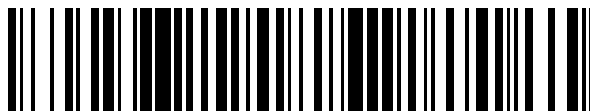


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 728 088**

21 Número de solicitud: 201830383

51 Int. Cl.:

C12N 1/12 (2006.01)

C12N 1/06 (2006.01)

A23L 33/115 (2006.01)

A23L 33/195 (2006.01)

A23L 17/60 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

19.04.2018

43 Fecha de publicación de la solicitud:

22.10.2019

71 Solicitantes:

**NEOALGAE MICRO SEAWEEDES PRODUCTS, S.L.
(100.0%)
C/ Fernando Morán Lavandera, Nº6 - Bajo 1
33205 GIJON (Asturias) ES**

72 Inventor/es:

CASADO BAÑARES, Víctor

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

54 Título: **PROCEDIMIENTO DE MICROENCAPSULACIÓN DE ACEITES EN MICROORGANISMOS,
PRODUCTO OBTENIDO POR ESE PROCEDIMIENTO Y USOS DEL MISMO**

57 Resumen:

Procedimiento de microencapsulación de aceites en microorganismos, producto obtenido por ese procedimiento y usos del mismo.

La presente invención se refiere a un procedimiento de microencapsulación de aceites en microorganismos seleccionados entre: microalgas o cianobacterias, al producto obtenido de ese procedimiento y a los usos dados a dicho producto.

ES 2 728 088 A1

DESCRIPCIÓN

PROCEDIMIENTO DE MICROENCAPSULACIÓN DE ACEITES EN MICROORGANISMOS,
PRODUCTO OBTENIDO POR ESE PROCEDIMIENTO Y USOS DEL MISMO

5

La presente invención se refiere a un procedimiento de microencapsulación de aceites en microorganismos seleccionados entre: microalgas o cianobacterias, al producto obtenido de ese procedimiento y a los usos dados a dicho producto.

10 **Antecedentes de la invención**

Las microalgas son utilizadas en alimentación y cosmética generalmente en forma de polvo, este formato facilita su conservación, su encapsulación, su distribución y su adición en diferentes fórmulas. Es conocido que las microalgas tienen compuestos bioactivos de interés comercial, sin embargo, es interesante incorporar otros ingredientes en la misma fórmula sin que se modifiquen sus características físicas como, por ejemplo: la humedad o su forma en polvo.

La solicitud de patente con número de solicitud WO2016059262 describe un procedimiento de enriquecimiento de microalgas con ácidos grasos polinsaturados. Dicho procedimiento no presenta ninguna etapa de ruptura de las membranas externas de la microalga y para lograr buenos resultados es necesario estabilizar el aceite en la célula viva utilizando emulgentes o etanol.

Por lo que se conoce en el estado de la técnica es necesario nuevos procedimientos que establezcan principios activos en microorganismos seleccionados entre microalgas y cianobacterias.

Descripción de la invención

30

La presente invención se refiere a un procedimiento que recubre un aceite con microorganismos seleccionados entre: microalgas o cianobacterias.

Una ventaja de la presente invención es que no utiliza ningún emulsionante o gelificante para que el aceite se incorpore en los microorganismos. Además, no es necesario un ingrediente adicional de recubrimiento del aceite que se pretende utilizar porque son los

microorganismos: microalgas o cianobacterias, los que actúan como recubrimiento.

Con este proceso los microorganismos pueden ser enriquecidos con aceites de otras fuentes diferentes a los propios de los microorganismos, para aportarles mayor valor
5 añadido sin que dejen de ser un sólido fácilmente manejable.

El aceite se incorpora en los microorganismos de manera que éstos engloban al aceite y no se pierde éste durante su procesado. En el procedimiento de la invención se modifica la estructura celular del microorganismo seleccionado entre microalgas y/o cianobacterias para
10 dar lugar a una matriz heterogénea con el aceite embebido.

Por lo tanto, un primer aspecto de la invención se refiere a un procedimiento de microencapsulación de aceite en microorganismos seleccionados entre: microalgas o cianobacterias que comprende los pasos de:

- 15 a) adicionar un aceite a microalgas o cianobacterias;
b) romper de la envoltura celular: pared celular y/o membrana plasmática del microorganismo;
c) deshidratar el producto obtenido en la etapa b).

20 En la presente invención el término “microencapsulación” se refiere a recubrir un aceite con una envoltura de microorganismos, envoltura que es resistente y estable e inmiscible con el aceite, aunque adherente al mismo y que sólo se altera liberando su contenido en determinados medios como por ejemplo el propio del tracto intestinal.

25 En la presente descripción el término “microalga” se refiere a un microorganismo eucariota unicelular fotosintético que viven tanto en aguas dulces como saladas, que convierten el agua y la luz solar en dióxido de carbono y biomasa.

En la presente descripción el término “cianobacteria” se refiere a un microorganismo
30 procarionta unicelular fotosintético que viven tanto en aguas dulces como saladas, que convierten el agua y la luz solar en dióxido de carbono y biomasa.

Un segundo aspecto de la descripción se refiere a un producto obtenido por el procedimiento de la invención.

35

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del producto de la invención como un suplemento alimenticio, una composición farmacéutica y/o una composición cosmética.

5 Por último, otro aspecto de la invención se refiere a una cápsula que comprende el producto de la invención.

Descripción detallada de la invención

10 Como se ha dicho más arriba el primer aspecto de la invención se refiere un procedimiento de incorporación de aceite en microorganismos seleccionados entre: microalgas o cianobacterias que comprende los pasos de:

- a) adicionar aceite a microalgas o cianobacterias;
- b) romper de la envoltura celular: pared celular y/o membrana plasmática del microorganismo;
- 15 c) deshidratar el producto obtenido en la etapa b).

De manera ventajosa al no estar vivos los microorganismos las condiciones del medio donde se encuentran los microorganismos son poco exigentes y pueden ser muy variables. De manera preferente los microorganismos se encuentran en un medio acuoso. Por lo tanto, de manera preferente en la etapa a) se adiciona aceite a microalgas o cianobacterias en un medio, particularmente en un medio acuoso.

20

De manera preferente en el procedimiento de la invención la adición de la etapa a) se realiza en presencia de agua. Cuando la etapa a) se realiza en agua la concentración del microorganismo está comprendida entre un 1% y el 500% p/p_T y la concentración del aceite está comprendida entre el 1% y el 500% p/p con respecto al peso del microorganismo. Más preferentemente la etapa a) se realiza en agua la concentración del microorganismo está comprendida entre un 1% y el 10% p/p_T y la concentración del aceite está comprendida entre el 1% y el 10% p/p con respecto al peso del microorganismo.

25

30 Preferentemente la etapa b) de ruptura de la envoltura celular se realiza por emulsión mediante la agitación de los microorganismos con el aceite. Preferentemente en el procedimiento de la invención los microorganismos no están vivos. Al no estar vivos los tiempos de agitación en la etapa de emulsión en la presente invención son muy cortos preferentemente comprendidos entre los 5 minutos y los 70 minutos, más preferentemente entre 5 y 20 minutos; tampoco es necesario la incorporación de una fuente lumínica que

35

mantengan vivos los microorganismos. De manera preferente la etapa de emulsión se realiza en un rango de temperaturas comprendido entre los 20° y los 100°C. Más preferentemente el rango de temperaturas está comprendido entre 25°C y 30°C.

5 Como se ha dicho antes el presente procedimiento se lleva a cabo sin emulgentes. También se lleva a cabo sin disolventes del aceite. El aceite se añade directamente sin necesidad de añadir un emulgente, el aceite se emulsiona mediante agitación y por los propios componentes de los microorganismos. Es el propio proceso el que permite la inclusión del aceite en el microorganismo.

10

Más preferentemente la etapa b) de ruptura de la envoltura celular se realiza por emulsión mediante la agitación de los microorganismos con el aceite y una homogeinización del resultado de la emulsión mediante presión, por ultrasonidos, congelación, con modificación del pH mediante ácidos o bases, o con modificación de la osmolaridad.

15

De manera preferente la etapa de homogeneización se realiza a presión en un rango preferente comprendido entre 1 bar y 5000 bares. Más preferentemente se realiza en un rango comprendido entre 500 bares y 2000 bares.

20

De manera preferente la etapa de homogeneización se realiza mediante ultrasonidos. Más preferentemente en un rango comprendido entre los 1 Khz a 100 Khz y a una potencia en un rango comprendido entre 10 W a 2000 W durante 20minutos a 120 minutos. Más preferentemente en un rango comprendido entre los 40 Khz a 60 Khz y a una potencia en un rango comprendido entre 800 W a 1200 W durante 40minutos a 80 minutos.

25

De manera preferente la etapa de homogeneización se realiza mediante congelación. Más preferentemente en un rango comprendido entre lo -1°C y los -100°C. Preferentemente se realizan entren 2 y 4 ciclos.

30

De manera preferente la etapa de homogeinización se realiza modificando el pH con ácidos o bases. Más preferentemente con ácido sulfúrico, clorhídrico y otros ácidos o con bases como hidróxido sódico, hidróxido potásico y otras bases.

35

De manera preferente la etapa de homogeneización se realiza modificando la osmolaridad, preferentemente con un tampón salino. Más preferentemente con tampón fosfato sódico de 1 a 100 mM.

De manera preferente la etapa c) de deshidratación se realiza mediante liofilización, secado por pulverización, secado a vacío o en horno.

5 De manera preferente tras la etapa c) se muele el producto de la etapa c) para formar un producto en polvo.

10 Una de las ventajas de obtener el producto en polvo con el aceite incorporado es que los aceites en líquido requieren una técnica para formar cápsulas más complicadas que cápsulas de polvo seco.

De forma preferente son preferidas las microalgas del género *Porphyridium*, *Chlorella*, *Tetraselmis* y *Nannochloropsis*.

15 De forma preferente son preferidas la cianobacteria del género *Arthrospira*.

20 Cuando en la presente descripción se habla de aceite se refiere a aceites vegetales, aceites de frutas, aceites de plantas, aceites de pescados, o aceites de algas o microalgas. Dichos aceites comprenden ácidos grasos, preferentemente: ácidos grasos de omega-3, DHA y EPA; vitaminas, fosfolípidos, fitoesteroles, aminoácidos, carotenoides como licopeno, luteína, astaxantina y otros antioxidantes. De manera preferente el aceite es un aceite extraído de *Haematococcus pluvialis* con un porcentaje en astaxantina comprendido entre el 3% y el 10% y el aceite extraído de *Schizochytrium* rico en DHA. De manera preferente el aceite es un aceite vegetal de chía y lino ricos en omega3.

25 De manera preferente el producto se refiere a un producto en polvo que se obtiene por el procedimiento que comprende tras la etapa c) la etapa de molido del producto de la etapa c). De manera preferente la invención se refiere a una cápsula que comprende el polvo descrito.

30 De manera preferente el producto contiene aceite en un rango comprendido entre 15% p/p_T y un 30% p/p_T de aceite. Más preferentemente entre un 20% p/p_T y un 25% p/p_T.

De manera preferente la invención se refiere al uso de producto de la invención como un suplemento alimenticio.

35

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Se incorporó en un reactor con agitación 800 gramos de *Arthrospira platensis* en 6000
5 mililitros de agua destilada a temperatura ambiente. Tras 20 minutos se introdujo 200 ml de
aceite de *Haematococcus pluvialis* manteniendo la agitación hasta conseguir una emulsión.
Esta mezcla se mantuvo con agitación mientras se hizo pasar por un homogeneizador a
1500 bar y se recogió en bandejas. Seguidamente se congelaron las bandejas a -40°C y se
secaron por liofilización.
10 Una vez secado el producto se molió y se incorporó el polvo generado en cápsulas.

Ejemplo 2

1000 gramos de *Arthrospira platensis* en 10000 mililitros de agua destilada a temperatura
ambiente. Tras 20 minutos se introdujo 100 ml de aceite de *Haematococcus pluvialis*. Esta
15 mezcla se mantuvo con agitación mientras se hizo pasar por un homogeneizador a 500 bar
y se recogió en bandejas. Seguidamente se secaron por aspersion en spray dryer
Una vez secado el producto se molió y se incorporó el polvo generado en cápsulas.

Ejemplo 3

20 1000 gramos de *Arthrospira platensis* en 10000 mililitros de agua destilada a temperatura
ambiente. Tras 20 minutos se introdujo 100 ml de aceite de *Haematococcus pluvialis* Esta
mezcla se mantuvo con agitación y se recogió en bandejas. Seguidamente se congelaron
las bandejas a -40°C y se secaron por liofilización.
Una vez secado el producto se molió y se incorporó el polvo generado en cápsulas.

25

Ejemplo 4

1000 gramos de *Arthrospira platensis* en 3000 mililitros de agua destilada a temperatura
ambiente. Tras 60 minutos se introdujo 300 ml de aceite de *Haematococcus pluvialis* Esta
mezcla se mantuvo con agitación mientras se hizo pasar por un homogeneizador a 1500 bar
30 y se recogió en bandejas. Seguidamente se congelaron las bandejas a -40°C y se secaron
por liofilización.
Una vez secado el producto se molió y se incorporó el polvo generado en cápsulas

Ejemplo 5

35 1000 gramos de *Arthrospira platensis* en 10000 mililitros de agua destilada a temperatura
ambiente. Tras 100 minutos se introdujo 100 ml de aceite de *Haematococcus pluvialis*. Esta

mezcla se congeló a -40°C y se descongeló a 4°C y se recogió en bandejas. Seguidamente se congelaron las bandejas a -40°C y se secaron por liofilización.

Una vez secado el producto se molió y se incorporó el polvo generado en cápsulas

5 Ejemplo 6

1000 gramos de *Arthrospira platensis* en 10000 mililitros de agua destilada a temperatura ambiente. Tras 100 minutos se introdujo 100 ml de aceite de *Haematococcus pluvialis*. Esta mezcla se mantuvo con agitación mientras se aplicó ultrasonidos a 50 Khz y 700W durante 0 minutos y se recogió en bandejas. Seguidamente se congelaron las bandejas a -40°C y se secaron por liofilización.

10

Una vez secado el producto se molió y se incorporó el polvo generado en cápsulas

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de microencapsulación de aceite en microorganismos seleccionados entre: microalgas o cianobacterias que comprende los pasos de:
- 5 a) adicionar un aceite a microalgas o cianobacterias;
- b) romper de la envoltura celular: pared celular y/o membrana plasmática del microorganismo;
- c) deshidratar el producto obtenido en la etapa b).
- 10 2. Procedimiento según la reivindicación 1 caracterizado porque en la etapa a) se adiciona el aceite a las microalgas o cianobacterias en un medio acuoso.
3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 caracterizado porque la etapa b) de ruptura de la envoltura celular se realiza por emulsión mediante la agitación de
- 15 los microorganismos con el aceite.
4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 caracterizado porque la etapa b) de ruptura de la envoltura celular se realiza por emulsión mediante la agitación de los microorganismos con el aceite y una homogeinización del resultado de la emulsión
- 20 mediante presión, por ultrasonidos, congelación, con modificación del pH mediante ácidos o bases, o con modificación de la osmolaridad.
5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 caracterizado porque la etapa c) de deshidratación se realiza mediante liofilización, secado por pulverización,
- 25 secado a vacío o en horno.
6. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 caracterizado porque tras la etapa c) se muele el producto de la etapa c) para formar un producto en polvo.
- 30 7. Producto obtenido por el procedimiento definido en las reivindicaciones 1 a 6.
8. Producto obtenido por el procedimiento de la reivindicación 6.
9. Capsula que comprende el polvo definido en la reivindicación 8.

10. Uso del producto según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9 como suplemento alimenticio.



- ②① N.º solicitud: 201830383
②② Fecha de presentación de la solicitud: 19.04.2018
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	US 2010303989 A1 (BROOKS GEOFFREY et al.) 02/12/2010, párrafos 10, 11, 15, 74, 87, 98, 147, 167, 168, 170, 171, 173, 200, 239; Ejemplo 13, reivindicaciones 1, 4, 49, 51 y 52.	7-10
Y		1-6
Y	WO 2016059262 A1 (UNIV SANTIAGO COMPOSTELA et al.) 21/04/2016, Página 12, líneas 20-28; página 14, líneas 4-1; reivindicación 1.	1-6
Y	US 2018000137 A1 (PASSE DAMIEN) 04/01/2018, Párrafos 15-35, 48-53, 67-71, 83-88; reivindicación 1.	1-6
A	US 2006233845 A1 (LUKOWSKI GEROLD et al.) 19/10/2006, Párrafos 18-21; ejemplo 3.	1
A	VANDERGHEYNST, J. et al. Storage and release of solutes and microalgae from Water-in oil emulsions stabilized by silica nanoparticles. Process Biochemistry, 2010, Vol. 45, páginas 1-6.	1
A	ZHANG, X & QI et al. Microencapsulation of flaxseed oil using Spirulina as main wall material. Journal of Food Science and Biotechnology, 2017, vol. 36. 343-351. 10.3969/j.issn.1673-1689.2017.04.002, páginas 343-351.	1

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
17.10.2018

Examinador
A. I. Polo Díez

Página
1/2

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C12N1/12 (2006.01)

C12N1/06 (2006.01)

A23L33/115 (2016.01)

A23L33/195 (2016.01)

A23L17/60 (2016.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12N, A23L

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, BD-TXTE, FSTA, INTERNET