundo encapsulante es un recubrimiento de perla, poner en contacto el primer encapsulante con el recubrimiento de perla licuado a temperatura elevada en presencia de azúcares reductores y proteínas puede activar la formación de los PRMs. En general, la temperatura de dicha reacción oscila de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 150 °C, siendo preferido de aproximadamente 80 °C a aproximadamente 110 °C. El tiempo de la reacción oscila de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente varias horas, dependiendo de la temperatura. En el intervalo de temperatura superior preferido, el tiempo de reacción es preferiblemente aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 20 minutos. La referencia a "tiempo de reacción" en este párrafo se refiere al tiempo que está en contacto el primer encapsulante con el recubrimiento de perla licuado antes del enfriamiento para que solidifique el recubrimiento.

En otra realización, el producto de la reacción de Maillard se forma en un entorno no acuoso. De acuerdo con esto, en una realización, la invención proporciona un producto que comprende una composición que comprende un compuesto lábil, un primer encapsulante de la composición y un segundo encapsulante del primer encapsulante, en donde el producto comprende además un producto de la reacción de Maillard formado en un entorno no acuoso. Por ejemplo, cuando el segundo encapsulante es un recubrimiento de perla, poner en contacto el primer encapsulante con el recubrimiento de perla licuado a temperatura elevada en presencia de azúcares reductores y proteínas puede fomentar la formación de los PRMs en el entorno del recubrimiento de perla licuado, es decir, un entorno no acuoso. En esta realización, la reacción es análoga a pardeamiento en aceite. Se produce agua como subproducto de la reacción de Maillard y, por lo tanto, la presencia de agua es inhibitoria para la formación de los PRMs. Así, debería reconocerse que la referencia a un entorno no acuoso incluye un entorno que comprende pequeñas cantidades de agua, tal como el producido por la reacción de Maillard. Llevando a cabo la reacción de Maillard en un entorno no

acuoso, se cree que la reacción transcurre más rápidamente de lo que sería en presencia de agua y que los tiempos de reacción se reducen, por lo tanto, significativamente. Adicionalmente, los subproductos no deseables que pueden formarse con el calentamiento de la reacción se minimizan con tiempos de reacción más cortos. Por ejemplo, en el caso en que un PUFA sea el compuesto lábil, los productos de oxidación que se forman en el calentamiento se reducen. Así, el producto resultante contiene un PUFA de alta calidad que contiene poco o nada de productos de oxidación.

En algunas realizaciones, el primer producto encapsulado comprende la fuente de aminoácidos y la fuente de azúcar reductor. En algunas realizaciones, el primer producto encapsulado comprende la fuente de aminoácidos y el segundo encapsulante comprende la fuente de azúcar reductor. En otras realizaciones, el primer producto encapsulado comprende la fuente de azúcar reductor y el segundo encapsulante comprende la fuente de aminoácidos. En otras realizaciones más, el segundo encapsulante comprende la fuente de agente reductor y de aminoácidos. En otras realizaciones, la fuente de aminoácidos y/o la fuente de azúcar reductor pueden estar presentes tanto en el primer producto encapsulado como en el segundo encapsulante.

En otra realización, el segundo encapsulante comprende un PRM. De acuerdo con esto, en una realización, la invención proporciona un producto que comprende una composición que comprende un compuesto lábil, un primer encapsulante de la composición, un segundo encapsulante del primer encapsulante, en donde el segundo encapsulante comprende además un producto de la reacción de Maillard, en esta realización, por ejemplo, el PRM puede producirse por separado e introducirse en el segundo encapsulante previamente a la encapsulación del primer encapsulante. Alternativamente, en las realizaciones en las que una o ambas fuentes de azúcar reductor y aminoácido están en el segundo encapsulante, los PRMs se formarán a través del segundo encapsulante. Cuando se enfría el segundo encapsulante y se conforma en un recubrimiento, como en un procedimiento de perlado, los PRMs se dispersarán por el segundo encapsulante. En esas realizaciones, se producirán PRMs, no sólo en la interfase entre el primer y el segundo encapsulantes, sino en las porciones externas del segundo encapsulante lejos del primer encapsulante. Por ejemplo, se producirán PRMs en un 75 %, 50 % o 25 % del exterior del segundo encapsulante.

Los productos de la presente invención pueden caracterizarse en general por parámetros tales como tamaño y distribución de partícula, geometría de la partícula, contenidos de principios activos y distribución, mecanismo de liberación y estabilidad en el almacenamiento. En algunas realizaciones en las que el producto está en una forma de polvo, el producto presenta un tamaño de partícula de entre aproximadamente 10 µm y aproximadamente 3000 µm y en otra realización entre aproximadamente 40 µm y 300 µm. En general, los productos son insolubles en agua desde fría a caliente, y en algunas realizaciones, presentan una solubilidad en agua menor que aproximadamente 0,1 mg/ml. La solubilidad del producto en un entorno determinado dependerá del punto de fusión del segundo encapsulante. Un experto en la materia puede seleccionar un segundo encapsulante apropiado para el uso y entorno previstos para el producto.

Los productos de la invención son en general estables físicamente. En algunas realizaciones, el producto es físicamente estable durante al menos aproximadamente 30 días, al menos aproximadamente 60 días, al menos aproximadamente 90 días, al menos aproximadamente 120 días, al menos aproximadamente un año, al menos aproximadamente tres años o al menos aproximadamente cinco años. Estabilidad física se refiere a la capacidad de un producto para mantener su aspecto físico con el tiempo. Por ejemplo, la estructura de un producto, con el primer encapsulante de la composición y el segundo encapsulante del primer encapsulante, se mantiene sustancialmente sin, por ejemplo, que la composición migre por el primer encapsulante al segundo encapsulante.

En varias realizaciones, los productos de la invención son oxidativamente estables. Como se usa en la presente memoria, estabilidad oxidativa se refiere a la ausencia de oxidación significativa en el compuesto lábil durante un periodo de tiempo. Un experto en la materia puede determinar la estabilidad oxidativa de grasas y aceites. Por ejemplo, los índices de peróxido indican la cantidad de peróxidos presentes en la grasa y en general se expresan en miliequivalentes de oxígeno por kg de grasa o aceite. Adicionalmente, los índices de anisidina miden componentes de carbonilo (aldehídos y cetonas) que se forman durante el deterioro de los aceites. Los índices de anisidina pueden determinarse como se describe en IUPAC, Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives, 6ª Ed. (1979), Pergamon Press, Oxford, Method 2,504, página 143. Los productos de la invención, en algunas realizaciones, presentan un índice de peróxido menor que aproximadamente 2 o menor que aproximadamente 1. En otras realizaciones, los productos de la invención presentan un índice de anisidina menor que aproximadamente 1. En algunas realizaciones, el producto es oxidativamente estable durante al menos aproximadamente 30 días, al menos aproximadamente 60 días, al menos aproximadamente 90 días, al menos aproximadamente 120 días, al menos aproximadamente un año, al menos aproximadamente tres años o al menos aproximadamente cinco años.

En otras realizaciones de la invención, los productos presentan aromas o sabores deseables. En algunas realizaciones, un aroma o sabor deseable se debe a la presencia de productos de la reacción de Maillard, en otras realizaciones, un aroma u sabor deseable, o la falta de un aroma o sabor no deseable, se imparte al producto por la estabilidad física y oxidativa del producto. Un experto en la materia puede evaluar la presencia de aromas y sabores deseables. Por ejemplo, las características de olor ambiental de los aceites de cocina pueden caracterizarse de manera reproducible por equipos de pruebas formados en ensayos de olor ambiental (Mounts, J. Am. Oil Chem. Soc. 56:659-663, 1979). Una técnica estandarizada para la evaluación sensorial de aceites vegetales consumibles

se presenta en AOCS' Recommended Practice Cg 2-83 for the Flavor Evaluation of Vegetable Oils (Methods and Standard Practices of the AOCS, 4ª Edición (1989)). La técnica incluye la preparación y presentación de muestras patrón, así como patrones de referencia y método para calificar aceites. Se le puede pedir a las personas del equipo de trabajo que clasifiquen los productos en una escala hedónica. Dicha escala puede ser una escala de 1-10 usada para olor y sabor total en que se asigna el 10 a "totalmente insípido" y 1 a "muy repulsivo". La mayor puntuación indicará mejor producto en términos de aroma y sabor, en algunas realizaciones, los productos de la presente invención tendrán una clasificación de al menos aproximadamente 5, al menos aproximadamente 6, al menos aproximadamente 7, al menos aproximadamente 8, al menos aproximadamente 9 o aproximadamente 10 en dicho ensayo. Esas evaluaciones pueden realizarse en varios límites de tiempo, tal como en la producción del producto, al menos aproximadamente 60 días después de la producción, al menos aproximadamente 90 días después de la producción, al menos aproximadamente 120 días después de la producción, al menos aproximadamente un año después de la producción, al menos aproximadamente tres años después de la producción o al menos aproximadamente cinco años después de la producción.

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

La presente invención también proporciona métodos para preparar los productos descritos en la presente memoria. Algunos de estos métodos se han descrito anteriormente.

En una realización particular, la invención proporciona un método para preparar un producto que comprende encapsular un primer producto encapsulado en presencia de una fuente de aminoácidos y un azúcar reductor para formar un segundo producto encapsulado. En el procedimiento de encapsulación de un primer producto encapsulado, se forman productos de la reacción de Maillard. En esta realización, el primer producto encapsulado comprende un encapsulante de un compuesto lábil.

En algunas realizaciones, este método incluye además manipular el compuesto lábil en condiciones que reduzcan la degradación oxidativa previa a la encapsulación. Dicha manipulación puede incluir, por ejemplo, mantener el producto en una atmósfera inerte, la adición de antioxidantes al compuesto lábil, etcétera, en algunas realizaciones, este método comprende además tratar el segundo producto encapsulado en una forma de partículas. En algunas realizaciones, la forma de partícula puede seleccionarse del grupo que consiste en una bolita, una viruta y una escama.

En una realización, el primer producto encapsulado se forma por un método que comprende emulsionar una dispersión acuosa de un ácido graso poliinsaturado, proteína y azúcar reductor para formar una emulsión. Este método incluye además secar la emulsión para formar el primer producto encapsulado.

En algunas realizaciones, el encapsulamiento del primer producto encapsulado comprende poner en contacto el primer producto encapsulado con un material perlado, pulverizar la mezcla del primer producto encapsulado con el material perlado en gotitas y enfriar las gotitas por debajo del punto de fusión del material perlado para formar el segundo producto encapsulado, en algunas realizaciones, el material perlado presenta un punto de fusión en el intervalo de aproximadamente 32°C a aproximadamente 122°C. En otras realizaciones, la etapa de puesta en contacto del primer producto encapsulado con el material perlado se lleva a cabo a una temperatura por encima de aproximadamente 85 °C. En otras realizaciones más, la etapa de puesta en contacto del primer producto encapsulado con el material perlado se lleva a cabo durante entre aproximadamente 1 minuto y aproximadamente 15 minutos. En algunas realizaciones, el material perlado es aceite vegetal hidrogenado y la etapa de poner en contacto el primer producto encapsulado con el material perlado se lleva a cabo durante entre aproximadamente 1 minuto y aproximadamente 15 minutos, entre 80 °C y 100 °C.

En algunas realizaciones, el primer producto encapsulado comprende de aproximadamente 25 % en peso a aproximadamente 80 % en peso de compuesto lábil; de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 25 % en peso de una fuente de aminoácidos y de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 70 % en peso de un azúcar reductor.

Los productos de la presente invención pueden incorporarse a productos nutricionales (incluyendo productos alimenticios, suplementos alimenticios, productos para pienso, suplementos para pienso y productos nutracéuticos), productos cosméticos, productos farmacéuticos y productos industriales. Los productos pueden estar en la forma de comprimidos masticables, comprimidos de disolución rápida, comprimidos efervescentes, polvos reconstituibles, elixires, líquidos, disoluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, comprimidos multicapa, comprimidos bicapa, cápsulas, cápsulas de gelatina blanda, cápsulas de gelatina dura, comprimidos ovalados, rombos, rombos masticables, bolitas, polvos, gránulos, partículas, gránulos dispersibles, suplementos dietéticos, alimentos diseñados

por ingeniería genética, productos herbáceos y alimentos transformados.

Puede usarse directamente un producto nutricional como producto alimenticio, suplemento alimenticio, producto para pienso, suplemento de pienso o como un ingrediente en cualquiera de lo anterior. Los productos alimenticios pueden ser productos alimenticios líquidos o productos alimenticios sólidos. Los productos alimenticios líquidos incluyen, por ejemplo, preparado para lactantes, comidas líquidas, huevos líquidos, jarabes multivitamínicos, sustitutos de comidas, alimentos medicinales, sopas y jarabes y bebidas. Como se usa en la presente memoria, una bebida es uno cualquiera de varios líquidos para beber. Las bebidas incluyen, por ejemplo, bebidas energéticas, zumos de frutas, leche y productos lácteos. Los productos alimenticios sólidos incluyen, por ejemplo, alimentos para lactantes, yogur, queso, cereal, mezclas en polvo, productos horneados, incluyendo, por ejemplo, artículos tales como pasteles, tartas de queso, empanadas, magdalenas, cookies, barras, panes, bollos, galletas, panecillos, pastelitos, escones y picatostes, barras alimenticias incluyendo barritas energéticas y carnes procesadas. También se incluyen masas, batidos, helados; postres helados; yogures helados; mezclas para waffles; aderezos para ensaladas y mezclas de sustitución del huevo, productos horneados tales como cookies, crackers, productos dulces, pastelillos, empanadas, barras de granola/tentempiés y pasteles tostados; aperitivos salados tales como patatas fritas, frituras de maíz, nachos, aperitivos extruidos, palomitas, rosquillas, patatas fritas y frutos secos; aperitivos de especialidades tales como salsas, aperitivos de frutos secos, aperitivos de carne, cortezas de cerdo, barritas de alimentación sana y tortas de arroz/maíz y aperitivos dulces tales como golosinas. En algunas realizaciones, incluyendo en particular algunos productos alimenticios sólidos, el producto puede ser tratado en forma de partículas. Por ejemplo, la forma de partículas puede seleccionarse del grupo que consiste en una bolita, una viruta y una escama.

Puede prepararse pienso o suplementos para pienso para cualquier animal de compañía o animal doméstico o para cualquier animal cuya carne o productos sean consumidos por seres humanos. El término "animal" significa cualquier organismo que pertenezca al reino Animalia e incluye, sin limitación, cualquier animal del que deriven carne de ave, marisco, ternera, cerdo o cordero. El marisco deriva de, sin limitación, pescado, gamba y moluscos. El producto animal incluye cualquier producto distinto de carne derivado de esos animales, incluyendo, sin limitación, huevos, leche u otros productos. Cuando se alimentan dichos animales, pueden incorporarse nutrientes tales como los LC PUFAs a la carne, leche, huevos u otros productos de esos animales para aumentar su contenido en estos nutrientes. Un producto cosmético es un producto que se aplica a la piel y puede actuar mejorando el aspecto de la piel o mejorando algún beneficio dermatológico a la piel.

Un producto industrial es un producto tal como una materia prima para preparar pinturas, productos de madera, textiles, adhesivos, selladores, lubricantes, cuero, cuerda, pulpa de papel, plásticos, combustibles, aceite, fluidos para trabajar caucho o fluidos para trabajar metal.

Objetos adicionales, ventajas y nuevas características de esta invención serán evidentes para los expertos en la materia con el examen de los siguientes ejemplos de los mismos, que no están destinados a ser limitantes.

Ejemplos

Ejemplo 1

Este ejemplo ilustra la producción de un producto de la presente invención en el que la composición que comprende un compuesto lábil es un aceite de algas y el primer encapsulante se forma por secado por pulverización. El segundo encapsulante es un recubrimiento de perla de cera de colza hidrogenada.

Las partículas secadas por pulverización de aceite de alga en una matriz de azúcar-proteína, preparadas de acuerdo con el procedimiento descrito en general en la patente europea EP 1 616 486, titulada Powdered Compositions Containing an Edible Oil and Their Use in Food Products, con un tamaño medio de 78 µm se perlaron en cera de colza hidrogenada (Stable Flake- CN, Cargill). Este material se perló en una concentración del 33 % (un tercio en peso partículas secadas por pulverización con dos terceras partes en peso de aceite de colza) con buenos resultados. El producto resultante presentó un tamaño medio de partícula de 157 micrómetros.

Ejemplo 2

Este ejemplo ilustra la producción de un producto de la presente invención en el que el primer encapsulante de la composición que comprende el compuesto lábil es un hidrolizado de biomasa. El segundo encapsulante es un recubrimiento de perla de cera de colza hidrogenada.

Se añadieron 907 g (dos libras) de polvo hidrolizado de biomasa seco que contenía un 22 % de DHA a grasa de colza hidrogenada, molida, (Stable Flake - CN, Cargill) a 100 °C para preparar una disolución molida que contenía un 25 % de hidrolizado de biomasa (5,5% de DHA) a 80 °C. El polvo de hidrolizado de biomasa se produjo de acuerdo con el procedimiento descrito en general en la solicitud de patente de EE. UU. número de serie 11/433,752, presentada el 12 de mayo de 2006, titulada Biomass Hydrolysate and Uses and Production Thereof.

Se atomizó la disolución resultante usando aire comprimido a 154 °C y 310 kPa (45 psi) en una torre de perlado usando aire ambiental como el aire de enfriamiento. Se recogió el polvo y se analizó el tamaño de partícula, la

solubilidad y el perfil sensorial. El tamaño de partícula del polvo hidrolizado original fue 70,5 micrómetros. El tamaño de partícula promedio de las perlas fue 82,9 micrómetros. Se encontró que el polvo era principalmente insoluble en agua con un aroma agradable y un perfil sensorial aceptable, mejorados.

- 5 La descripción anterior de la presente invención se ha presentado para fines de ilustración y descripción. Además, la descripción no está destinada a limitar la invención a la forma descrita en la presente memoria. Por consiguiente, las variaciones y modificaciones acordes con las explicaciones anteriores, y la habilidad o el conocimiento de la técnica relevante, están dentro del alcance de la presente invención. La realización descrita anteriormente se destina además a explicar el mejor modo conocido para llevar a la práctica la invención y permitir a otros expertos en la materia utilizar la invención en dichas, u otras, realizaciones y con diversas modificaciones requeridas por las
- 10 aplicaciones o los usos particulares de la presente invención. Se pretende que se interprete que las reivindicaciones adjuntas incluyen realizaciones alternativas en la extensión permitida por la técnica anterior.

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar un producto que comprende:
 - 5 encapsular un primer producto encapsulado en presencia de una fuente de aminoácidos y un azúcar reductor para formar un segundo producto encapsulado, por lo cual se forman productos de la reacción de Maillard y en donde el primer producto encapsulado comprende un encapsulante de un compuesto lábil.
 2. El método según la reivindicación 1, en donde el compuesto lábil comprende un ácido graso poliinsaturado de una fuente seleccionada del grupo que consiste en una planta, una semilla oleaginosa, un microorganismo, un animal y mezclas de lo anterior.
 3. El método según la reivindicación 1, en donde el compuesto lábil comprende un ácido graso poliinsaturado seleccionado del grupo que consiste en: ácido docosahexaenoico, ácido omega-3 docosapentaenoico, ácido omega-6 docosapentaenoico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico, ácido estearidónico, ácido linolénico, ácido alfa-linolénico (ALA), ácido gamma-linolénico (GLA), ácido linolénico conjugado (CLA) y mezclas de los mismos.
 4. El método según la reivindicación 1, en donde el primer producto encapsulado se selecciona del grupo que consiste en una célula completa, una biomasa, un hidrolizado de biomasa, una semilla oleaginosa y un compuesto lábil aislado encapsulado.
 5. El método según la reivindicación 1, que comprende además tratar el segundo producto encapsulado en una forma de partículas.
 6. El método según la reivindicación 1, en donde
 - 20 la fuente de aminoácidos se selecciona del grupo que consiste en: caseína, sólidos de suero, aislado de proteína de suero, proteína de soja, proteína de soja hidrolizada, leche en polvo desnatada, caseína hidrolizada, proteína de suero hidrolizada, sólidos de leche desnatada, gelatina y albúmina o
 - el azúcar reductor se selecciona del grupo que consiste en: fructosa, glucosa, gliceraldehído, lactosa, arabinosa y maltosa.
 7. El método según la reivindicación 1, en donde el primer producto encapsulado se forma por un método que comprende:
 - a) emulsionar una dispersión acuosa de un ácido graso poliinsaturado, proteína y azúcar reductor para formar una emulsión y
 - b) secar la emulsión para formar el primer producto encapsulado.
 8. El método según la reivindicación 1, en donde encapsular el primer producto encapsulado comprende:
 - 30 poner en contacto el primer producto encapsulado con un material perlado,
 - pulverizar la mezcla del primer producto encapsulado con un material perlado en gotitas y
 - enfriar las gotitas por debajo del punto de fusión del material perlado para formar el segundo producto encapsulado.
 9. El método según la reivindicación 8, en donde el material perlado es aceite vegetal hidrogenado y en donde la etapa de poner en contacto el primer producto encapsulado con el material perlado se lleva a cabo durante entre aproximadamente 1 minuto y aproximadamente 15 minutos, entre 80 °C y 100 °C.

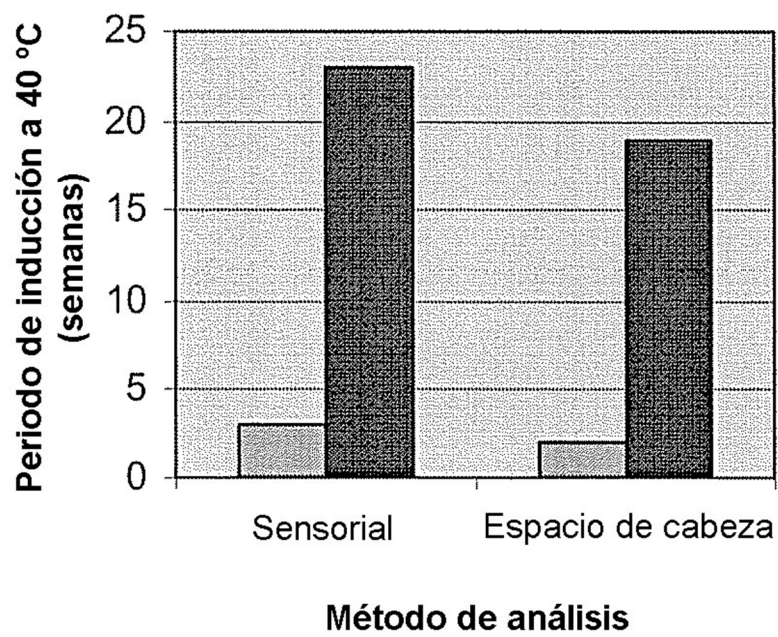


Figura 1