

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 733 873**

51 Int. Cl.:

|                    |                              |           |
|--------------------|------------------------------|-----------|
| <b>A61K 9/16</b>   | (2006.01) <b>A23K 20/195</b> | (2006.01) |
| <b>A61K 9/50</b>   | (2006.01)                    |           |
| <b>A61K 47/36</b>  | (2006.01)                    |           |
| <b>A61K 47/38</b>  | (2006.01)                    |           |
| <b>A23K 40/10</b>  | (2006.01)                    |           |
| <b>A23K 40/30</b>  | (2006.01)                    |           |
| <b>A23K 10/18</b>  | (2006.01)                    |           |
| <b>A23K 20/179</b> | (2006.01)                    |           |
| <b>A23K 20/163</b> | (2006.01)                    |           |
| <b>A23K 20/189</b> | (2006.01)                    |           |

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.07.2008 PCT/FR2008/001069**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **09.04.2009 WO09043988**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2008 E 08836060 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2019 EP 2173189**

54 Título: **Composiciones pulverulentas estables y procedimiento de preparación de las mismas**

30 Prioridad:

**20.07.2007 FR 0705307**

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

**03.12.2019**

73 Titular/es:

**INNOV'IA (100.0%)  
4, Rue Samuel Champlain, Zone Agrocéan, Chef  
de Baie  
17000 La Rochelle, FR**

72 Inventor/es:

**BUISSON, PIERRE**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 733 873 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 pulverulentas estables y procedimiento de preparación de las mismas

La invención se refiere a un nuevo procedimiento de preparación de composiciones pulverulentas estables. En particular, la invención se refiere a un nuevo procedimiento de preparación de composiciones pulverulentas que comprenden una sustancia sensible, especialmente a la temperatura y/o a la presión y/o a la humedad relativa.

Las sustancias sensibles son con frecuencia sustancias activas utilizadas en farmacología o en composiciones utilizadas en diferentes campos, tales como la alimentación humana o animal, los detergentes, etc. A modo de ejemplo, se pueden mencionar proteínas, en particular enzimas, vitaminas, bacterias, levaduras, antioxidantes, carotenoides, aceites esenciales o sustancias farmacológicamente activas tales como los antibióticos.

Sin embargo, durante la preparación de estas composiciones y en particular durante las operaciones de granulación, las sustancias se someten a numerosas restricciones. De hecho, la principal característica de las máquinas que realizan estas operaciones es forzar a los materiales que constituyen la composición final a pasar a través de una matriz con perforaciones de diferentes tamaños, creando así una cizalla significativa que conduce a un aumento de la temperatura del material del núcleo. Además, para facilitar este pasaje, se lleva a cabo clásicamente un precalentamiento del material y también se agrega vapor de agua para proporcionar una cohesión. Estas diferentes restricciones de temperatura, presión y humedad pueden ser perjudiciales para las sustancias sensibles, que pueden perder parte de su actividad durante estas operaciones.

Para resolver estos problemas, se han propuesto diferentes soluciones en el pasado.

Por lo tanto, la patente EP 0 569 468 propone un método de preparación de gránulos que contienen una o más enzimas destinadas a la alimentación animal y que están recubiertas con una grasa o una cera que presenta un punto de fusión elevado, para aumentar la resistencia a las condiciones de granulación. Sin embargo, tal recubrimiento tiene la desventaja de causar un tiempo de disolución largo de los gránulos, lo que disminuye la biodisponibilidad de las enzimas para el animal.

En forma similar, la solicitud WO 00/47060 describe un procedimiento de preparación de gránulos que contienen una o más enzimas recubiertas con polietilenglicol. Este recubrimiento permite aumentar la estabilidad de las enzimas durante una etapa de granulación, pero solo en presencia de aditivos como las sales inorgánicas hidrosolubles (por ejemplo,  $\text{ZnSO}_4$ ) o, si no, trehalosa. Estos aditivos no representan necesariamente un interés para el uso previsto de estos gránulos y no hacen más que aumentar el coste.

También se ha desarrollado en la solicitud WO 03/059087 un método para preparar gránulos que contienen una o más enzimas recubiertas con una poliolefina, especialmente para uso en el campo de la alimentación animal. El recubrimiento utilizado permite entonces aumentar la estabilidad de la o las enzimas durante las etapas de granulación en particular. Sin embargo, esto requiere el uso de derivados poliméricos que no son necesarios para la alimentación del animal y que aumentan el coste de fabricación de los gránulos.

La solicitud WO 2005/074707 describe formulaciones estabilizadas de fosfatasa, el agente estabilizante seleccionado exclusivamente de agar-agar, alginato, carragenina, furcelerano, goma ghatti, goma tragacanto, goma karya, goma de guaraná, goma de algarrobo, goma de tamarindo, arabinogalactano y goma xantano. Estas formulaciones pueden recubrirse con polímeros seleccionados en particular de derivados celulósicos que tienen un peso molecular comprendido entre 6000 y 80000. Esta solicitud no dice nada sobre la viscosidad de los productos utilizados.

La solicitud EP 0600775 describe ingredientes activos estabilizados recubiertos. La composición de recubrimiento que comprende un agente formador de película que puede ser especialmente un derivado celulósico tal como acetato de celulosa, etilcelulosa o metilcelulosa y un agente porógeno que permite la destrucción rápida de dicha composición de recubrimiento al constituir puntos de acceso preferencial a los fluidos biológicos.

La solicitud WO 03/059086 describe una formulación de gránulos y su modo de preparación. Sin embargo, no se proporciona información sobre la viscosidad de los productos utilizados.

Por lo tanto, uno de los aspectos de la invención es proporcionar un nuevo procedimiento de preparación de composiciones pulverulentas que contengan al menos una sustancia sensible que pueda soportar condiciones de temperaturas, presiones y humedad relativa elevadas y que sea estable durante el transporte y almacenamiento, este método es fácil de implementar y barato.

La presente invención se refiere más particularmente al uso de al menos un compuesto viscoso, cuya viscosidad es superior a 5 Pa.s, para prevenir sustancialmente la degradación de una sustancia sensible contenida en una composición pulverulenta estable, donde dicha sustancia sensible experimenta menos del 20 % de degradación cuando dicha composición pulverulenta estable se somete a temperaturas de 60 °C a 100 °C y/o presiones de  $2 \cdot 10^6$  a  $10^7$  Pa y/o a una humedad relativa del 60 % al 100 % durante la etapa de granulación de dicha composición, donde dicha composición pulverulenta contiene partículas que comprenden:

- un núcleo que contiene dicha sustancia sensible y al menos un compuesto viscoso como agente de impregnación de la sustancia sensible, y al menos un soporte de la sustancia sensible, y

- un recubrimiento del núcleo, cuyo recubrimiento contiene al menos un compuesto viscoso como agente de adherencia,

5 seleccionando dichos compuestos viscosos de carboximetilcelulosa (CMC).

Los compuestos viscosos utilizados en la presente invención tienen la ventaja de ser casi hidrófobos cuando se someten a altas presiones, que son del orden de  $10^6$  a  $10^7$  Pa, pero recuperan todas sus propiedades de solubilidad cuando se vuelven a poner en solución. Esto permite proteger así las sustancias sensibles durante la preparación de los gránulos mediante una etapa de granulación y al mismo tiempo garantiza una buena biodisponibilidad de las sustancias sensibles gracias a los cortos tiempos de disolución de las partículas de la composición pulverulenta. En particular, cuando las composiciones pulverulentas están destinadas a la alimentación animal, la sustancia sensible, que también es el principio activo, se liberará directamente en el tracto digestivo del animal.

Por "granulación" se entiende una etapa que permite la preparación de gránulos en forma de cilindros de 1 a 10 mm de diámetro y de 1 a 5 cm de longitud por paso en una matriz. Esta etapa se caracteriza por restricciones de temperatura y presión elevadas y de cizallamiento, así como por la presencia de vapor de agua, donde estas restricciones pueden deteriorar las sustancias sensibles.

Las mediciones de viscosidad se realizan utilizando un viscosímetro BROOKFIELD modelo LVDV-E equipado con un sistema de cilindro coaxial, utilizando los móviles números 18 o 31 según las viscosidades, en una cámara de medición a temperatura controlada con ayuda de un baño termostático. Estas mediciones se llevan a cabo a 20 °C para soluciones acuosas con 10 % de extracto seco del compuesto viscoso, a diferentes velocidades de rotación de los móviles de 10 a 100 rpm. Los valores de viscosidad deducidos son los valores obtenidos a las velocidades de rotación más altas al integrar los valores límite del par de torsión (80 % máximo) del aparato.

De acuerdo con la presente invención, el compuesto viscoso es carboximetilcelulosa (CMC). Este compuesto proporciona protección a la sustancia sensible en condiciones de calor y de presión, lo que la hace casi insoluble mientras se vuelve a disolver, se hidrata y vuelve a estar biodisponible.

Por "sustancia sensible" se entiende cualquier sustancia que sea susceptible de perder una parte o toda su actividad cuando se someta a temperaturas y/o presiones y/o humedad relativa elevadas. Estas restricciones pueden encontrarse especialmente durante la preparación de composiciones que contienen dicha sustancia, y más particularmente durante las etapas de granulación. Esta sustancia puede ser en particular una mezcla de sustancias sensibles.

Por "degradación" se entiende cualquier transformación de dicha sustancia sensible que resulte en una pérdida de actividad, ya sea parcial o total, ya sea al desnaturalizar dicha sustancia o al cambiar las proporciones en una composición que contenga varias sustancias, siendo algunas particularmente volátiles (por ejemplo, en el caso de un aceite esencial).

La sustancia sensible puede elegirse en particular de proteínas, en particular enzimas, vitaminas, bacterias, levaduras, antioxidantes, carotenoides, aceites esenciales o sustancias farmacológicamente activas, como los antibióticos.

A modo de ejemplo, se pueden mencionar para las enzimas, la superoxidismutasa, para las vitaminas, la riboflavina o el ácido ascórbico, para las bacterias, el lactobacilo, para las levaduras, el *Saccharomyces cerevisiae*, para los antioxidantes, los polifenoles o la vitamina E, para los carotenoides, la luteína, la astaxantina, el licopeno, la xantofila o los carotenos, para los aceites esenciales naturales, los derivados del ajo, tomillo o romero, y para los antibióticos, la ramoxiclina o la tilosina.

Esta sustancia sensible se puede usar en particular en el campo de la alimentación animal o humana, en el campo farmacéutico o veterinario, en el campo de los detergentes, productos de limpieza y lavado, en particular de la ropa.

Por "composición pulverulenta" se designan polvos que tienen partículas que presentan una granulometría media de 30 a 3000  $\mu\text{m}$  en promedio.

Las partículas de la composición pulverulenta comprenden dos partes distintas: un núcleo y un recubrimiento de este núcleo que forman una película protectora. El núcleo consiste en la sustancia sensible y al menos un compuesto viscoso que sirve como agente de impregnación. El recubrimiento, por otro lado, contiene al menos un compuesto viscoso que sirve como agente de adherencia. Por lo tanto, el compuesto viscoso interviene en dos niveles, ya que está presente tanto en el núcleo como en el recubrimiento. Es posible utilizar dos compuestos viscosos diferentes, uno contenido en el núcleo y otro en el recubrimiento.

El compuesto viscoso utilizado como agente de impregnación permite asegurar una mezcla homogénea sin desmezclar los elementos constituyentes de la composición mientras se unen todos los granos entre sí.

- El compuesto viscoso utilizado como agente de adherencia hace posible lograr la protección definitiva. Así, durante una etapa de granulación, proporciona, por un lado, una protección contra las condiciones de humedad y temperatura elevadas encontradas durante el calentamiento de la composición con vapor de agua cuando se mezcla con el alimento y, por otro lado, una protección contra las condiciones de presión evada y las condiciones de cizallamiento encontradas durante el pasaje por la matriz.
- El núcleo de las partículas de dicha composición pulverulenta contiene al menos un soporte de dicha sustancia sensible.
- De hecho, el soporte por su naturaleza absorbente es un material elegido para estar ya en estado seco. Protege la sustancia sensible al estabilizar la actividad del agua cuando el soporte está en contacto con la sustancia sensible en forma líquida, pulverizada durante las fases de secado.
- Este soporte puede ser en particular almidón, harinas, especialmente de trigo, de maíz, de mandioca o de arroz, talco, pulpa de remolacha, maltodextrina, sales tales como carbonato de calcio o cuajada de maíz.
- De acuerdo con la invención, el agente de impregnación y el agente de adherencia son idénticos.
- El compuesto viscoso, sin embargo, tiene funciones muy diferentes si se usa como agente de impregnación o como agente de adherencia, como ya se dijo anteriormente, incluso si se trata del mismo compuesto.
- Según la invención, el agente de impregnación y el agente de adherencia consisten en carboximetilcelulosa (CMC).
- En una realización particular, la sustancia sensible representa del 5 al 40 %, preferiblemente del 10 al 30 % de extracto seco de la composición pulverulenta, el soporte representa del 10 al 60 %, preferiblemente del 20 al 50 % del extracto seco de la composición pulverulenta, el agente de impregnación representa del 5 al 40 %, preferiblemente del 10 al 30 % del extracto seco de la composición pulverulenta, y el agente de adherencia representa del 5 al 30 %, preferiblemente del 10 al 20 % de extracto seco de la composición pulverulenta.
- En otra realización particular, la sustancia sensible está constituida por una mezcla de enzimas que consta principalmente de  $\beta$ -glucanasa, xilanasas y celulasas, el soporte está constituido por harina de trigo, el agente de impregnación y el agente de adherencia consisten en carboximetilcelulosa (CMC).
- La presente invención también se refiere a una composición pulverulenta estable que contiene partículas que comprende:
- un núcleo que contiene al menos una sustancia sensible que sufre una degradación inferior al 20 % cuando dicha composición pulverulenta estable se somete a temperaturas de 60 °C a 100 °C y/o a presiones de  $2 \cdot 10^6$  a  $10^7$  Pa y/o a una humedad relativa del 60 % al 100 % durante la etapa de granulación de dicha composición, al menos un compuesto viscoso cuya viscosidad es superior a 5 Pa.s como agente de impregnación para la sustancia sensible y al menos un soporte de la sustancia sensible, y
  - un recubrimiento del núcleo, cuyo recubrimiento contiene al menos un compuesto viscoso cuya viscosidad es superior a 5 Pa.s como agente de adherencia,
- en donde la sustancia sensible no es una enzima para alimentar animales no humanos, estando seleccionados dichos compuestos viscosos de carboximetilcelulosa (CMC).
- Por "composición pulverulenta estable" se designan composiciones en las cuales la sustancia sensible sufre menos del 20 % de degradación cuando dicha composición pulverulenta se somete a temperaturas de 60 °C a 100 °C y/o a presiones de  $2 \cdot 10^6$  a  $10^7$  Pa y/o a una humedad relativa del 60 % al 100 %.
- La sustancia sensible se puede elegir especialmente entre proteínas, vitaminas, bacterias, levaduras, antioxidantes, carotenoides, aceites esenciales o sustancias farmacológicamente activas como los antibióticos.
- El núcleo contiene al menos un soporte de la sustancia sensible.
- Este soporte puede elegirse en particular entre almidón, harinas, especialmente de trigo, de maíz, de mandioca o de arroz, talco, pulpa de remolacha, maltodextrina, sales como el carbonato de calcio o cuajada de maíz.
- En una realización particular, la composición pulverulenta está constituida: del 5 al 40 %, preferiblemente del 10 al 30 % de extracto seco de una sustancia sensible, del 10 al 60 %, preferiblemente del 20 al 50 % de extracto seco de un soporte, del 5 al 40 %, preferiblemente del 10 al 30 % de extracto seco de un agente de impregnación y del 5 al 30 %, preferiblemente del 10 al 20 % de extracto seco de un agente de adherencia.
- La presente invención también se refiere a un procedimiento de preparación de una composición pulverulenta estable que contiene partículas que comprende:
- un núcleo que contiene al menos una sustancia sensible que sufre una degradación inferior al 20 % cuando dicha

composición pulverulenta estable se somete a temperaturas de 60 °C a 100 °C y/o a presiones de  $2 \cdot 10^6$  a  $10^7$  Pa y/o a una humedad relativa del 60 % al 100 % durante la etapa de granulación de dicha composición, al menos un compuesto viscoso cuya viscosidad es superior a 5 Pa.s como agente de impregnación de la sustancia sensible y al menos un soporte la sustancia sensible, y

- 5 - un recubrimiento del núcleo, cuyo recubrimiento contiene al menos un compuesto viscoso cuya viscosidad es superior a 5 Pa.s como agente de adherencia,

donde dichos compuestos viscosos se seleccionan de carboximetilcelulosa (CMC),

comprendiendo dicho procedimiento:

- 10 una etapa de microgranulación de una mezcla de dicha sustancia sensible y dicho agente de impregnación para obtener el núcleo, y

una etapa de recubrimiento de dicho núcleo con dicho agente de adherencia.

- 15 En este procedimiento de preparación de la composición pulverulenta estable, el núcleo de las partículas de esta composición pulverulenta se obtiene de una mezcla de tres ingredientes, la sustancia sensible, un soporte y el agente de impregnación, por una etapa de microgranulación. El núcleo de las partículas se recubre con el agente de adherencia para formar una película protectora alrededor de la partícula y proteger así la sustancia sensible de futuras limitaciones que tendrá que sufrir, especialmente durante la formación de gránulos en las prensas por granular. Esto también ayuda a preservarla durante el transporte o el almacenamiento.

- 20 La combinación de la elección del agente de impregnación y el agente de adherencia, así como la tecnología utilizada, hace que la composición pulverulenta estable obtenida consista en partículas incrustadas en una película protectora que le confiere nuevas propiedades. En particular, la composición pulverulenta tiene propiedades hidrófobas y la sustancia sensible contenida en dicha composición se vuelve resistente a la temperatura y a la presión y permanece estable durante el transporte o almacenamiento. Sin embargo, la composición pulverulenta se rehidrata y, por lo tanto, se vuelve biodisponible cuando se redisuelve.

- 25 La etapa de microgranulación se puede llevar a cabo a partir de una mezcla de dicha sustancia sensible y dicho soporte previamente cosecado y la totalidad del agente de impregnación.

En tal procedimiento, la sustancia sensible y el soporte, previamente cosecado, se presentan en forma de un producto totalmente homogéneo, con un tamaño de partícula y dispersión controlados, adecuado para mezclar con el agente de impregnación.

- 30 La etapa de microgranulación también se puede llevar a cabo a partir de una mezcla de dicha sustancia sensible, dicho soporte y la totalidad del agente de impregnación previamente cosecado.

Este método permite ventajosamente disponer en directo de un producto perfectamente homogéneo al tiempo que reduce una costosa etapa de mezcla.

La etapa de microgranulación también se puede llevar a cabo a partir de una mezcla de dicha sustancia sensible, dicho soporte y una parte del agente de impregnación cosecado previamente y el resto del agente de impregnación.

- 35 Este método produce un polvo intermedio, cuyos tamaños de partícula se controlan con una dispersión reducida. La mayor parte del agente de impregnación ya está presente, entonces es suficiente con complementar con el resto del agente de impregnación para comenzar la siguiente fase.

- 40 En una realización particular, dicho procedimiento comprende una etapa de cosecado, antes de la etapa de microgranulación, de una mezcla que contiene la sustancia sensible, el soporte de la sustancia sensible y opcionalmente la totalidad o parte del agente de impregnación, el cosecado se lleva a cabo a una temperatura del aire de salida inferior a 60 °C y a una temperatura del polvo inferior a 45 °C.

En una realización preferida del procedimiento de la invención, la sustancia sensible se usará en forma líquida y el soporte en forma seca.

En otra realización particular, dicho procedimiento comprende:

- 45 - **una etapa de cosecado** de una mezcla que contiene la sustancia sensible y al menos un soporte de la sustancia sensible, donde el cosecado se lleva a cabo a una temperatura del aire de salida inferior a 60 °C y a una temperatura del polvo inferior a 45 °C, para obtener un polvo homogéneo intermedio,

- 50 - **una etapa de microgranulación** del polvo homogéneo intermedio con el agente de impregnación para obtener un polvo microgranulado densificado que consiste en partículas no recubiertas correspondientes al núcleo mencionado con anterioridad.

En una realización preferida del procedimiento de la invención, la sustancia sensible se usará en forma líquida, el soporte, en forma seca y el agente de impregnación, en forma sólida.

5 La etapa de cosecado se lleva a cabo a baja temperatura, lo que permite una retención de más del 95 % de la sustancia sensible y conduce a la obtención de un polvo homogéneo cuya granulometría media medida por D(v,0,5) se puede ajustar de 50 a 250  $\mu\text{m}$ .

El polvo homogéneo intermedio contiene del 10 al 100 %, especialmente del 40 al 65 %, en particular el 55 % de sustancia sensible en extracto seco.

La humedad final del polvo homogéneo intermedio varía del 0 % a especialmente del 5 al 12 % y la actividad del agua es inferior a 0,6 para evitar cualquier desarrollo de microorganismos.

10 La etapa de microgranulación se lleva a cabo generalmente a una temperatura máxima de 45 °C para no dañar la sustancia sensible y en un contenido de agua dado, es decir, de aproximadamente el 5 % al 20 % de agua agregada por extracto seco total y preferiblemente 10 %, de modo que se logre la impregnación y la consistencia del producto, y esto controlando la homogeneidad de las partículas y controlando el contenido de humedad y mediante una inspección visual utilizando una lupa binocular o por análisis de imágenes.

15 El polvo densificado se caracteriza porque se observa un cambio en el estado del producto, inicialmente en forma de polvo, debido a la agregación de las partículas entre sí, y esto justo antes de obtener la consistencia de un producto pastoso, que se controla ya sea por la temperatura que aumenta muy rápidamente, o por la salida de amperaje del motor principal del microgranulador.

20 El polvo densificado obtenido tiene una granulometría media medida por D(v,0,5) de 100 a 200  $\mu\text{m}$  y un contenido de agua del 5 al 10 %.

Este polvo densificado consiste en el 5 al 50 %, preferiblemente el 10 al 35 % de sustancia sensible al extracto seco, el 10 al 70 %, preferiblemente el 20 al 60 % de soporte de extracto seco y el 5 al 50 %, preferiblemente el 10 al 30 % de agente de impregnación.

25 En una realización particular, el procedimiento de la invención de preparación de la composición pulverulenta comprende:

- **una etapa de cosecado** de una mezcla que contiene la sustancia sensible y al menos un soporte de la sustancia sensible, donde el cosecado se lleva a cabo a una temperatura del aire de salida inferior a 60 °C y a una temperatura del polvo inferior a 45 °C, para obtener un polvo homogéneo intermedio,

30 - **una etapa de microgranulación** del polvo homogéneo intermedio con el agente de impregnación para obtener un polvo microgranulado densificado que consiste en partículas no recubiertas correspondientes al núcleo mencionado con anterioridad,

- **una etapa de recubrimiento** de las partículas no recubiertas del polvo microgranulado densificado con el agente de adherencia para obtener un polvo recubierto.

35 En una realización preferida del procedimiento de la invención, la sustancia sensible se usará en forma líquida, el soporte en forma seca, el agente de impregnación en forma sólida y el agente de adherencia de forma líquida, especialmente en solución en agua.

Durante la etapa de recubrimiento, la velocidad de deposición del agente de adherencia alrededor del núcleo de las partículas depende de la granulometría final deseada de la composición pulverulenta estable. Varía en particular del 5 al 30 %, preferiblemente del 10 al 20 % del extracto seco de la composición pulverulenta.

40 El agente de adherencia se deposita especialmente en forma líquida, a partir de una solución del 4 al 10 % de extracto seco en agua. La solución que contiene el agente de adherencia es tal que tiene una viscosidad compatible con una pulverización que permite recubrir el polvo densificado grano a grano, sin agregación de las partículas entre ellas.

45 El polvo recubierto obtenido tiene una granulometría media medida por D(v,0,5) de 300 a 400  $\mu\text{m}$  y un contenido de agua del 5 al 12 %.

Este polvo recubierto consiste en el 5 al 40 %, preferiblemente el 10 al 30 % de sustancia sensible en extracto seco, el 10 al 60 %, preferiblemente el 20 al 50 % de soporte en extracto seco, el 5 al 40 %, preferiblemente el 10 al 30 % de agente de impregnación en extracto seco y el 5 al 30 %, preferiblemente el 10 al 20 % de agente de adherencia en extracto seco.

50 En otra realización particular de la invención, el procedimiento comprende:

- **una etapa de cosecado** de una mezcla que contiene la sustancia sensible y al menos un soporte de la sustancia

sensible, donde el cosecado se lleva a cabo a una temperatura del aire de salida inferior a 60 °C y a una temperatura del polvo inferior a 45 °C, para obtener un polvo homogéneo intermedio,

- **una etapa de microgranulación** del polvo homogéneo intermedio con el agente de impregnación para obtener un polvo microgranulado densificado que consiste en partículas no recubiertas correspondientes al núcleo antes mencionado,

- opcionalmente **una etapa de secado a una baja temperatura** del polvo microgranulado densificado a una temperatura inferior a 45 °C, para obtener un polvo microgranulado densificado seco,

- opcionalmente **una etapa de tamizado** para obtener un polvo microgranulado densificado tamizado,

- **una etapa de recubrimiento** de las partículas no recubiertas del polvo microgranulado densificado, opcionalmente secado y tamizado opcionalmente, con agente de adherencia para obtener un polvo recubierto,

- **una etapa de secado** del polvo recubierto para obtener una composición pulverulenta estable.

Por "secado a baja temperatura" se designa una etapa de secado donde la temperatura no excede los 45 °C.

Esta etapa de secado se lleva a cabo después de la etapa de microgranulación si el polvo densificado obtenido después de esta etapa de microgranulación presenta un contenido de agua superior al 10 % y para obtener un contenido de agua inferior al 9 %, y preferiblemente inferior al 7 %.

La etapa de tamizado se realiza después de la etapa de microgranulación para tener partículas de tamaño equivalente antes del recubrimiento.

El polvo microgranulado densificado, opcionalmente secado y tamizado opcionalmente obtenido antes de la etapa de recubrimiento, tiene una granulometría media medida por D(v,0,5) de 100 a 200 µm y un contenido de agua del 10 % como máximo.

La etapa de secado realizada después de la etapa de recubrimiento se realiza a baja temperatura, es decir, a una temperatura máxima de 45 °C en el núcleo, en condiciones que respetan la sustancia sensible y permiten obtener una composición pulverulenta estable que tenga un contenido de agua inferior al 10 %, y preferiblemente inferior al 8 %.

La granulometría de la composición pulverulenta estable está principalmente en el intervalo de 100 a 500 µm.

La composición pulverulenta estable así obtenida se puede comercializar directamente como materia prima para ser introducida en particular en los gránulos en especial con fines de alimentación animal, ya que este tamaño de partícula es el que evita cualquier mezcla en los productos formulados destinados a la alimentación animal.

De acuerdo con la invención, el compuesto viscoso es carboximetilcelulosa (CMC).

La sustancia sensible se puede elegir, en particular, entre proteínas, en particular enzimas, vitaminas, bacterias, levaduras, antioxidantes, carotenoides, aceites esenciales o sustancias farmacológicamente activas, tales como los antibióticos.

El soporte de la sustancia sensible puede elegirse en particular entre almidón, harinas, especialmente harina de trigo, de maíz, de mandioca o de arroz, talco, pulpa de remolacha, maltodextrina, sales tales como carbonato de calcio, cuajada de maíz.

De acuerdo con la invención, el agente de impregnación y el agente de adherencia son idénticos y consisten en carboximetilcelulosa (CMC).

Este procedimiento es entonces más atractivo económicamente, por un lado, porque la CMC es barata y, por otro lado, porque este procedimiento hace posible obtener un aumento de la resistencia a la temperatura y la presión para una tasa de CMC (utilizada como un agente de impregnación y de adherencia) que puede reducirse al 35 % o incluso hasta el 25 % en extracto seco de la composición pulverulenta final (mientras que convencionalmente es del 55 %).

En una realización particular, la sustancia sensible representa del 5 al 40 %, preferiblemente del 10 al 30 % de extracto seco de la composición pulverulenta, el soporte representa del 10 al 60 %, preferiblemente del 20 al 50 % del extracto seco de la composición pulverulenta, el agente de impregnación representa del 5 al 40 %, preferiblemente del 10 al 30 % de extracto seco de la composición pulverulenta, y el agente de adherencia representa del 5 al 30 %, preferiblemente del 10 % al 20 % de extracto seco de la composición pulverulenta.

La presente invención también se refiere a una composición pulverulenta obtenida mediante un procedimiento de la invención como se define anteriormente.

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende, como sustancia activa,

una composición pulverulenta estable que contiene partículas que comprende:

- un núcleo que contiene al menos una sustancia sensible que sufre una degradación inferior al 20 % cuando dicha composición pulverulenta estable se somete a temperaturas de 60 °C a 100 °C y/o presiones de  $2 \cdot 10^6$  a  $10^7$  Pa y/o una humedad relativa del 60 % al 100 % durante la etapa de granulación de dicha composición, al menos un compuesto viscoso cuya viscosidad es superior a 5 Pa.s como agente de impregnación para la sustancia sensible, y al menos un soporte de la sustancia sensible, y

- un recubrimiento del núcleo, cuyo recubrimiento contiene al menos un compuesto viscoso cuya viscosidad es superior a 5 Pa.s como agente de adherencia, en el que la sustancia sensible tiene al menos el 80 %, en particular al menos el 90 % de su actividad inicial, y dichos compuestos viscosos se seleccionan de carboximetilcelulosa (CMC), en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Esta composición farmacéutica puede estar especialmente destinada al animal.

La presente invención también se refiere a una composición alimenticia que comprende una composición pulverulenta estable como se define en la presente invención, en la que la sustancia sensible tiene al menos el 80 %, especialmente al menos el 90 % de su actividad inicial, y no es una enzima destinada a la alimentación de animales no humanos, y al menos un producto alimenticio.

Esta composición alimenticia puede estar especialmente destinada al animal.

Esta composición alimenticia puede caracterizarse, además, porque está en forma de pellas o gránulos.

La presente invención también se refiere a un procedimiento de preparación de composiciones alimenticias que comprenden una composición pulverulenta estable como se define en la presente invención, y al menos un producto alimenticio, donde dicho método comprende una etapa de compresión húmeda, en particular al 14 % de humedad, con una presión aplicada de  $2 \cdot 10^6$  a  $10^7$  Pa, de una mezcla de la composición pulverulenta estable con el producto alimenticio.

En una realización particular, la etapa de cosecado mencionada con anterioridad se lleva a cabo continuamente, en particular en una torre de secado por atomización y/o lecho fluidizado.

La sustancia sensible se introduce, durante esta etapa, por boquillas dispuestas alrededor de la llegada del soporte seco o por una boquilla de inyección central, o un mezclador dinámico del tipo Shugi® o Bepex® (comercializado por la empresa HOSOKAWA) sobre torres industriales.

La etapa de cosecado se puede llevar a cabo, en particular, de manera continua por pulverización de la sustancia sensible en forma de un aerosol monodisperso, directamente sobre el polvo de soporte mediante un dispositivo apropiado que permite una mejor eficacia y la obtención de partículas perfectamente homogéneas.

En una realización particular, la etapa de microgranulación mencionada con anterioridad se lleva a cabo mediante microgranulación en húmedo y cizallamiento, en particular en un lecho fluidizado.

Esta etapa consiste, en particular, en una impregnación del polvo homogéneo intermedio con el agente de impregnación y una densificación por lotes en mezclador estático o continuamente, por ejemplo en un mezclador dinámico SHUGI® (comercializado por la empresa HOSOKAWA) por un dispositivo rotativo como un mezclador rápido para productos húmedos y pastosos (cortador) o un granulador húmedo utilizado en farmacia DIOSNA®, TURBOSPHERE® o GLATT® (comercializados por las empresas DIOSNA, Pierre GUERIN y GLATT, respectivamente) equipado con un spray adaptado.

En una realización preferida de la invención, la etapa de microgranulación mencionada con anterioridad se lleva a cabo continuamente humedeciendo con un aerosol monodisperso, permitiendo así una mejor eficacia y la obtención de partículas homogéneas.

En una realización particular, la etapa de secado a baja temperatura mencionada con anterioridad se lleva a cabo en un lecho fluidizado discontinuo, o directamente si la etapa de impregnación se lleva a cabo en forma continua, o en una vuelta de secado utilizando dispositivos de cosecado por tubo o Shugi.

En una realización particular, la etapa de recubrimiento mencionada con anterioridad consiste en depositar una película suficiente de agente de adherencia y luego secar el producto obtenido. La película se deposita generalmente mediante boquillas de pulverización adecuadas en secadores de lecho de aire fluidizado.

En una realización preferida de la invención, la etapa de recubrimiento por pulverización de una película se lleva a cabo continuamente con un aerosol monodisperso, lo que permite una mejor eficacia y la obtención de partículas homogéneas, a fin de mejorar la densidad de las partículas y limitar la cantidad de agente de adherencia depositado.

En una realización preferida de la invención, innovadores sistemas de contención de polvo de impregnación desarrollados en material INNOJET® (comercializado por la empresa INNOJET) con boquillas ROTOJET®

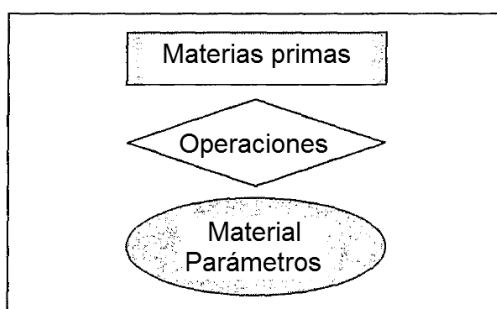


(comercializadas por la empresa INNOJET) se pueden utilizar para mejorar la densidad de las partículas y para limitar la cantidad de agente de adherencia depositado. Este sistema permite la homogeneidad del pasaje de las partículas por delante de la boquilla con un alto caudal.

- 5 El polvo recubierto se seca luego en lotes sucesivos en un lecho fluidizado convencional GLATT o AEROMATIC de rociado inferior (comercializados por GLATT y GEA, respectivamente), INNOJET® de rociado superior o tangencial, o continuamente con un lecho fluidizado continuo con un colector de boquilla o con un aglomerador SHUGI o en lotes, cuyo objetivo es reducir el contenido de agua del polvo recubierto a un valor inferior al 10 % y preferiblemente inferior al 8 %.

### Figuras

- 10 La Figura 1 muestra esquemáticamente las diversas etapas del procedimiento de preparación de una composición pulverulenta estable de acuerdo con la invención, donde las materias primas se indican en un rectángulo gris, las operaciones realizadas se indican en un rombo blanco y el material y los parámetros utilizados se indican en un óvalo gris. El código utilizado se muestra a continuación.



- 15 Las Figuras 2 a 7 muestran diferentes fotos de partículas de una composición pulverulenta observada por microscopio electrónico de barrido.
- Las Figuras 2 (aumento de x50), 3 (aumento de x200) y 4 (aumento de x800) se refieren a partículas obtenidas por un método de revestimiento de lecho fluidizado convencional.
- 20 Las Figuras 5 (ampliación x50), 6 (ampliación x200) y 7 (ampliación x800) representan partículas obtenidas mediante el procedimiento de la invención utilizando sistemas de impregnación novedosos desarrollados en material INNOJET®.

### Ejemplos

#### Ejemplo 1: Preparación de una composición pulverulenta estable que contiene una mezcla de enzimas

- 25 El protocolo experimental a continuación describe un procedimiento de preparación de una composición pulverulenta estable en la que la sustancia sensible es una mezcla de enzimas, el soporte es la harina y los agentes de impregnación y adherencia consisten en la CMC.

#### 1. Etapa de cosecado

475 kg/h de solución enzimática con el 28,7 % de materia seca (MS) se pulverizan a  $165,10^5$  Pa y se cosecan en forma continua en un soporte de tipo harina, a una velocidad de 113 kg/h, a baja temperatura:

- 30 - temperatura del aire de entrada: 146 °C
- temperatura del aire de salida: 49 °C.
- temperatura del aire de lecho fijo: 40 °C
- temperatura del aire del vibrofluidificador (primera sección): 35 °C
- temperatura del aire del vibrofluidificador (segunda sección): 27 °C

- 35 Por lo tanto, la distribución del extracto seco es la siguiente: 55 % de una mezcla de enzimas y 45 % de harina de trigo utilizada como soporte.

La mezcla de enzimas es una mezcla de fermentación filtrada concentrada obtenida a partir de la fermentación de *Penicillium funiculosum* (IMI 378536) que contiene 19 actividades enzimáticas, donde las principales son la celulasa, la xilanasas y la  $\beta$ -glucanasa.

El *Penicillium funiculosum* utilizado está protegido por la patente EP 1 007 743 y fue depositada el 24 de marzo de 1998 por la empresa ADISSEO con el número IMI 378536 en IMI (International Mycological Institute, Bakeham Lane, Englefield Green, Egham, Surrey, TW20 9TY, Gran Bretaña), reconocida autoridad de depósito internacional según el Tratado de Budapest.

- 5 El polvo homogéneo obtenido en esta etapa tiene un carácter de polvo libre de finura inferior a 63 µm, lo que lo convierte en un producto apto para ser manipulado en una segunda fase de impregnación de dicho polvo con un agente de impregnación. La granulometría media en D(v,0,5) es de 117 µm y la humedad es del 7,5 %.

Con estos dispositivos, se obtiene una fuerte unión entre el soporte y el líquido que contiene la enzima, incluso en el caso de productos difíciles de granular, como harina de trigo o de maíz.

- 10 Esta etapa permite obtener un polvo homogéneo intermedio seco preestabilizado.

## 2. Etapa de impregnación con el agente de impregnación.

La impregnación se lleva a cabo en un mezclador rápido para productos húmedos y pastosos (cortador) y comprende las siguientes etapas:

- 15
- 30 segundos de premezcla de los ingredientes (0,77 kg de extracto seco de CMC por kilogramo de extracto seco de polvo homogéneo intermedio),
  - 120 segundos de adición de agua, a una velocidad de 0,18 kg de agua por kilogramo de extracto seco de polvo intermedio, con agitación, y
  - 120 segundos de mezcla terminal.

- 20 El objeto en esta etapa es obtener partículas del orden de 150 a 200 µm en promedio, con una humedad del 14 %, mientras se mantiene el producto a una temperatura inferior a 45 °C a fin de no degradar la sustancia sensible.

El producto se seca así en un secador de lecho fluidizado con una temperatura de entrada de 55 °C y una temperatura de salida de 25 °C.

El polvo microgranulado densificado obtenido presenta 7 al 8 % de humedad.

## 3. Etapa de recubrimiento con el agente de adherencia

- 25 Una solución acuosa del 7 al 7,5 % de CMC se calienta a una temperatura comprendida entre 60 °C y 70 °C, antes de pulverizarse sobre el polvo microgranulado densificado. La cantidad de CMC depositada es de 0,25 kg de extracto seco de CMC por kilogramo de extracto seco de polvo microgranulado densificado por recubrir.

El polvo obtenido en esta etapa tiene una granulometría media de 300 a 400 µm y presenta una humedad del 10 al 11 %.

- 30 El producto recubierto luego se seca continuamente en un lecho fluidizado o en lotes, con el propósito de reducir el producto a un contenido de agua inferior al 10 % y preferiblemente inferior al 8 %.

La composición pulverulenta estable obtenida como producto final tiene la siguiente composición: 25 % de extracto seco de enzimas, 20 % de extracto seco de soporte, 55 % de extracto seco de CMC (utilizando el 35 % para la etapa de impregnación y el 20 % para la etapa de recubrimiento).

- 35 La composición pulverulenta también tiene un contenido de agua del 7,6 %, una densidad de 450 g/l y la siguiente granulometría:

- 40
- superior a 800 µm → 0 %
  - entre 500 y 800 µm → 12 %
  - entre 300 y 500 µm → 46 %
  - entre 200 y 300 µm → 26 %
  - entre 100 y 200 µm → 16 %
  - menos de 100 µm → 0 %

## 4. Balance

Las características del polvo obtenido al final de cada etapa se resumen en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1

| Etapa                                            | Diámetro (en $\mu\text{m}$ ) | Tasa de humedad                                                                     |
|--------------------------------------------------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| Cosecado (polvo intermedio)                      | 117 en promedio              | 7,5 %                                                                               |
| Impregnación (polvo densificado)                 | 150-200                      | - antes del secado : 14 %<br>- después del secado : 7 al 8 %                        |
| Recubrimiento (composición pulverulenta estable) | 300-400                      | - antes del secado : 10 al 11 %<br>- después del secado : < 10 %, en especial < 8 % |

**Ejemplo 2: Preparación de una composición pulverulenta estable que contiene una enzima superoxidismutasa (SOD)**

- 5 El protocolo experimental a continuación describe un procedimiento de preparación de una composición pulverulenta estable en la que la sustancia sensible es una enzima superoxidismutasa, el soporte es la maltodextrina de trigo y los agentes de impregnación y de adherencia están constituidos por la CMC.

1. Etapa de cosecado

- 10 Se pulverizan 95 kg/h de solución enzimática con el 9,5 % de materia seca (MS) a 95,10<sup>5</sup> Pa y se cosecan en forma continua sobre un soporte de tipo maltodextrina, a una velocidad de 9,5 kg/h, a baja temperatura:

- temperatura del aire de entrada: 110 °C
- temperatura del aire de salida: 50 °C
- temperatura del aire del lecho fijo: 40 °C

- 15 Por lo tanto, la distribución del extracto seco es la siguiente: 50 % de enzima pura y 50 % de soporte de maltodextrina de trigo.

La granulometría media del polvo obtenido en D(v,0,5) es de 95  $\mu\text{m}$  y la humedad es del 4,5 %.

Esta etapa permite obtener un polvo homogéneo intermedio seco preestabilizado.

2. Etapa de impregnación con el agente de impregnación

- 20 La impregnación se lleva a cabo en un mezclador rápido para productos húmedos y pastosos (cortador) y comprende las siguientes etapas:

- 60 segundos de premezcla de los ingredientes (0,25 kg de extracto seco de CMC por kilogramo de extracto seco de polvo intermedio),
- 90 segundos de adición de agua, a razón de 1 kg de agua por kilogramo de extracto seco de polvo intermedio, con agitación, y
- 25 - 90 segundos de mezcla terminal.

El producto se seca en el secador de lecho fluidizado con una temperatura de entrada de 60 °C y una temperatura de salida de 40 °C.

El polvo microgranulado densificado obtenido presenta un 8 % de humedad.

3. Etapa de recubrimiento con el agente de adherencia

- 30 Una solución acuosa al 7 % de CMC se calienta a una temperatura comprendida entre 60 °C y 70 °C. La cantidad de CMC depositada es de 0,5 kg de extracto seco de CMC por kilogramo de extracto seco de polvo microgranulado densificado por recubrir.

El polvo obtenido en esta etapa tiene una granulometría media de 300  $\mu\text{m}$  y una tasa de humedad del 9 %.

- 35 La composición pulverulenta estable obtenida como producto final tiene la siguiente composición: 20 % de extracto seco de enzima, 20 % de extracto seco de soporte, 60 % de extracto seco de CMC (utilizando el 10 % para la etapa

de impregnación y el 50 % para la etapa de recubrimiento).

La composición pulverulenta también tiene un contenido de agua del 9 %, una densidad de 400 g/l y la siguiente granulometría:

- superior a 800  $\mu\text{m}$   $\rightarrow$  0 %
- 5      - entre 500 y 800  $\mu\text{m}$   $\rightarrow$  7 %
- entre 300 y 500  $\mu\text{m}$   $\rightarrow$  35 %
- entre 200 y 300  $\mu\text{m}$   $\rightarrow$  38 %
- entre 100 y 200  $\mu\text{m}$   $\rightarrow$  20 %
- menos de 100  $\mu\text{m}$   $\rightarrow$  0 %

### 10 **Ejemplo 3: Preparación de una composición pulverulenta estable que contiene una bacteria**

El protocolo experimental a continuación describe un procedimiento de preparación de una composición pulverulenta estable en la que la sustancia sensible es una bacteria de tipo lactobacillus, el soporte y el agente de impregnación son el almidón Perfectamyl® y el agente de adherencia está constituido por la CMC.

#### 1. Etapa de cosecado

- 15 Se pulverizan 105 kg/h de un medio de fermentación al 10 % de materia seca (MS) que contiene  $10^9$  bacterias por gramo a  $50,10^5$  Pa y se cosecan en forma continua en un soporte de almidón Perfectamyl®, a razón de 45 kg/h, a baja temperatura:

- temperatura del aire de entrada: 90 °C
- temperatura del aire de salida: 50 °C

- 20 Por lo tanto, la distribución del extracto seco es la siguiente: 20 % de extracto seco de bacteria pura y 80 % de soporte de almidón.

La granulometría media del polvo obtenido en D(v,0,5) es de 45  $\mu\text{m}$  y la humedad es del 4 %.

Esta etapa permite obtener un polvo homogéneo intermedio seco preestabilizado.

#### 2. Etapa de impregnación con el agente de impregnación.

- 25 La impregnación se realiza en un mezclador rápido en una atmósfera controlada y climatizada y comprende las siguientes etapas:

- 30 segundos de premezcla de los ingredientes (0,2 kg de extracto seco de CMC por kilogramo de extracto seco de polvo intermedio)
- 30 segundos de adición de agua, a razón de 0,4 kg de agua por kilogramo de extracto seco de polvo intermedio, con agitación, y
- 30      - 30 segundos de mezcla terminal.

El producto se seca en un secador de lecho fluidizado con aire de entrada a menos de 2 g de agua por kilogramo de aire, una temperatura de entrada de 50 °C y una temperatura de salida de 40 °C como máximo.

El polvo microgranulado densificado obtenido presenta el 7 % de humedad.

### 35 3. Etapa de recubrimiento con el agente de adherencia

Una solución acuosa al 7 % de CMC se calienta a una temperatura comprendida entre 60 °C y 70 °C. La cantidad de CMC depositada es de 0,66 kg de extracto seco de CMC por kilogramo de extracto seco de polvo microgranulado densificado por recubrir.

- 40 El polvo obtenido en esta etapa tiene una granulometría media de 350  $\mu\text{m}$  y presenta un contenido de humedad del 7 % y una actividad de agua inferior a 0,2 para estabilizar las bacterias del núcleo.

La composición pulverulenta estable obtenida como producto final posee la siguiente composición: 10 % de extracto seco del medio de fermentación de bacterias, 50 % de extracto seco de almidón (utilizando el 40 % como soporte y el 10 % como agente de impregnación) y, finalmente, un 40 % de extracto seco de CMC utilizado como agente de adherencia.

La composición pulverulenta también tiene un contenido de agua del 7 % y una densidad de 450 g/l.

**Ejemplo 4: Preparación de una composición pulverulenta estable que contiene un antibiótico**

El protocolo experimental a continuación describe un procedimiento de preparación de una composición pulverulenta estable en la que la sustancia sensible es un antibiótico, que es tilosina, ya en forma de polvo, el soporte es harina y el agente de impregnación y el agente de adherencia consisten en CMC.

1. Etapa de la comezcla.

Se mezclan 10 kg de un antibiótico de tilosina en forma de polvo al 96,4 % (MS) con 13 kg de harina de trigo.

Por lo tanto, la distribución del extracto seco es la siguiente: 44 % de extracto seco de antibiótico puro y 56 % de harina.

La granulometría media del polvo obtenido en D(v,0,5) es de 40 µm y la humedad es del 4,7 %.

Esta etapa hace posible obtener un polvo homogéneo intermedio seco preestabilizado en la actividad del agua.

2. Etapa de impregnación con el agente de impregnación.

La impregnación se lleva a cabo en un mezclador rápido en una atmósfera controlada y climatizada y comprende las siguientes etapas:

- 90 segundos de premezcla de los ingredientes (0,4 kg de extracto seco de CMC por kilogramo de extracto seco intermedio)
- 60 segundos de adición de agua, a razón de 0,1 kg de agua por kilogramo de extracto seco de polvo intermedio, con agitación, y
- 60 segundos de mezcla terminal.

El producto se seca en un secador de lecho fluidizado con aire de entrada a menos de 2 g de agua por kilogramo de aire, una temperatura de entrada de 60 °C y una temperatura de salida de 50 °C como máximo.

El polvo microgranulado densificado obtenido presenta el 7 % de humedad.

3. Etapa de recubrimiento con el agente de adherencia

Una solución acuosa al 7 % de CMC se calienta a una temperatura comprendida entre 60 °C y 70 °C. La cantidad de CMC depositada es de 0,14 kg de extracto seco de CMC por kilogramo de extracto seco de polvo microgranulado densificado por recubrir.

El polvo obtenido en esta etapa tiene una granulometría media de 500 µm y presenta una humedad del 5,6 % y una actividad de agua inferior a 0,2 para estabilizar el antibiótico en las mezclas durante la aplicación.

La composición pulverulenta estable obtenida como producto final posee entonces la siguiente composición: 27,5 % de extracto seco de antibiótico, 35 % de extracto seco de soporte, 37,5 % de extracto seco de CMC (utilizando el 25 % para la etapa de impregnación y el 12,5 % para la etapa de recubrimiento).

La composición pulverulenta estable también tiene una densidad de 450 g/l.

**Ejemplo 5: Preparación de una composición pulverulenta estable que contiene una mezcla de carotenoides**

El protocolo experimental a continuación describe un procedimiento de preparación de una composición pulverulenta estable en la que la sustancia sensible es una mezcla de carotenoides que contiene en particular el 55 % de astaxantina, el soporte es carbonato de calcio y los agentes de impregnación y de adherencia están constituidos por CMC.

1. Etapa de cosecado

400 kg/h de un medio de fermentación rico en astaxantina al 15 % de materia seca (MS) se pulverizan a 100,10<sup>5</sup> Pa y se cosecan en forma continua en un soporte de tipo carbonato de calcio, a razón de 20 kg/h, a baja temperatura:

- temperatura del aire de entrada: 130 °C
- temperatura del aire de salida: 50 °C
- temperatura del aire del lecho fijo: 40 °C

Por lo tanto, la distribución del extracto seco es la siguiente: 75 % de materia seca de la solución de carotenoides y

25 % de soporte de carbonato de calcio.

La granulometría media del polvo obtenido en D(v,0,5) es 105 µm y la humedad es del 5 %.

Esta etapa hace posible obtener un polvo homogéneo intermedio seco preestabilizado.

## 2. Etapa de impregnación con el agente de impregnación

- 5 La impregnación se realiza en un mezclador rápido para productos húmedos y pastosos (cortador) y comprende las siguientes etapas:

- 90 segundos de premezcla de los ingredientes (0,5 kg de extracto seco de CMC por kilogramo de extracto seco de polvo intermedio),

- 10 - 90 segundos de adición de agua, a razón de 1 kg de agua por kilogramo de extracto seco de polvo intermedio, con agitación, y

- 180 segundos de mezcla terminal.

El producto se seca en un secador de lecho fluidizado con una temperatura de entrada de 70 °C y una temperatura de salida de 50 °C.

El polvo microgranulado densificado obtenido presenta el 8 % de humedad.

## 15 3. Etapa de recubrimiento con el agente de adherencia

Una solución acuosa al 7 % de CMC se calienta a una temperatura comprendida entre 60 °C y 70 °C. La cantidad de CMC depositada es de 0,25 kg de extracto seco de CMC por kilogramo de extracto seco de polvo microgranulado densificado por recubrir.

El polvo obtenido en esta etapa tiene una granulometría media de 300 µm y una humedad del 8 %.

- 20 La composición pulverulenta estable obtenida como producto final posee la siguiente composición: 40 % de extracto seco de la solución de carotenoides, 13 % de extracto seco de carbonato de calcio como soporte, 47 % de extracto seco de CMC (utilizando el 27 % para la etapa de impregnación y el 20 % para la etapa de recubrimiento).

La composición pulverulenta estable también tiene un contenido de agua del 8 % y una densidad de 510 g/l.

## **Ejemplo 6: Preparación de una composición pulverulenta estable que contiene un aceite esencial**

- 25 El protocolo experimental a continuación describe un procedimiento de preparación de una composición pulverulenta estable en la que la sustancia sensible es un aceite esencial, el soporte es la harina de trigo, el agente de impregnación y el agente de adherencia están constituidos por la CMC.

### 1. Etapa de la comezcla.

- 30 Se pulverizan 50 kg/h de un aceite esencial de ajo a 150,10<sup>5</sup> Pa y se comezclan continuamente en un soporte tipo harina de trigo, a razón de 54 kg/h, a baja temperatura:

- Temperatura del aire de entrada: 20 °C

Por lo tanto, la distribución del extracto seco es la siguiente: 50 % de materia seca del aceite esencial de ajo y 50 % de soporte de harina de trigo.

La granulometría media del polvo obtenido en D(v,0,5) es de 50 µm y la humedad es del 7 %.

- 35 Esta etapa permite obtener un polvo homogéneo intermedio preestabilizado.

### 2. Etapa de impregnación con el agente de impregnación

La impregnación se lleva a cabo en un mezclador rápido para productos húmedos y pastosos (cortador) y comprende las siguientes etapas:

- 40 - 120 segundos de premezcla de los ingredientes (0,15 kg de extracto seco de CMC por kilogramo de extracto seco de polvo intermedio),

- 90 segundos de adición de agua, a razón de 1 kg de agua por kilogramo de extracto seco de polvo intermedio, con agitación, y

- 180 segundos de mezcla terminal.

El producto se seca en un secador de lecho fluidizado con una temperatura de entrada de 50 °C y una temperatura de salida de 40 °C.

El polvo microgranulado densificado obtenido tiene el 7 % de humedad.

### 3. Etapa de recubrimiento con el agente de adherencia

- 5 Una solución acuosa al 7 % de CMC se calienta a una temperatura comprendida entre 60 °C y 70 °C. La cantidad de CMC depositada es de 0,18 kg de extracto seco de CMC por kilogramo de extracto seco de polvo microgranulado densificado a recubrir.

El polvo obtenido en esta etapa tiene una granulometría media de 450 µm y presenta un contenido de humedad del 8 %.

- 10 La composición pulverulenta estable obtenida como producto final tiene la siguiente composición: 37,5 % de extracto seco de aceite esencial de ajo, 37,5 % de extracto seco de harina de trigo como soporte, 25 % de extracto seco de CMC (utilizando el 10 % para la etapa de impregnación y el 15 % para la etapa de recubrimiento).

La composición pulverulenta estable también tiene un contenido de agua del 8 % y una densidad de 550 g/l.

### **Ejemplo 7: Caracterización microscópica de la composición pulverulenta estable que contiene una mezcla de enzimas**

#### 1. Protocolo experimental

Se observaron dos tipos de composiciones pulverulentas estables con un microscopio electrónico de barrido:

- una composición pulverulenta obtenida con un procedimiento de recubrimiento convencional del tipo GLATT® o AEROMATIC®, que contiene el 55 % de CMC en porcentaje de extracto seco, y
- 20 - una composición pulverulenta obtenida con un procedimiento de recubrimiento en innovadores sistemas de impregnación desarrollados en el material INNOJET®, que contiene un 35 % de CMC en porcentaje de extracto seco, con las boquillas ROTOJET®.

El método de recubrimiento convencional consiste en cubrir un soporte sólido con una capa de producto suspendiendo el material por recubrir en una corriente de aire y pulverizando el líquido de recubrimiento en el lecho fluido constituido.

El método de recubrimiento que utiliza sistemas innovadores consiste, a su vez, en pulverizar el agente de adherencia para formar una película protectora, en forma continua con un aerosol monodisperso, lo que permite una mejor eficacia y la obtención de partículas homogéneas para mejorar la densidad de las partículas y limitar la cantidad de agente de adherencia depositado. Este sistema permite una homogeneidad del pasaje de las partículas por delante de la boquilla con un caudal elevado.

Por lo tanto, se observa que el depósito del agente de adherencia realizado con el método innovador (ver Figuras 5 a 7) es más regular, compacto y densificado que con un método de recubrimiento convencional (ver Figuras 2 a 4), lo que permite reducir así la cantidad de CMC usada ventajosamente.

#### 2. Resultados

- 35 La película protectora (o recubrimiento) que recubre el núcleo de las partículas es visible bajo un microscopio electrónico de barrido.

En el caso de un procedimiento de recubrimiento convencional, se constata una heterogeneidad de las partículas con la presencia de vacíos parciales, lo que dificulta el depósito del agente de adherencia en los vacíos creados (ver Figs. 2, 3 y 4).

- 40 Las partículas obtenidas por un procedimiento de recubrimiento en sistemas de impregnación innovadores, que por lo tanto contienen menos CMC, son más compactas y densas (ver Figuras 5, 6 y 7).

### **Ejemplo 8: Resistencia a la temperatura y a la presión de las enzimas contenidas en la composición pulverulenta estable**

#### 1. Protocolo experimental para la preparación de gránulos

- 45 El objetivo es probar la actividad enzimática de preparaciones que consisten en composiciones pulverulentas que contienen enzimas agregadas a una base de alimento para el crecimiento de las aves de corral después de una etapa de granulación.

Se aplican tres temperaturas de tratamiento a la salida del acondicionador (80, 85 y 90 °C) para cada mezcla de

acuerdo con el protocolo que se describe a continuación.

#### 1.1. Preparaciones que contienen enzimas

Prueba 1: se prepara una mezcla de 60 kg realizada con 59,998 kg de alimento de harina para aves de corral y 3 g de una composición pulverulenta usando un mezclador de paletas de eje horizontal que gira a 60 rpm. La duración de mezclado es de 2 minutos

Prueba 2: Se prepara una premezcla de 500 g con 2 g de una composición pulverulenta y 498 g de alimento de harina para crecimiento de las aves de corral.

Una mezcla de 40 kg realizada con 39,500 kg de alimento de harina para crecimiento de aves de corral y la premezcla anterior se prepara utilizando un mezclador de paletas de eje horizontal que gira a 60 rpm. La duración de mezclado es de 2 minutos.

La composición pulverulenta utilizada consiste entonces en:

- una composición estándar sin protección para los productos A y C correspondiente al producto ROVABIO EXCEL AP comercializado por ADISSEO France SAS, que contiene 80 % de harina de trigo y 20 % de una sustancia sensible, y

- una composición de acuerdo con la invención con protección que contiene 20 % de una sustancia sensible, 25 % de soporte de harina de trigo y 55 % de CMC (utilizada como agente de impregnación y agente de adherencia) para el producto B o 35 % de CMC para productos D y E,

donde la tasa de incorporación de dicha composición pulverulenta en el alimento de harina para crecimiento de aves de corral es de 50 g/T.

Estas diferentes composiciones se produjeron a partir del mismo lote de sustancia sensible, a saber, una mezcla de fermentación filtrada concentrada obtenida a partir de *Penicillium funiculosum* (IMI 378536), que contiene 19 actividades enzimáticas, siendo las principales la xilanasa, la  $\beta$ -glucanasa y la celulasa, y que responsable del producto comercial ROVABIO EXCEL AP.

La mezcla anterior (prueba 1 o 2) se drena en un tanque rectangular antes de colocar en bolsas. Se toma una muestra representativa de la mezcla de alrededor de 1 kg agrupando 20 muestras obtenidas al cortar en cuartos en la bandeja rectangular.

#### 1.2. Etapas de granulación

Las pruebas de granulación se llevan a cabo en una prensa de laboratorio de matriz plana (prensa KAFIL 14-175 de 3 kW). La matriz de prensa utilizada tiene canales de 4 mm de diámetro y 24 mm de espesor (relación de compresión: 6).

Para cada prueba de granulación, se utiliza un enfriador de laboratorio para secar y enfriar las muestras de gránulos calientes recolectadas en la salida de la matriz. El tiempo de secado de enfriamiento es de al menos 5 minutos para una carga de gránulos calientes de aproximadamente 3,5 kg por refrigerador.

Se toma una muestra representativa de cada producción de gránulos de aproximadamente 500 g.

#### 1.3. Mediciones y muestras para el control de granulación

Las mediciones y las muestras se toman durante el estado estacionario de la prensa (flujo constante, potencia eléctrica consumida y temperaturas estables).

Las mediciones de humedad y del tiempo de residencia en la matriz se realizan a partir de muestras tomadas durante la fase estabilizada de cada prueba.

Las caracterizaciones y los parámetros del procedimiento de prensado se identifican y se registran durante las pruebas (véanse los anexos de las tablas de granulación).

#### Medición en el vapor:

Los valores de presión y flujo de vapor se registran cada segundo mediante el software de adquisición.

La apertura de la válvula de control de vapor se registra manualmente en la unidad de control.

#### Medición de temperatura y humedad:

Las temperaturas (aire ambiente, preparación antes y después del acondicionador, matriz) se registran cada segundo mediante un software de adquisición.



La temperatura de la matriz corresponde a la temperatura de los gránulos.

Las mediciones de humedad se realizan después del secado en horno de una muestra de 5 g a 103 °C durante 4 horas. Todas las medidas se realizan por duplicado.

Medición de la deposición de tornillo doble de alimentación:

- 5 Esta medición se toma manualmente durante cada prueba.

Medición de flujo de la prensa:

La medición del flujo de la prensa se realiza pesando una muestra de 30 segundos a la salida de la matriz.

Medición de la potencia eléctrica consumida:

- 10 Esta medición calculada por un convertidor de potencia se registra cada segundo mediante un software de adquisición.

Con la tasa, este parámetro nos permite calcular la producción específica neta (kg/kWh) y el consumo específico neto (kWh/T).

Medición del tiempo de residencia de los gránulos en la matriz:

Esta medición se calcula en relación con el flujo de la prensa.

- 15 El cálculo tiene en cuenta el pesaje de 20 cm de gránulos.

Los parámetros de granulación se incluyen en las siguientes tablas de resumen y se representan sintéticamente para cada fase de transformación del producto.

**Tabla 2:** Preparación para la entrada del acondicionador

| Pruebas | Temperatura de tratamiento | Alimentación de tornillo doble (mV)* | Temperatura (°C)** | Humedad ( %)** |
|---------|----------------------------|--------------------------------------|--------------------|----------------|
| A       | 80 °C                      | 37                                   | 18,6               | 10,7           |
| B       |                            | 37                                   | 18,8               | 10,9           |
| C       |                            | 37                                   | 17,8               | 10,1           |
| D       |                            | 37                                   | 17,9               | 10,0           |
| E       |                            | 37                                   | 17,9               | 10,2           |
| A       | 85 °C                      | 38                                   | 19,2               | 10,7           |
| B       |                            | 37                                   | 19,2               | 10,9           |
| C       |                            | 36                                   | 18,3               | 10,1           |
| D       |                            | 36                                   | 18,4               | 10,0           |
| E       |                            | 36                                   | 18,3               | 10,2           |
| A       | 90 °C                      | 37                                   | 19,5               | 10,7           |
| B       |                            | 37                                   | 19,6               | 10,9           |
| C       |                            | 36                                   | 19,0               | 10,1           |
| D       |                            | 36                                   | 18,9               | 10,0           |
| E       |                            | 36                                   | 18,9               | 10,2           |

\* valor leído durante cada prueba

\*\* promedio en la grabación de prueba (1 valor cada segundo)

\*\*\* promedio en dos mediciones

**Tabla 3:** Preparación a la salida del acondicionador

| Prueba | Temperatura de tratamiento | Temperatura (°C)* | Presión de vapor (10 <sup>5</sup> Pa)* | Flujo de vapor (kg/h)* | Humedad (%)** |
|--------|----------------------------|-------------------|----------------------------------------|------------------------|---------------|
| A      | 80 °C                      | 80,4              | 1,6                                    | 4,5                    | 15,4          |
| B      |                            | 80,2              | 1,6                                    | 4,5                    | 15,2          |
| C      |                            | 80,1              | 1,6                                    | 4,7                    | 14,8          |
| D      |                            | 80,1              | 1,6                                    | 4,7                    | 14,7          |
| E      |                            | 80,2              | 1,6                                    | 4,5                    | 14,7          |
| A      | 85 °C                      | 85,1              | 1,6                                    | 4,8                    | 15,7          |
| B      |                            | 85,4              | 1,6                                    | 4,8                    | 15,5          |
| C      |                            | 85,1              | 1,6                                    | 5,2                    | 15,0          |
| D      |                            | 85,3              | 1,6                                    | 5,0                    | 14,8          |
| E      |                            | 85,0              | 1,6                                    | 5,2                    | 14,9          |
| A      | 90 °C                      | 90,1              | 1,6                                    | 5,6                    | 16,3          |
| B      |                            | 90,4              | 1,6                                    | 5,6                    | 15,8          |
| C      |                            | 90,0              | 1,6                                    | 5,8                    | 15,3          |
| D      |                            | 90,2              | 1,6                                    | 5,5                    | 15,2          |
| E      |                            | 90,0              | 1,6                                    | 5,5                    | 15,4          |

\* promedio en la grabación de la prueba (1 valor cada segundo)  
 \*\* promedio en dos mediciones

**Tabla 4:** Gránulos a la salida de la prensa

| Pruebas | Temperatura de tratamiento | Temperatura de la matriz (°C)* | Desviación (°C)** | Tiempo de residencia (s)*** | Flujo de prensa (kg/h)**** |
|---------|----------------------------|--------------------------------|-------------------|-----------------------------|----------------------------|
| A       | 80 °C                      | 80,7                           | 0,3               | 7,3                         | 42,3                       |
| B       |                            | 80,7                           | 0,5               | 7,6                         | 40,6                       |
| C       |                            | 80,1                           | 0,0               | 7,3                         | 41,7                       |
| D       |                            | 80,8                           | 0,7               | 7,4                         | 41,5                       |
| E       |                            | 80,0                           | 0,8               | 7,4                         | 41,7                       |
| A       | 85 °C                      | 83,4                           | -1,7              | 7,4                         | 40,7                       |
| B       |                            | 83,4                           | -2,0              | 7,3                         | 42,0                       |
| C       |                            | 84,5                           | -0,6              | 7,5                         | 40,3                       |
| D       |                            | 84,5                           | -0,8              | 7,4                         | 41,0                       |
| E       |                            | 84,6                           | -0,4              | 7,5                         | 40,8                       |
| A       | 90 °C                      | 85,7                           | -4,4              | 7,4                         | 40,9                       |
| B       |                            | 85,9                           | -4,5              | 7,4                         | 41,4                       |
| C       |                            | 86,6                           | -3,4              | 7,2                         | 41,8                       |
| D       |                            | 86,8                           | -3,4              | 7,4                         | 40,9                       |
| E       |                            | 86,8                           | -3,2              | 7,4                         | 41,0                       |

\* promedio en el registro de la prueba (1 valor cada segundo)  
 \*\* calculado en el registro de la prueba (temperatura de la matriz - temperatura de la preparación a la salida del acondicionador)  
 \*\*\* calculado a partir del peso de 20 cm de gránulos  
 \*\*\*\* medido en una muestra de 30 segundos

Las instrucciones reglamentarias para la prensa son las siguientes:

Caudal: alrededor de 41 kg/h

Temperatura de tratamiento a la salida del acondicionador: 80, 85 y 90 °C

Presión de vapor: 1,6,10<sup>5</sup> Pa

5 Ajuste de la altura de corte de las cuchillas: 10 mm.

## 2. Protocolo experimental para medir la actividad enzimática

### 2.1. β-glucanasa por el método en DNS

10 El ensayo se basa en la hidrólisis enzimática de β-glucano en cebada, un β-1,3(4)-glucano. Los productos de la reacción se determinan colorimétricamente midiendo el aumento de los grupos reductores con ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). La concentración de azúcar reductor disponible después de la hidrólisis enzimática se determina utilizando una curva de glucosa estándar cuya absorbancia se mide a 540 nm. La actividad enzimática calculada se expresa entonces en equivalentes de glucosa.

15 Una solución que contiene 1 ml de una solución al 1 % (p/v) de β-glucano en tampón de acetato de sodio 0,1 M a pH 5,0 y 1 ml de solución de enzima a la dilución apropiada se incuba a 50 °C durante 10 minutos. La reacción enzimática se detiene mediante la adición de 2 ml de una solución de DNS (1 % (p/v) ácido 3,5-dinitrosalicílico, 1,6 % (p/v) de NaOH, 30 % (m/V) de tartrato de potasio y sodio (+) en agua destilada). La solución se homogeneiza y luego se coloca en un baño María a 95 °C como mínimo y luego se enfría en un baño a temperatura ambiente (durante 5 minutos). Se agregan diez mililitros de agua ultrapura a la solución y la absorbancia se mide a 540 nm en una celda de vidrio que tiene una longitud de trayectoria óptica de 1 cm.

20 La absorbancia se corrige con la obtenida para una solución de referencia a la que se agrega el DNS antes que la solución enzimática.

Los resultados se convierten en μmoles de azúcar reductor en comparación con una gama de soluciones estándar que van del 0,00 al 0,04 % (m/V) de glucosa, tratadas en el DNS como en el caso de las pruebas.

25 Una unidad de actividad de endo-1,3(4)-β-glucanasa se define como la cantidad de enzima que produce 1 μmol de equivalente de glucosa por minuto por gramo de producto, en las condiciones de la prueba (pH 5,0 y 50 °C).

### 2.2. Xilanasas por el método en el DNS

30 La prueba se basa en la hidrólisis enzimática de xilano de abedul, un polímero de xilosa que contiene puentes β-D-1,4. Los productos de la reacción se determinan colorimétricamente midiendo el aumento de los grupos reductores con ácido 3,5-dinitrosalicílico. La concentración de azúcar reductor disponible después de la hidrólisis enzimática se determina utilizando una curva de xilosa estándar cuya absorbancia se mide a 540 nm. La actividad enzimática calculada se expresa entonces en equivalentes de xilosa.

35 Una solución que contiene 1 ml de solución de xilano de abedul al 1 % (p/v) en regulador de acetato de sodio 0,1 M a pH 5,0 y 1 ml de solución de enzima a la dilución apropiada se incuba a 50 °C durante 10 minutos. La reacción enzimática se detiene mediante la adición de 2 ml de una solución de DNS (1 % (p/v) de ácido 3,5-dinitrosalicílico, 1,6 % (p/v) de NaOH, 30 % (m/V) de tartrato de potasio y sodio (+) en agua destilada). La solución se homogeneiza y luego se coloca en un baño María a 95 °C como mínimo y luego se enfría en un baño a temperatura ambiente (durante 5 minutos). Se agregan diez mililitros de agua ultrapura a la solución y la absorbancia se mide a 540 nm en una celda de vidrio que tiene una longitud de trayectoria óptica de 1 cm.

40 La absorbancia se corrige con la obtenida para una solución de referencia a la que se agrega el DNS antes que la solución enzimática.

Los resultados se convierten a μmoles de azúcar reductor en comparación con una gama de soluciones estándar que van del 0,00 al 0,04 % (m/V) de xilosa, tratadas con DNS como en el caso de las pruebas.

Una unidad de actividad de endo-1,4-β-xilanasas se define como la cantidad de enzima que produce 1 μmol de equivalente de xilosa por minuto por gramo de producto, en las condiciones de la prueba (pH 5,0 y 50 °C).

### 2.3 Xilanasas por el método viscosimétrico

Este método es específico para la determinación de la actividad de la endo-1,4- $\beta$ -xilanasas en los alimentos. La endo-1,4- $\beta$ -xilanasas hidroliza los puentes xilosídicos de xilano. El ensayo se basa en la hidrólisis enzimática de los puentes de xilosa de una solución de arabinosa de trigo, polisacárido  $\beta$ -1,4-xilano sustituido con arabinosa. La actividad enzimática es proporcional a la reducción de la viscosidad de una solución de arabinoxilano de trigo en presencia de la enzima por ensayar.

Una unidad de actividad de endo-1,4- $\beta$ -xilanasas se define como la cantidad de enzima que hidrolizará el sustrato, reduciendo la viscosidad de la solución, para dar un cambio en la fluidez relativa de 1 unidad sin dimensiones por minuto en las condiciones del análisis: pH 5,5 y 30 °C.

### 3. Resultados

**Tabla 5:** Control de las actividades enzimáticas de las composiciones pulverulentas (antes del pasaje en la prensa)

|                                   | Concentrado Bruxel SD | Producto estándar | Composiciones pulverulentas de la invención |       |       |
|-----------------------------------|-----------------------|-------------------|---------------------------------------------|-------|-------|
| Presente en la preparación        | -                     | A y C             | B                                           | D     | E     |
| Actividad enzimática (unidades/g) |                       |                   |                                             |       |       |
| Xilanasas DNS                     | 6507                  | 3810              | 4027                                        | 5344  | 5304  |
| Xilanasas visco.                  | 39065                 | 31053             | 30293                                       | 32273 | 31153 |
| $\beta$ -glutanasas DNS           | 7626                  | 4676              | 5265                                        | 6300  | 6081  |

Estos resultados muestran claramente que las principales actividades enzimáticas se conservan en las diversas composiciones pulverulentas, con referencia al concentrado enzimático inicial (concentrado Bruxel SD).

**Tabla 6:** Tasa de recuperación en la actividad enzimática\* medida en alimentos después del pasaje por la prensa a diferentes temperaturas

| % de retención de la actividad enzimática en el producto final después de pasar por la prensa | Temperatura del tratamiento en prensa |       |       | Tasa de CMC en % del extracto seco |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|-------|-------|------------------------------------|
|                                                                                               | 80 °C                                 | 85 °C | 90 °C |                                    |
| Prueba 1                                                                                      |                                       |       |       |                                    |
| Producto testigo sin protección (A)                                                           | 76 %                                  | 68 %  | 54 %  | 0 %                                |
| Producto con protección (B)                                                                   | 100 %                                 | 85 %  | 82 %  | 55 %                               |
| Prueba 2                                                                                      |                                       |       |       |                                    |
| Producto testigo sin protección (C)                                                           | 86 %                                  | 57 %  | 40 %  | 0 %                                |
| Producto con protección (D)                                                                   | 99 %                                  | 90 %  | 81 %  | 35 %                               |
| Producto con protección (E)                                                                   | 96 %                                  | 86 %  | 83 %  | 35 %                               |

\* Actividad de xilanasas medida por viscosimetría.

Los resultados que figuran en la Tabla 6 anterior demuestran la estabilidad de la sustancia sensible conferida por la composición pulverulenta de acuerdo con la invención.

A 80 °C, la enzima retiene el 100 % de su actividad, mientras que la enzima desprotegida ha perdido 1/4 de su actividad (prueba 1). A temperaturas superiores a 85 °C, la enzima conserva más del 80 % de su actividad.

Se observa que se obtiene una protección equivalente con la prueba 1 o 2, que corresponden a composiciones pulverulentas que contienen 55 % y 35 % de CMC, respectivamente. La mayor compactación y densificación de las partículas obtenidas con un 35 % de CMC hace posible conservar la estabilidad de la enzima incluso con una cantidad menor de CMC.

Se podría considerar la posibilidad de reducir aún más el porcentaje de CMC utilizado y, en particular, bajar al 20 % en CMC, manteniendo el mismo nivel de protección enzimática.

## REIVINDICACIONES

1. Uso de al menos un compuesto viscoso, cuya viscosidad es superior  $5 \text{ Pa.s}^1$ , para evitar sustancialmente la degradación de una sustancia sensible contenida en una composición pulverulenta estable, estando dicha sustancia sensible sometida a menos del 20 % de degradación cuando dicha composición pulverulenta estable se somete a temperaturas de  $60^\circ\text{C}$  a  $100^\circ\text{C}$  y/o a presiones de  $2,10^6$  a  $10^7 \text{ Pa}$  y/o a una humedad relativa del 60 % al 100 % durante la etapa de granulación de dicha composición, en el que dicha composición pulverulenta que contiene partículas comprende:
  - un núcleo que contiene dicha sustancia sensible, al menos un compuesto viscoso como agente de impregnación de la sustancia sensible, y al menos un soporte para la sustancia sensible, y
  - un recubrimiento del núcleo, que se recubre con al menos un compuesto viscoso como agente de adherencia, donde dichos compuestos viscosos se eligen de carboximetilcelulosa (CMC), y

la viscosidad se mide utilizando un viscosímetro BROOKFIELD modelo LVDV-E equipado con un sistema de cilindro coaxial, utilizando el dispositivo móvil número 18 o 31 de acuerdo con las viscosidades, en una cámara de medición a temperatura controlada con ayuda de un baño termostático, donde estas mediciones se llevan a cabo a  $20^\circ\text{C}$  para soluciones acuosas al 10 % de extracto seco del compuesto viscoso, a diferentes velocidades de rotación de los móviles de 10 a 100 rpm, siendo los valores de viscosidad detectados valores obtenidos a las velocidades de rotación más altas al integrar los valores límite de torque (80 % máximo) del aparato.
2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la sustancia sensible representa del 5 al 40 %, preferiblemente del 10 al 30 % de extracto seco de la composición pulverulenta, el soporte representa del 10 al 60 %, preferiblemente del 20 al 50 % del extracto seco de la composición pulverulenta, el agente de impregnación representa del 5 al 40 %, preferiblemente del 10 al 30 % del extracto seco de la composición pulverulenta, y el agente de adherencia representa del 5 al 30 %, preferiblemente del 10 al 20 % de extracto seco de la composición pulverulenta.
3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la sustancia sensible consiste en una mezcla de enzimas que está constituida principalmente en  $\beta$ -glutanasa, xilanasas y celulasas, el soporte está constituido en harina de trigo, el agente de impregnación y el agente de adherencia están constituidos en carboximetilcelulosa (CMC).
4. Composición pulverulenta estable que contiene partículas que comprende:
  - un núcleo que contiene al menos una sustancia sensible que sufre una degradación inferior al 20 % cuando dicha composición pulverulenta estable se somete a temperaturas de  $60^\circ\text{C}$  a  $100^\circ\text{C}$  y/o a presiones de  $2,10^6$  a  $10^7 \text{ Pa}$  y/o a una humedad relativa del 60 % al 100 % durante la etapa de granulación de dicha composición, y al menos un compuesto viscoso cuya viscosidad es superior a  $5 \text{ Pa.s}^1$  como agente de impregnación de la sustancia sensible, y al menos un soporte de la sustancia sensible, y
  - un recubrimiento del núcleo, que recubre con al menos un compuesto viscoso cuya viscosidad es superior a  $5 \text{ Pa.s}^1$  como agente de adherencia,

en la que la sustancia sensible no es una enzima para alimentar animales no humanos, donde dichos compuestos viscosos se seleccionan de carboximetilcelulosa (CMC), y la viscosidad se mide de acuerdo con el método definido en la reivindicación 1.
5. Composición pulverulenta estable de acuerdo con la reivindicación 4, en la que dicha sustancia sensible se selecciona entre proteínas, vitaminas, bacterias, levaduras, antioxidantes, carotenoides, aceites esenciales o sustancias farmacológicamente activas tales como antibióticos.
6. Composición pulverulenta estable de acuerdo con la reivindicación 4, en la que el soporte se selecciona de almidón, harinas, en especial de trigo, de maíz, de mandioca o de arroz, talco, pulpa de remolacha, maltodextrina, sales, tales como carbonato de calcio, cuajada de maíz.
7. Composición pulverulenta estable según la reivindicación 4, en donde la sustancia sensible representa del 5 al 40 %, preferiblemente del 10 al 30 % de extracto seco de la composición pulverulenta, el soporte representa del 10 al 60 %, preferiblemente del 20 al 50 % del extracto seco de la composición pulverulenta, el agente de impregnación representa del 5 al 40 %, preferiblemente del 10 al 30 % de extracto seco de la composición pulverulenta y el agente de adherencia representa del 5 al 30 % en peso, preferiblemente del 10 al 20 % de extracto seco de la composición pulverulenta.
8. Procedimiento de preparación de una composición pulverulenta estable que contiene partículas que comprende:
  - un núcleo que contiene al menos una sustancia sensible que sufre una degradación inferior al 20 % cuando dicha composición pulverulenta estable se somete a temperaturas de  $60^\circ\text{C}$  a  $100^\circ\text{C}$  y/o a presiones de  $2,10^6$  a  $10^7 \text{ Pa}$  y/o a una humedad relativa del 60 % al 100 % durante la etapa de granulación de dicha composición, al menos un compuesto viscoso cuya viscosidad es superior a  $5 \text{ Pa.s}^1$  como agente

impregnación de la sustancia sensible y al menos un soporte de la sustancia sensible, y

- un recubrimiento del núcleo, que recubre con al menos un compuesto viscoso cuya viscosidad es superior a  $5 \text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$  como agente de adherencia, donde dichos compuestos viscosos se eligen de carboximetilcelulosa (CMC) y se mide la viscosidad de acuerdo con el método definido en la reivindicación 1,

5 donde dicho método comprende:

una etapa de microgranulación de una mezcla de dicha sustancia sensible, dicho soporte y dicho agente de impregnación para obtener el núcleo, y

una etapa de recubrimiento de dicho núcleo con dicho agente de adherencia.

10 9. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende una etapa de microgranulación de una mezcla de dicha sustancia sensible y dicho soporte cosecado y la totalidad del agente de impregnación.

10. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende una etapa de microgranulación de una mezcla de dicha sustancia sensible, dicho soporte y la totalidad del agente de impregnación, cosecados.

15 11. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende una etapa de microgranulación de una mezcla de dicha sustancia sensible, dicho soporte y una parte del agente de impregnación, cosecados y el resto del agente de impregnación.

12. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende una etapa de cosecado de una mezcla que contiene la sustancia sensible, especialmente en forma líquida, el soporte de la sustancia sensible, especialmente en forma seca, y opcionalmente todo o parte del agente de impregnación, donde el cosecado se lleva a cabo a una temperatura del aire de salida inferior a  $60^\circ\text{C}$  y a una temperatura del polvo inferior a  $45^\circ\text{C}$ .

20 13. Procedimiento de acuerdo con de las reivindicaciones 8 a 12, que comprende:

a. una etapa de cosecado de una mezcla que contiene la sustancia sensible, en particular en forma líquida, y al menos un soporte de la sustancia sensible, en particular en forma seca, donde el cosecado se realiza a una temperatura del aire de salida inferior a  $60^\circ\text{C}$  y a una temperatura del polvo inferior a  $45^\circ\text{C}$  para obtener un polvo homogéneo intermedio, y

25 b. una etapa de microgranulación del polvo homogéneo intermedio con el agente de impregnación, preferiblemente en forma sólida, para obtener un polvo microgranulado densificado que consiste en partículas no recubiertas

14. Procedimiento de preparación de acuerdo con una de las reivindicaciones 8 a 13, que comprende:

30 a. una etapa de cosecado de una mezcla que contiene la sustancia sensible, en particular en forma líquida, y al menos un soporte de la sustancia sensible, en particular en forma seca, donde el cosecado se realiza a una temperatura del aire de salida inferior a  $60^\circ\text{C}$  y a una temperatura del polvo inferior a  $45^\circ\text{C}$ , para obtener un polvo homogéneo intermedio,

35 b. una etapa de microgranulación del polvo homogéneo intermedio con el agente de impregnación, preferiblemente en forma sólida, para obtener un polvo microgranulado densificado que consiste en partículas no recubiertas correspondientes al núcleo mencionado con anterioridad,

c. una etapa de recubrimiento de las partículas no recubiertas del polvo microgranulado densificado con el agente de adherencia, preferiblemente en forma líquida, para obtener un polvo recubierto.

15. Procedimiento de preparación de acuerdo con una de las reivindicaciones 8 a 14, que comprende:

40 a. una etapa de cosecado de una mezcla que contiene la sustancia sensible, en particular en forma líquida, y al menos un soporte de la sustancia sensible, en particular en forma seca, donde el cosecado se realiza a una temperatura del aire de salida inferior a  $60^\circ\text{C}$  y a una temperatura del polvo inferior a  $45^\circ\text{C}$ , para obtener un polvo homogéneo intermedio,

45 b. una etapa de microgranulación del polvo homogéneo intermedio con el agente de impregnación, preferiblemente en forma sólida, para obtener un polvo microgranulado densificado que consiste en partículas no recubiertas correspondientes al núcleo mencionado con anterioridad,

c. opcionalmente, una etapa de secado a baja temperatura del polvo microgranulado densificado a una temperatura inferior a  $45^\circ\text{C}$  para obtener un polvo microgranulado densificado seco,

d. opcionalmente, una etapa de tamizado para obtener un polvo microgranulado densificado tamizado,

e. una etapa de recubrimiento de las partículas no recubiertas del polvo microgranulado densificado,

opcionalmente secado y tamizado opcionalmente, con el agente de adherencia, de preferencia en forma líquida, para obtener un polvo recubierto,

f. una etapa de secado del polvo recubierto para obtener una composición pulverulenta estable.

- 5 16. Composición farmacéutica que contiene una composición pulverulenta estable que contiene partículas que comprende
  - 10 - un núcleo que contiene, como sustancia activa, al menos una sustancia sensible que sufre una degradación inferior al 20 % cuando dicha composición pulverulenta estable se somete a temperaturas de 60 °C a 100 °C y/o a presiones de  $2 \cdot 10^6$  a  $10^7$  Pa y/o a una humedad relativa del 60 % al 100 % durante la etapa de granulación de dicha composición, y al menos un compuesto viscoso cuya viscosidad es superior a  $5 \text{ Pa} \cdot \text{s}^{-1}$  como agente de impregnación de la sustancia sensible, y al menos un soporte de la sustancia sensible, y
  - un recubrimiento del núcleo, que recubre con al menos un compuesto viscoso cuya viscosidad es superior a  $5 \text{ Pa} \cdot \text{s}^{-1}$  como agente de adherencia, en el que la sustancia sensible tiene al menos el 80 %, en particular al menos el 90 % de su actividad inicial, y dichos compuestos viscosos se eligen de carboximetilcelulosa (CMC), y la viscosidad se mide de acuerdo con el método definido en la reivindicación 1,
- 15 en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
17. Composición alimenticia que comprende una composición pulverulenta estable de acuerdo con una de las reivindicaciones 4 a 7, en la que la sustancia sensible posee al menos el 80 %, en particular al menos el 90 % de su actividad inicial y no es una enzima destinada a la alimentación de animales no humanos, y al menos un producto alimenticio.
- 20 18. Composición alimenticia de acuerdo con la reivindicación 17, **caracterizada porque** se presenta en forma de pellas o gránulos.



Figura 1

Esquema general del proceso de preparación de una composición pulverulenta estable

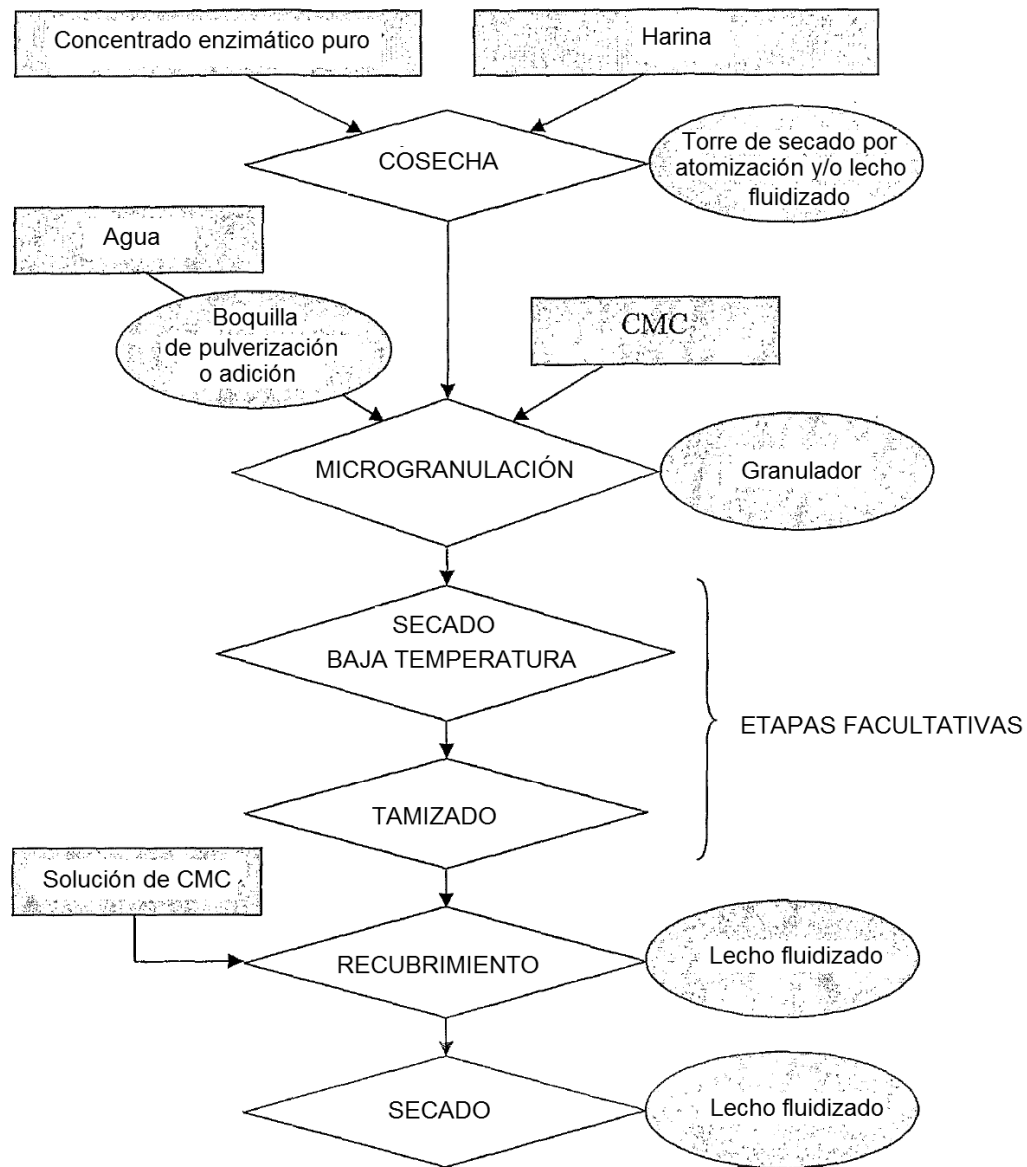


Figura 2

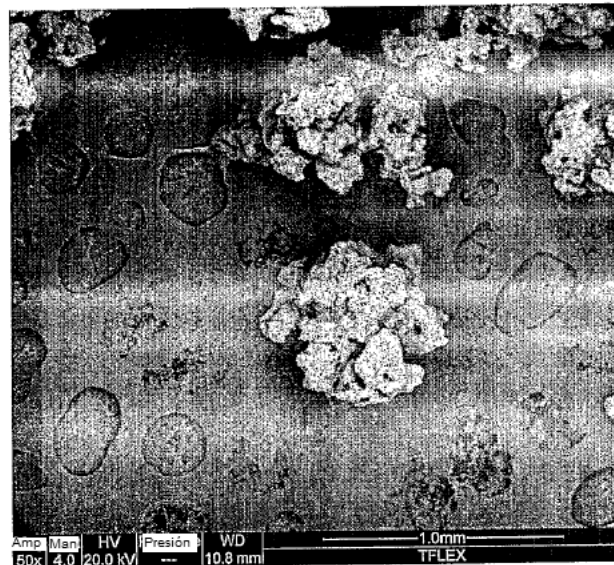


Figura 3

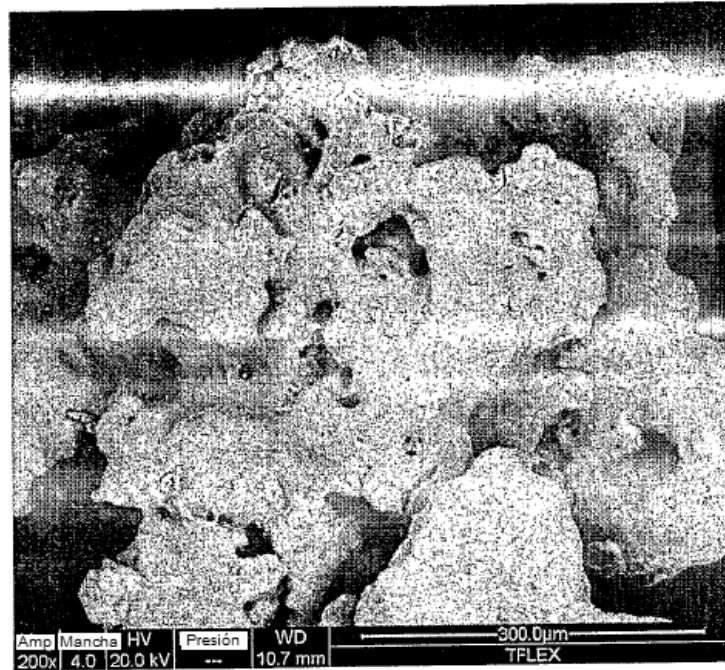


Figura 4

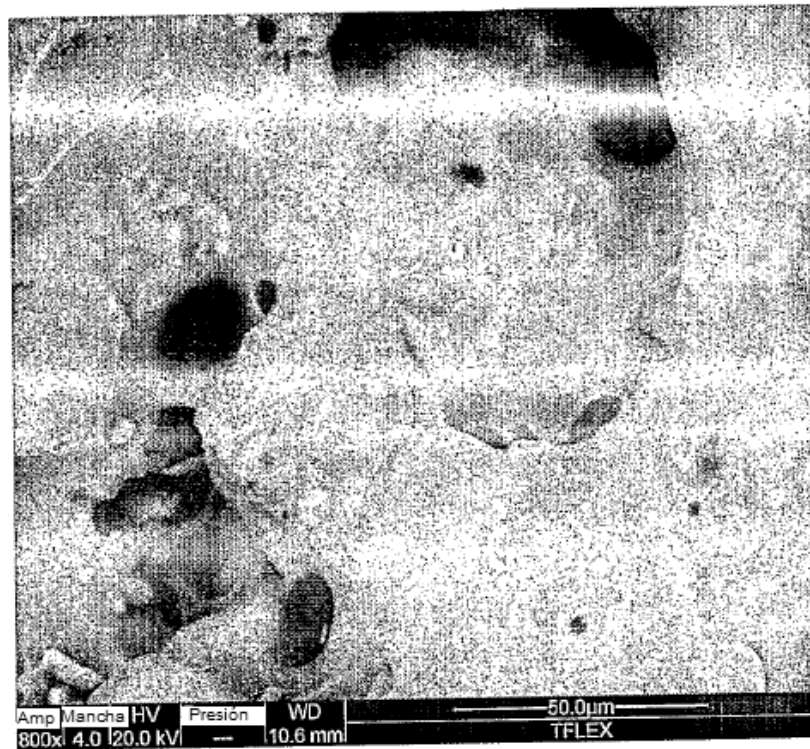


Figura 5

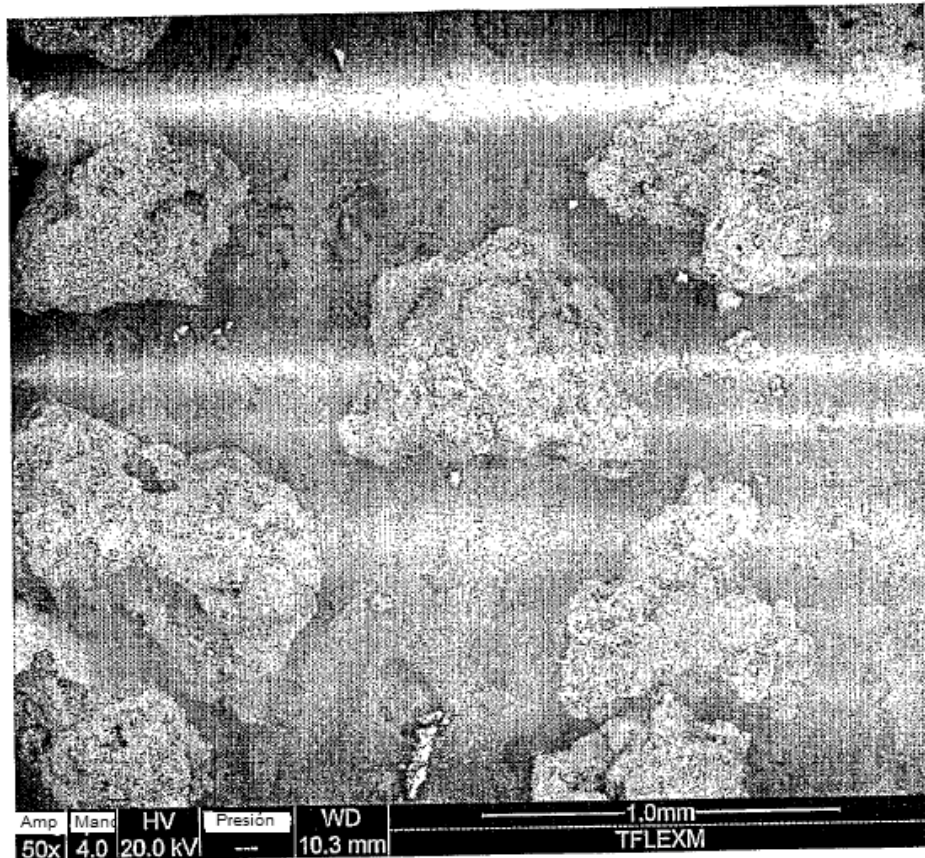


Figura 6



Figura 7

