

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 976 471**

51 Int. Cl.:

A23K 20/105	(2006.01)
A23K 20/147	(2006.01)
A23K 20/158	(2006.01)
A23K 20/163	(2006.01)
A23K 20/24	(2006.01)
A23K 20/28	(2006.01)
A23K 40/30	(2006.01)
A23K 50/80	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.11.2020 PCT/FR2020/052040**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.05.2021 WO21089969**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.11.2020 E 20816290 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.01.2024 EP 4054346**

54 Título: **Pienso o complemento alimenticio para ganado**

30 Prioridad:

07.11.2019 FR 1912528

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

01.08.2024

73 Titular/es:

**HUDDLE CORP (100.0%)
2 Impasse Thérèse Bertrand Fontaine
44300 Nantes, FR**

72 Inventor/es:

**EL HARRAK, ABDESLAM y
CRETTEL, CÉSAR ADRIEN CLAUD, RENÉ**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 976 471 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

Pienso o complemento alimenticio para ganado

Campo de la invención

5 La invención se refiere a un pienso o suplemento alimenticio para ganado monogástrico, en particular peces. En particular, la invención se refiere a piensos o complementos alimenticios que permiten la liberación controlada de las sustancias activas que contienen.

Estado de la técnica

10 Es bien sabido que las sustancias fisiológicamente activas pueden utilizarse para complementar la alimentación del ganado con el fin de mejorar el equilibrio nutricional de los animales, permitiéndoles crecer más rápido y ser más robustos frente a los riesgos sanitarios asociados a la cría.

Tales sustancias fisiológicamente activas pueden ser proteínas, lípidos, hidratos de carbono, pero también vitaminas y cualquier forma de suplemento dietético dirigido a prebióticos, probióticos, aminoácidos, antioxidantes u otras moléculas (por ejemplo, aceites esenciales) con un objetivo nutracéutico o terapéutico directo o indirecto.

15 La diversidad de condiciones en las que se ingieren y digieren los alimentos requiere una respuesta adaptada a cada especie y a cada etapa de madurez de los animales.

20 El documento EP 1 696 736 B1 divulga un producto de enriquecimiento para organismos acuáticos como Artemia o rotíferos que a su vez se utilizan como pienso para peces en estado larvario. El objetivo de este producto de enriquecimiento es aumentar el nivel de ácidos grasos, en particular de los tipos DHA y EPA, en los organismos acuáticos objetivo. Comprende una fase lipídica dispersa en un gel acuoso tal que el gel es soluble en agua destilada a 20°C. Este producto libera gradualmente glóbulos lipídicos estables cuando se sumerge en agua. Los glóbulos lipídicos contienen productos activos, en particular ácidos grasos específicos. Por tanto, este producto de enriquecimiento sólo puede contener productos liposolubles y no hidrosolubles.

25 Así pues, existe un interés constante por piensos o complementos alimenticios que incorporen una amplia variedad de nutrientes (proteínas, lípidos, vitaminas, prebióticos, probióticos, etc.), cuyas estructuras y procedimientos de fabricación permiten ofrecer una respuesta adaptada a cada especie y a cada etapa de madurez de los animales.

En particular, para un pienso adecuado para la alimentación y el crecimiento de peces en fase larvaria que contenga todas las sustancias activas y nutrientes hidrosolubles y liposolubles necesarios.

Breve descripción de la invención

La invención se refiere a los siguientes productos y procedimientos descritos en las reivindicaciones, y en particular:

- 30
- un pienso o complemento alimenticio, en forma de objetos O con pilas modulares que permiten la liberación controlada de sustancias nutritivas y/o fisiológicamente activas para los animales, que comprende un núcleo 12 con una fase lipídica L que comprende sustancias nutritivas y/o fisiológicamente activas liposolubles, estando dicha fase lipídica L en forma de partículas 16 dispersas en una matriz acuosa gelificada 18, **caracterizado porque** dicha fase acuosa gelificada 18 es estable en un medio acuoso, **porque** dicha fase acuosa gelificada 18 comprende sustancias nutritivas y/o fisiológicamente activas solubles en agua, **porque** dicho producto comprende un recubrimiento 14 para el núcleo 12, **porque** dicha fase acuosa gelificada 18 comprende una carga mineral exfoliada con una superficie específica superior a 100 m²/g, y **porque** dicha fase acuosa gelificada 18 es estable en un medio acuoso

35

40 la interfaz entre las partículas lipídicas 16 y la fase acuosa 18 comprende tensioactivos seleccionados del grupo de micropartículas minerales, nanopartículas minerales, microfibras orgánicas, nanofibras orgánicas y combinaciones de los mismos.

El pienso o complemento alimenticio se presenta así en forma de objetos O modulares apilados. El núcleo 12 y su recubrimiento 14 juntos forman un producto.

45 Ventajosamente, la fase acuosa gelificada 18 comprende al menos un agente gelificante seleccionado entre cationes multivalentes.

Ventajosamente, la fase acuosa 18 comprende un polisacárido neutro o funcionalizado con una función seleccionada entre el grupo de las funciones carboxilo, sulfonato, alcoholato o fosfato, y preferentemente la función carboxilo, con un contenido comprendido entre el 1 y el 8% en peso, preferentemente entre el 1 y el 5,5% en peso, en particular entre el 1 y el 4% en peso, con relación al peso total de un extracto seco de la fase acuosa 18.

Ventajosamente, dicha fase acuosa 18 se gelifica por reacción de dicho polisacárido neutro o funcionalizado con dichos cationes multivalentes en presencia de pirofosfato o deltagluconolactona, por liberación de protones ácidos por hidrólisis acuosa.

5 Ventajosamente, el contenido de la fase lipídica L dispersa en la fase acuosa 18 está comprendido entre el 5 y el 50% en volumen, y preferentemente entre el 10 y el 30% en volumen con relación al volumen total de dicha fase acuosa 18.

Ventajosamente, los cationes multivalentes se seleccionan del grupo de los cationes calcio, magnesio, zinc, manganeso, hierro y aluminio y combinaciones de los mismos.

10 Ventajosamente, el catión multivalente es una sal de calcio seleccionada del grupo del carbonato, sulfato, lactato, citrato, tartrato, caseinato y estearato.

Ventajosamente, dicha carga mineral exfoliada es un filosilicato y preferentemente una esmectita.

Ventajosamente, dichos tensioactivos son microfibras o nanofibras de celulosa o quitina.

Ventajosamente, dichos tensioactivos tienen un contenido comprendido entre el 0,1 y el 4% en peso y, preferentemente, entre el 0,3 y el 2% en peso con respecto al peso de las partículas lipídicas 16.

15 Ventajosamente, dicho núcleo 12 comprende cargas libres en su superficie, en donde dicho recubrimiento 14 de dicho núcleo 12 comprende n capas C de materiales biocompatibles con un sistema digestivo, cargadas electrostáticamente de forma alternativa positiva y negativamente para formar coacervados en una pila de capas, y en donde n es al menos igual a 1.

20 Ventajosamente, el núcleo 12 comprende cargas libres en su superficie, y en el que el recubrimiento 14 del núcleo 12 comprende n capas C de materiales biocompatibles con una pila alternante de cargas electrostáticas positivas y negativas que forman coacervados reticulados y estructurados como una pila de capas, siendo n al menos igual a 2 y las n capas C comprenden al menos una capa C+ que comprende un material biocompatible M+ con cargas electrostáticas positivas y un agente de reticulación R-seleccionado entre aniones multivalentes, y al menos una capa C- que comprende un material biocompatible M- con cargas electrostáticas negativas y un agente de reticulación R+ seleccionado entre cationes multivalentes.

Ventajosamente, los materiales biocompatibles con un sistema digestivo M+ y M- son biopolímeros cargados.

Ventajosamente, el núcleo 12 comprende un polímero cargado, o proteínas con cargas superficiales o tensioactivos catiónicos, aniónicos o zwitteriónicos.

30 Ventajosamente, el tamaño de dicho producto, a saber, el pienso o el complemento alimenticio, es inferior a 1 mm y, preferentemente, está comprendido entre 10 y 600 micrómetros.

Ventajosamente, el tamaño de dichas partículas lipídicas 16 está comprendido entre 1 y 100 micrómetros, ventajosamente entre 1 y 20 micrómetros y en particular entre 1 y 20 micrómetros.

La invención también se refiere a un procedimiento para preparar un pienso o complemento alimenticio según cualquiera de las reivindicaciones, que comprende las siguientes etapas:

35 (a) preparar una primera emulsión aceite en agua estabilizada por nanopartículas o micropartículas para obtener dichas partículas lipídicas (16);

(b) preparar una fase acuosa que contenga las sustancias activas hidrosolubles y los reactivos gelificantes, añadir la primera emulsión de aceite en agua a esta fase acuosa y homogeneizar el conjunto para obtener una fase acuosa gelificable (18) que contenga una fase lipídica L estabilizada y dispersa;

40 (c) añadir dicha fase acuosa durante la gelificación a una fase oleosa y cizallar el conjunto para obtener una segunda emulsión de partículas acuosas (18) que terminarán de reticularse y solidificarse en el aceite;

(d) separar las partículas acuosas gelificadas (18) de la fase oleosa para obtener los núcleos (12); y

(e) formar el recubrimiento (14) de dichos núcleos (12).

45 La invención también se refiere a un procedimiento para preparar un pienso o un complemento alimenticio, que comprende las etapas siguientes:

(a) preparar una primera emulsión aceite en agua estabilizada por nanopartículas o micropartículas para obtener dichas partículas lipídicas L (16);

(b) preparar una fase acuosa que contenga las sustancias activas hidrosolubles y los reactivos gelificantes, añadir la primera emulsión de aceite en agua a esta fase acuosa y homogeneizar el conjunto para obtener una fase acuosa gelificable (18) que contiene una fase lipídica L estabilizada y dispersa;

(b') dejar reposar dicha fase acuosa para obtener una fase acuosa gelificada (18);

5 (c') introducir dicha fase acuosa gelificada (18) en un mezclador, opcionalmente con un volumen de agua que incorpore agentes osmóticos, siendo ventajosamente dicho volumen de agua inferior a 5 veces el volumen de dicha fase acuosa gelificada (18), y mezclar hasta obtener núcleos (12) del tamaño deseado; y

(e) formar el recubrimiento 14 de dichos núcleos (12).

10 La fase acuosa gelificada 18 de los productos comprende diversas sustancias nutritivas o fisiológicamente activas, incluidos polipéptidos de muy bajo peso molecular, por ejemplo oligopéptidos con un peso molecular inferior a 500 Da, capaces de migrar rápidamente hacia el exterior de los productos cuando éstos se dispersan en agua. Del mismo modo, moléculas muy pequeñas, como el oxígeno, pueden penetrar en los productos y oxidar las sustancias que contienen.

15 Para contrarrestar estos movimientos, el pienso o complemento alimenticio según uno de los productos según la invención comprende varios elementos.

La primera es la presencia de cargas minerales exfoliadas, como las arcillas y en particular los filosilicatos, con una superficie específica elevada, superior a 100 m²/g y hasta 800 m²/g en función de la calidad de su exfoliación. Estas arcillas contienen silanoles (para enlaces de hidrógeno) o cargas en sus superficies y bordes que atrapan moléculas pequeñas y forman agregados moleculares, lo que ralentiza su difusión.

20 La segunda característica es que la fase acuosa 18 está gelificada, es decir, comprende una red tridimensional de largas cadenas macromoleculares reticuladas, como resultado de lo cual la fase acuosa 18 está compartimentada en pequeños volúmenes a escala de agregados, es decir, del orden de 50 nm a 1 µm. Esta red reticulada, unida al elemento anterior y al recubrimiento 14 del núcleo 12, garantiza una excelente estabilidad de la fase acuosa 18 de los productos frente a la difusión de moléculas oxidantes procedentes del exterior, pero sobre todo permite controlar los riesgos de lixiviación de nutrientes, especialmente cuando se sumergen en agua, al tiempo que favorece la liberación controlada de nutrientes a lo largo del tubo digestivo.

25 Ventajosamente, la presencia de agentes gelificantes como los cationes multivalentes, que también formarán complejos con varias moléculas pequeñas que ya han formado complejos con las capas de carga mineral y aumentarán así el tamaño y/o el número de agregados moleculares, mejora aún más la estabilidad de la fase acuosa de los productos.

30 Estos procedimientos de fabricación también respetan la integridad de todos los nutrientes y sustancias activas del pienso o complemento alimenticio.

35 Los complementos alimenticios y los piensos producidos según la invención permiten así mantener intactas las sustancias activas útiles para el crecimiento de las especies objetivo. Así, estas especies son más resistentes frente a los riesgos sanitarios de la cría, por ejemplo en el caso de los peces larvarios.

Descripción de las figuras

La invención se describe a continuación con la ayuda de las Figuras 1 a 9, que se dan únicamente a título ilustrativo:

- la [Fig. 1] muestra esquemáticamente una sección transversal, sin respetar las dimensiones respectivas, de un producto según uno de los objetos de la invención;
- 40 • la [Fig. 2] muestra esquemáticamente una realización de un recubrimiento del núcleo del producto mostrado en la Fig. 1;
- la [Fig. 3] muestra un diagrama esquemático de un procedimiento de fabricación del producto mostrado en la Fig. 1;
- la [Fig. 4] muestra un análisis de la dispersión de partículas lipídicas estabilizadas con quitina;
- 45 • la [Fig. 5] muestra una imagen de microscopía óptica de partículas lipídicas antes de su dispersión en una fase acuosa gelificada;
- la [Fig. 6] muestra curvas para monitorizar el comportamiento reológico de una fase acuosa gelificada;
- la [Fig. 7] muestra la distribución de tamaños de los núcleos del producto mostrado en la Figura 1;

- la [Fig. 8] muestra la monitorización conductimétrica de dosis añadidas de biopolímeros cargados en el agua;
- la [Fig. 9] muestra la evolución de la conductividad de partículas reticuladas, dispersas en agua, en función de las dosis añadidas de biopolímeros cargados; y
- la [Fig. 10] muestra la evolución de la cantidad de proteína liberada para los productos con y sin recubrimiento.

5 **Descripción detallada de la invención**

Las distintas partes constituyentes de los piensos o complementos alimenticios según la invención se denominarán "objeto" o "elemento".

Los piensos y complementos alimenticios según la invención, obtenidos apilando diferentes objetos, se denominarán "productos".

10 Por "gel" entendemos un material compuesto principalmente por líquido, pero que se comporta como un sólido gracias a una red tridimensional enredada en el líquido. Son estos enredos los que confieren a los geles su estructura y propiedades. La red tridimensional de sólidos diluidos en el líquido puede ser el resultado de enlaces químicos o físicos, o de pequeños cristales u otros enlaces que permanecen intactos en el líquido de dispersión.

15 En el contexto de la presente invención, el término "carga mineral exfoliada" se refiere a una carga mineral que ha sufrido una exfoliación, es decir, una separación más o menos completa de sus láminas individuales. El procedimiento de exfoliación suele constar de tres fases:

- (1) Prehinchado de láminas de filosilicato mediante hinchado en agua,
- (2) Adsorción de una molécula hidrófoba en la superficie de las partículas de filosilicato, para hacerla compatible con la fase de dispersión lipídica, por ejemplo la lecitina, y
- (3) La adición de energía de cizallamiento para separar las partículas de filosilicato en solución.

20 En el contexto de la presente invención, el área superficial específica (Ss), también llamada "área de masa", representa el área superficial del objeto (As) por unidad de masa (M) y se expresa generalmente en m²/g. La superficie específica se refiere a la superficie real de la superficie accesible de un objeto, por oposición a su superficie aparente.

25 La figura 1 muestra una sección transversal esquemática de un producto según uno de los objetos de la invención, sin respetar las dimensiones respectivas de cada fase.

Este producto 10 comprende un núcleo 12 y un recubrimiento del núcleo 14. El núcleo 12 comprende una fase lipídica L en forma de partículas esféricas estabilizadas 16 dispersas en una matriz acuosa 18.

Un primer elemento u objeto de este producto 10 es la presencia de partículas lipídicas 16 dispersas en la fase acuosa o matriz 18.

30 Según realizaciones preferentes, las partículas lipídicas 16 tienen una forma sustancialmente esférica y un diámetro de entre 1 y 20 µm.

Las partículas lipídicas 16 pueden contener ventajosamente vitaminas y antioxidantes.

35 Las partículas lipídicas 16 comprenden uno o más aceites vegetales o animales seleccionados preferentemente entre aceites con un alto contenido en omega-6 y omega-3. Preferentemente, estas partículas lipídicas 16 tienen un alto contenido en omega 6 y omega 3, en particular de los tipos DHA y EPA. El contenido de omega 3 es preferiblemente superior al 15% en peso basado en el peso de la fase lipídica L, es decir, las partículas lipídicas 16.

40 Las partículas lipídicas 16, y más concretamente las interfaces entre las partículas lipídicas 16 y la matriz acuosa 18, comprenden tensioactivos seleccionados del grupo de micropartículas minerales, nanopartículas minerales, microfibras orgánicas, nanofibras orgánicas y combinaciones de las mismas. Estos tensioactivos estabilizan el tamaño de las partículas lipídicas 16 durante la preparación de los piensos o complementos alimenticios 10, pero también reducen en gran medida la migración de nutrientes y sustancias fisiológicamente activas entre las dos fases L y 18.

Según una realización preferente, estos tensioactivos son micropartículas o nanopartículas, al menos una de cuyas dimensiones es inferior a 50 µm, que se encontrarán principalmente en la interfaz entre las dos fases. Estas partículas actúan como agentes estabilizadores de superficie en las llamadas emulsiones Pickering.

45 Estos tensioactivos pueden ser ventajosamente microfibras o nanofibras de celulosa o de quitina, ventajosamente de quitina, con un contenido en peso comprendido entre el 0,1 y el 4% en peso, y preferentemente entre el 0,3 y el 2% en peso con relación al peso de las partículas lipídicas 16.

Preferiblemente, las microfibras o nanofibras tienen un factor de forma superior a 10.

Preferiblemente también, las microfibras tienen una longitud de entre 1 y 50 micrómetros y un diámetro de entre 100 nanómetros y 1 micrómetro. Por ejemplo, las microfibras de quitina tienen una longitud de unos 20 μm y un diámetro de 100 nanómetros a 1 μm .

- 5 También pueden utilizarse nanofibras, por ejemplo las nanofibras de quitina utilizadas en este ejemplo tienen un factor de forma de 10 a 40, un diámetro del orden de 10 nanómetros y una longitud de 50 a 300 nanómetros.

Una segunda característica u objeto del producto 10 es comprender una fase acuosa 18 que contiene sustancias activas solubles en agua, agentes gelificantes, una carga mineral exfoliada con una superficie específica elevada, es decir, una superficie específica superior a 100 m^2/g , y ventajosamente agregados moleculares formados con cationes multivalentes.

- 10 Los términos "fase acuosa" y "matriz acuosa" (18) se utilizan indistintamente.

Ventajosamente, la matriz acuosa 18 tiene una forma sustancialmente esférica o no esférica dependiendo del procedimiento de fabricación y tiene un diámetro inferior a 1 mm y preferiblemente entre 10 y 600 μm .

La gelificación de la fase acuosa 18 limita la fuga de nutrientes y sustancias activas al exterior cuando se sumerge en un medio acuoso.

- 15 Según una realización preferente, la fase acuosa 18 comprende un polisacárido neutro o funcionalizado con al menos una función seleccionada entre las funciones carboxilo, sulfonato, alcoholato o fosfato, y preferentemente la función carboxilo con un contenido comprendido entre el 1 y el 8% en peso, preferentemente entre el 1 y el 5,5% en peso en relación con el peso total de un extracto seco de la fase acuosa 18.

- 20 Ventajosamente, la fase acuosa 18 se gelifica (retícula) por reacción del polisacárido con reactivos tales como cationes multivalentes en presencia de pirofosfato o deltagluconolactona, por liberación de protones ácidos por hidrólisis acuosa.

Preferiblemente, los cationes multivalentes se seleccionan del grupo de los cationes de calcio, magnesio y zinc y combinaciones de los mismos.

- 25 Ventajosamente, el catión multivalente es una sal de calcio seleccionada del grupo del carbonato, sulfato, lactato, citrato, tartrato, caseinato y estearato.

Según una realización preferente, la emulsión de partículas lipídicas 16 dispersas en la fase acuosa 18 comprende proteínas específicas destinadas a modificar las propiedades de las interfaces entre las partículas lipídicas 16 y la fase acuosa 18. Estas propiedades pueden ser la permeabilidad, las cargas electrostáticas superficiales, la tensión superficial, las funciones químicas, la rugosidad, etc.

- 30 La masa molecular y el p*K*_i de estas proteínas pueden utilizarse como criterios de selección. Por ejemplo, pueden utilizarse proteínas BSA (Bovine Serum Albumine) con una masa molecular de unos 66 kDa y un p*K*_i de 5,2; también pueden utilizarse proteínas de lisozima con una masa molecular de unos 14 kDa y un p*K*_i de 11,35. Estas proteínas se añaden a la fase acuosa 18 una vez establecida la emulsión de Pickering.

- 35 La fase acuosa gelificada 18 comprende una carga mineral exfoliada con una superficie específica superior a 100 m^2/g , ventajosamente entre 200 y 500 m^2/g ,

Esta carga mineral puede elegirse del grupo de los filosilicatos, y preferentemente el filosilicato es una esmectita.

La carga mineral puede tener un contenido en la fase acuosa 18 comprendido entre el 0,5 y el 35% en peso y, preferentemente, inferior al 15% en peso, en relación con el peso total de la fase acuosa 18 (en su formulación completa).

- 40 La presencia de esta carga mineral en la matriz acuosa 18 tiene varias ventajas importantes. En primer lugar, la carga ayuda a controlar la flotabilidad de los productos 10 cuando se utilizan en acuicultura. También aumenta la resistencia de los productos 10 a la acción del oxígeno al reducir considerablemente su cinética de difusión en el núcleo 12 de los productos 10 y actúa como barrera física para limitar el escape de pequeñas moléculas de nutrientes y sustancias activas. Por último, la superficie desarrollada muy elevada de las láminas de esmectita permite microestructurar la matriz acuosa 18 a escala nanométrica, lo que permite compartimentar e influir en la cinética de digestibilidad de la matriz acuosa 18 mediante interacciones entre las láminas cargadas positivamente en los laterales de las láminas y las láminas cargadas negativamente en la superficie de las láminas con el alginato.

Preferiblemente, el contenido de la fase lipídica L dispersa en la matriz acuosa 18 está comprendido entre el 5 y el 50% en volumen, y preferiblemente entre el 10 y el 30% en volumen, en relación con el volumen total del núcleo 12.

- 50 Por debajo del 5% en volumen, el volumen de la fase lipídica L ya no es suficiente para introducir fácilmente las sustancias activas liposolubles y para tener una buena homogeneidad de composición de los núcleos 12 de los productos 10.

ES 2 976 471 T3

Por encima del 50%, resulta mucho más difícil mantener una emulsión de aceite dispersa en la fase acuosa 18 (riesgo de inversión de fase).

La fase acuosa gelificada 18 puede contener sustancias activas hidrófilas como proteínas, aminoácidos, vitaminas, prebióticos, probióticos, antioxidantes y combinaciones de los mismos.

5 Ventajosamente, la fase acuosa 18 también comprende un agente osmótico.

Este agente osmótico puede seleccionarse del grupo de azúcares, sales, polímeros solubles en agua, preferentemente con un peso molecular inferior a 150 kg/mol, y combinaciones de los mismos.

10 Una elección preferente de agente osmótico puede ser el sorbitol con un contenido inferior al 5% en peso en relación con el peso de la solución acuosa, es decir, de la fase acuosa 18 (en su formulación completa) para no hacer indigesto el producto final. Un contenido de sorbitol de entre 0,8 y 1,5% en peso es óptimo. También puede utilizar sal de Guérande, que también aporta sales minerales útiles.

La tercera característica de este producto 10 es que comprende un recubrimiento 14 para el núcleo 12.

15 Ventajosamente, el núcleo 12 comprende cargas libres en la superficie, el recubrimiento 14 del núcleo 12 comprende n capas C de materiales M+ y M- con un sistema digestivo, en particular biopolímeros, que tienen una pila alternante de cargas electrostáticas positivas y negativas que forman coacervados estructurados como una pila de capas, y n es al menos igual a 1.

Este recubrimiento 14 puede comprender n capas C de materiales biocompatibles M+ y M-, en particular biopolímeros, con un apilamiento alternado de cargas electrostáticas positivas y negativas que forman coacervados reticulados estructurados como un apilamiento de capas, siendo n al menos igual a 2.

20 La(s) capa(s) C+ que comprende(n) el material biocompatible con cargas electrostáticas positivas M+ comprende(n) un agente de reticulación R- seleccionado entre aniones multicargados.

La capa o capas C- que comprenden el material biocompatible con cargas electrostáticas negativas M- comprenden un agente de reticulación R+ seleccionado entre cationes multivalentes.

25 Así pues, cada capa C comprende un material biocompatible M con cargas electrostáticas, es decir, un material biocompatible portador de grupos funcionales ionizables e ionizables en las condiciones fisicoquímicas adecuadas. Estas cargas pueden ser cargas electrostáticas positivas, en cuyo caso el material biocompatible, denotado M+, comprende grupos funcionales catiónicos, como funciones aminas, por ejemplo. Estas cargas pueden ser cargas electrostáticas negativas, en cuyo caso el material biocompatible, denotado M-, comprende grupos funcionales aniónicos, como funciones de ácido carboxílico, sulfonato, alcoholato o fosfato.

30 Cada capa C comprende, además del material biocompatible M, un agente de reticulación R. Este agente de reticulación comprende también cargas electrostáticas, con cargas opuestas a las del material M. Sin embargo, la carga electrostática total de la capa C corresponde a la del material M. De hecho, en la capa C, la relación (número de cargas electrostáticas del material biocompatible, señalado nM/número de cargas electrostáticas del agente de reticulación, señalado nR) (es decir, nM/nR) es estrictamente superior a 1, ventajosamente superior a 2, más
35 ventajosamente superior o igual a 5.

40 Así, la capa que comprende el material M+, denominada capa C+, también comprende un agente de reticulación que comprende cargas negativas, denominado R-. En general, la capa C+ está cargada positivamente. En la capa C+, la relación (número de cargas electrostáticas positivas del material biocompatible nM+/número de cargas electrostáticas negativas del agente de reticulación nR-) (es decir, nM+/nR-) es estrictamente superior a 1, ventajosamente superior a 2 y más ventajosamente superior o igual a 5.

45 Así, la capa que comprende el material M-, denominada capa C-, también comprende un agente de reticulación que comprende cargas positivas, denominado R+. La capa C- está cargada negativamente en general. En la capa C-, la relación (número de cargas electrostáticas negativas del material biocompatible nM-/número de cargas electrostáticas positivas del agente de reticulación nR+) (es decir, nM-/nR+) es estrictamente superior a 1, ventajosamente superior a 2 y más ventajosamente superior o igual a 5.

En cada tipo de capa C, la modulación de la relación nM/nR, ya sea nM+/nR- o nM-/nR+, permite modular la rigidez del recubrimiento 14. Por ejemplo, cuando el agente de reticulación se añade en una cantidad que da una relación nM/nR de 5/1, se obtiene un recubrimiento muy rígido, y cuando el agente de reticulación se añade en una cantidad que da una relación nM/nR de 100/1, se obtiene una malla mucho más flexible.

50 La relación nM/nR varía ventajosamente de 2/1 a 300/1, más ventajosamente de 5/1 a 150/1.

Este sistema de recubrimiento 14 tiene la ventaja de facilitar la modulación del espesor de la capa de recubrimiento 14 y la amplia elección de materiales biocompatibles, en particular biopolímeros, M+ y M-, permite modular la malla de materiales biocompatibles, en particular biopolímeros, M+ y M-, en la superficie, que también se rigidiza mediante

- una reticulación más o menos fuerte de esta malla. Modular la rigidez del recubrimiento 14 permite modular la liberación de nutrientes y/o sustancias fisiológicamente activas: cuanto más densa sea la rigidez, menor será la malla de biopolímeros y más lenta la liberación. Este tipo de recubrimiento 14, reticulado y estructurado en multicapas C, permite también obtener la estabilidad estructural necesaria para la conservación del pienso 10 hasta su consumo y para la liberación de sustancias nutritivas y/o fisiológicamente activas, y en particular para su manipulación.
- 5 El agente de reticulación R+ se selecciona entre cationes multivalentes. Ventajosamente, los cationes multivalentes se seleccionan del grupo de los alcalinotérreos, metales de transición y metales pobres.
- Muy ventajosamente, los cationes multivalentes se seleccionan del grupo de los cationes calcio, magnesio, manganeso, hierro, cobre, zinc y aluminio y combinaciones de los mismos.
- 10 Cabe señalar que los cationes multivalentes pueden ser proporcionados por sales que también incluyen un anión. Lo importante es que el compuesto utilizado permita la liberación de un catión que pueda reaccionar con las cargas negativas del material biocompatible M- y contribuir así a la reticulación de la capa C-.
- 15 El agente de reticulación R- se selecciona entre los aniones multicargados. Por "anión multicargado" entendemos un compuesto químico que comprende varios grupos funcionales cargados negativamente. El grupo funcional puede ser monovalente o multivalente. En una realización preferente, los aniones multicargados son polifosfatos. Preferentemente, el agente de reticulación R- se selecciona entre trimetafosfato sódico (STMP), hexametafosfato sódico y mezclas de los mismos, preferentemente trimetafosfato sódico (STMP).
- 20 Ventajosamente, en cada capa C+, el material biocompatible M+ es un biopolímero, en particular seleccionado entre polisacáridos cargados positivamente, ventajosamente seleccionados entre polipéptidos, quitosano, derivados de la quitina, gomas utilizadas como agentes texturizantes funcionalizados con aminas, como la goma guar funcionalizada, y mezclas de los mismos. Más ventajosamente, el material biocompatible M+ se selecciona entre el quitosano.
- Ventajosamente, en cada capa C+, el biopolímero M+ es quitosano y el agente de reticulación R- es ventajosamente trimetafosfato sódico (SMTP).
- 25 Ventajosamente, en cada capa C-, el material biocompatible M- es un biopolímero, en particular seleccionado entre polisacáridos cargados negativamente, ventajosamente seleccionados entre polipéptidos, pectina, goma arábica, xantano, alginatos, carragenanos, derivados de celulosa y mezclas de los mismos. Más ventajosamente, el material biocompatible M- se selecciona entre alginatos, pectina y mezclas de los mismos.
- Ventajosamente, en cada capa C-, el biopolímero M- se selecciona entre alginatos o pectina, y el agente de reticulación R+ se selecciona ventajosamente entre cationes de calcio.
- 30 Ventajosamente, en cada capa C+, el agente de reticulación R- se introduce en un contenido específico que permite obtener una relación $nM+/nR-$ comprendida entre 5/1 y 150/1. En particular, en cada capa C+, el agente de reticulación R- se introduce con un contenido de entre 0,5 g y 2 g por 1 g de M+ para índices de reticulación altos, y de entre 15 y 70 mg por 1 g de M+ para índices de reticulación bajos.
- 35 Ventajosamente, en cada capa C-, el agente de reticulación R+ se introduce en un contenido específico que permite obtener una relación $nM-/nR+$ comprendida entre 5/1 y 150/1. En particular, en cada capa C-, el agente de reticulación R+ se introduce con un contenido de entre 0,5 g y 2 g por 1 g de M- para índices de reticulación altos, y de entre 15 y 70 mg por 1 g de M- para índices de reticulación bajos.
- Ventajosamente, las capas C comprenden enlaces entre el material M y el agente de reticulación R por formación de complejos metálicos para la capa C- o por puente químico para la capa C+.
- 40 Preferiblemente, n es menor o igual que 15, ventajosamente entre 2 y 15, y preferiblemente entre 2 y 10. n es un número entero.
- Este número variable de capas C es adecuado para obtener un buen compromiso entre la calidad de la encapsulación y la liberación controlada en el tubo digestivo, permitiendo al mismo tiempo un procesamiento fácil.
- 45 La capa exterior de este recubrimiento 14 consiste preferentemente en un polímero cargado positivamente, es decir, una capa C+, ya que tiene propiedades antibacterianas y mejora así la conservación del pienso o complemento alimenticio.
- 50 El uso de dos productos químicos de reticulación, formación de complejos metálicos y puente químico, para el recubrimiento 14 hace posible desencadenar la liberación de nutrientes en función del progreso en el ciclo de digestión. De este modo, la digestión de las proteínas se ve favorecida por la liberación de iones metálicos multivalentes (que forman complejos con donantes de electrones) en un medio ácido, lo que aumenta la permeabilidad del 14 recubrimiento al ácido presente en el estómago, al tiempo que retrasa la liberación de la digesta, ya que la capa de policationes permanece reticulada por los puentes de fosforamida obtenidos por la acción del trimetafosfato de sodio (STMP). Estos últimos puntos de reticulación se liberan por la acción de las enzimas fosfatasa alcalinas, generalmente secretadas por el hígado y vertidas al tubo digestivo a través de la bilis. De este modo, el pienso o

suplemento alimenticio libera sus nutrientes predigeridos en el tracto digestivo con una cinética más lenta, favoreciendo la eficacia de absorción y las vías metabólicas más favorables para el rendimiento zootécnico de los animales objetivo.

5 Ventajosamente, el núcleo 12 también comprende un polímero cargado, o proteínas con cargas superficiales o tensioactivos catiónicos, aniónicos o zwitteriónicos.

Los biopolímeros cargados también pueden añadirse específicamente al núcleo 12 para generar estas cargas superficiales positivas. Se elegirán entre los biopolímeros aniónicos o catiónicos mencionados anteriormente, es decir, M+ y M-, pero también entre los biopolímeros que combinan cargas positivas y negativas, como en el ácido hialurónico. Esto permite modular las cargas residuales o libres ajustando las condiciones de pH del medio o mediante el equilibrio estequiométrico de los sistemas de formación de complejos en la fase acuosa gelificada 18.

El recubrimiento 14 también puede comprender al menos una capa de material de refuerzo MR.

Estos materiales de refuerzo MR pueden elegirse del grupo de las arcillas, sílices y microfibras minerales u orgánicas rellenas.

15 Estos materiales de refuerzo tienen un predominio de cargas electrostáticas negativas en sus superficies y son así atraídos por las cargas superficiales positivas de un biopolímero catiónico M+. Por lo tanto, se puede colocar una capa de materiales de refuerzo MR entre dos capas de biopolímeros catiónicos C+.

El principio de integrar materiales de refuerzo MR con cargas electrostáticas negativas en su superficie sigue siendo posible, se colocarán entre dos capas de biopolímeros C- aniónicos.

20 Este recubrimiento 14 consiste por tanto en capas C+ y C- de biopolímeros M+ y M-, ventajosamente polisacáridos, y opcionalmente materiales de refuerzo MR, alternativamente cargados positiva y negativamente. En el estómago del animal, el pH es ácido y es la malla de biopolímeros M+ cargados positivamente la más resistente a este pH ácido y la que garantiza la integridad del recubrimiento.

25 Las capas C- del recubrimiento 14 están bloqueadas por cationes como el Ca⁺⁺. Estos cationes se disuelven en un medio ácido, por lo que al llegar a un medio básico (los intestinos) se produce una verdadera liberación de todas las capas C del recubrimiento 14. En cuanto se produce una brecha en el recubrimiento 14, las enzimas biliares son capaces de penetrar hasta el núcleo y provocar la liberación de la fase acuosa 18, así como de sus nutrientes y sustancias activas, lo que conduce muy rápidamente a la liberación de las partículas lipídicas 16 de la fase acuosa 18, así como de sus nutrientes y sustancias activas. Este recubrimiento 14 garantiza, por tanto, la rápida liberación de todos los nutrientes y sustancias activas en la zona del intestino de los animales monogástricos donde su absorción será más eficaz.

Este producto 10 tiene un gran potencial para la sustitución eficaz de presas vivas en criaderos de especies de peces marinos, así como para criaderos de camarones. También es de gran interés para complementar el agua potable en explotaciones monogástricas como las avícolas.

35 La figura 2 ilustra la formación del recubrimiento 14 sobre los núcleos 12 mediante adiciones sucesivas de biopolímeros M+ cargados positivamente y M- cargados negativamente, ventajosamente polisacáridos.

La parte izquierda de la figura muestra un núcleo 12 del primer producto 10. Este núcleo 12 comprende cargas superficiales libres, preferentemente positivas.

Este núcleo se dispersa en una solución acuosa, a la que se añade una solución de biopolímeros 52 cargados negativamente, por ejemplo polisacáridos como alginatos, xantanos, carboximetilcelulosas, etc.

40 Por interacciones electrostáticas, el biopolímero cargado negativamente cubrirá la superficie del núcleo 12 formando un coacervado, con un exceso de cargas negativas que servirán de base para la siguiente etapa.

Una solución de biopolímero, ventajosamente polisacárido, cargado positivamente 54 (M+), se introduce entonces en la dispersión con el núcleo 12 ahora cargado negativamente en la superficie. Esto cubrirá la capa aplicada anteriormente.

45 La operación se repite, alternando soluciones de biopolímeros cargados positivamente (M+) y negativamente (M-) hasta que se obtiene un recubrimiento 14 que comprende el número deseado n de capas C. Normalmente n está entre 2 y 10.

La figura 3 muestra las distintas etapas de la fabricación del producto 10.

50 Los núcleos 12 del producto 10 se preparan a partir de una emulsión doble de aceite en agua en aceite. La primera emulsión de aceite en agua se estabiliza mediante tensioactivos, como micropartículas o nanopartículas, y a continuación, opcionalmente, las interfaces entre las partículas lipídicas 16 y la matriz acuosa 18 se modifican incorporando proteínas específicas a la fase acuosa 18. A continuación, los núcleos 12 se obtienen mediante una

emulsión doble estabilizada por gelificación de la fase acuosa. Las partículas, es decir, los núcleos 12, se recuperan separando la fase oleosa del agua de lavado, por ejemplo mediante centrifugación. A continuación, se aplica un recubrimiento 14. Los agentes de superficie estabilizadores para la primera emulsión son ventajosamente quitina o microfibras de celulosa.

5 A continuación se describe un ejemplo de realización.

En la etapa (a), se prepara en una botella una fase acuosa 18 que contiene una concentración de nanofibras de celulosa o quitina de entre el 0,1% y el 0,6% en peso en relación con el peso total de la fase acuosa 18. A esta botella se añade el volumen necesario de una mezcla de aceites adecuada para obtener una composición con niveles de ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido eicosapentaenoico (EPA) apropiados para el objetivo seleccionado. Tenemos un 30% de aceite en volumen y un 70% de agua en volumen.

Las nanofibras de quitina utilizadas tienen un factor de forma de 10 a 40, un diámetro del orden de 10 nanómetros y una longitud de 50 a 300 nanómetros.

La homogeneización se realiza utilizando un sistema rotor-estator Silverson tipo L5M-A para obtener un alto cizallamiento a 10.000 rpm (revoluciones por minuto) durante 10 min. Se deja reposar durante 20 min y, a continuación, se homogeneiza de nuevo durante 10 min a la misma velocidad.

Las emulsiones se caracterizaron en el granulómetro Malvern Mastersizer 3000 con dispersión líquida por hidrógeno EV, utilizando el software de determinación del tamaño del aparato (ecuación de Fraunhofer).

La Figura 4 muestra los resultados del análisis del tamaño de las partículas lipídicas 16 obtenidas con la estabilización con microfibras de quitina. La curva C1 corresponde a una concentración de quitina del 0,1% en peso sobre el peso de la fase acuosa 18, la curva C2 al 0,2% en peso, la curva C3 al 0,3% en peso y la curva C4 al 0,6% en peso.

Las partículas 16 más monodispersas se obtienen a partir de 0,3% en peso de quitina en solución, para un tamaño de pico de entre 5 y 6 µm.

Los tamaños medios de las partículas lipídicas 16 obtenidas por estabilización con celulosa son más pequeños, entre 2 y 3 micras, y las emulsiones son estables a partir de 0,1% en peso de agente estabilizante.

25 En la etapa opcional (a'), la permeabilidad de las partículas lipídicas 16 se modula incorporando proteínas específicas a la fase acuosa 18. Trabajando a pH 7, utilizamos proteínas de lisozima para las emulsiones estabilizadas con microfibras de celulosa y proteínas BSA (Bovine Serum Albumine) para las emulsiones estabilizadas con microfibras de quitina. Esto favorece las interacciones electrostáticas con las cargas superficiales negativas de la celulosa, o las cargas positivas de la quitina.

30 La Figura 5 muestra una imagen de microscopio óptico, sin que se observe agregación.

Estas partículas pueden utilizarse para fabricar el producto alimenticio 10.

En la etapa (b), se prepara una fase acuosa 18 gelificada (reticulada) como sigue: En un vaso de precipitados, se dispersa en agua el 20% en peso, en relación con el peso de la fase acuosa, de una mezcla de proteínas correspondientes al objetivo de ingesta de aminoácidos; se añade un 2% en peso de alginato de sodio; se añade un 1% en peso de agente osmótico, por ejemplo sorbitol.

La solución se mezcla con un batidor como el utilizado en un robot de cocina Kenwood hasta que esté completamente homogénea.

40 La emulsión preparada en la etapa (a) se añade de manera que proporcione un 10% en peso de lípidos con respecto al peso de la fase acuosa 18; se añaden los nutrientes adicionales (del 2 al 15% en peso con respecto a la fase acuosa); y la mezcla se homogeneiza con un batidor durante 5 a 10 min.

Se prepara por separado una dispersión del 30% en peso de arcilla (montmorillonita o bentonita) en una fase acuosa que contiene un 0,5% en peso de goma guar. El equivalente al 2% en peso, basado en el peso de la fase acuosa del vaso, de la dispersión de arcilla se añade a la fase acuosa del vaso.

Se batien todos los ingredientes. La solución puede trabajarse de 5 a 10 minutos.

45 A continuación, se añaden simultáneamente 0,5% en peso de pirofosfato y 2% de sulfato de calcio, y se bate toda la mezcla durante 1 a 2 minutos.

La cinética de solidificación de la alimentación se caracterizó utilizando el reómetro ARES-G2 de TA-instrument, con el cono/plano móvil de 40 mm². Se aplicó un cizallamiento rotacional de 5° a una frecuencia de 1 Hz, y se midió el cambio de fuerza a lo largo del tiempo.

ES 2 976 471 T3

La figura 6 muestra curvas de seguimiento del comportamiento reológico de la fase acuosa gelificada 18 en el caso de una fase obtenida con un 2% en peso de alginato y un 15% en peso de proteínas en relación con el peso total de la fase acuosa. Esta figura muestra los módulos G' y G'' medidos en función del tiempo.

5 A tiempos de observación cortos, se observa la desestructuración del gel polielectrolito/proteína, con una disminución de la fuerza de cizallamiento G' , marcando varias etapas. La fuerza volvió a aumentar a los 3.800 segundos, lo que refleja la aparición de un dominio de reticulación percolante entre las dos placas de cizallamiento. Esta reticulación parece alcanzar la saturación a los 8300 segundos, tras lo cual se produce un estancamiento, probablemente relacionado con el desacoplamiento de la muestra solidificada de la pared del cono/plano.

10 De ello se deduce que la mezcla puede trabajarse durante aproximadamente una hora sin riesgo de destruir el mecanismo gelificante, y con dos horas consecutivas de reposo se alcanza el nivel máximo de rigidez.

15 En la etapa (c), la fase acuosa gelificada 18 obtenida en la etapa (b) se inyecta en una fase oleosa y el conjunto se cizalla fuertemente para obtener una segunda emulsión de partículas acuosas gelificadas en aceite: Se vierte en un vaso de precipitados un volumen de fase oleosa, preferentemente aceite de girasol, correspondiente a tres veces el volumen de la fase acuosa gelificada 18 obtenida en la etapa (b); se añade la fase acuosa gelificada 18 y se mezcla la solución en un mezclador rotor-estator de alto cizallamiento del tipo Silverson, L5M-A durante 5 min a 2.800 rpm (revoluciones por minuto).

Dejar reposar durante 30 minutos; volver a cizallar en una mezcladora de alto cizallamiento durante 5 minutos y dejar reposar durante 120 minutos.

20 Opcionalmente, el final de las reacciones de reticulación también puede obtenerse más rápidamente aumentando la temperatura de las partículas acuosas.

En la etapa (d), se obtienen las partículas acuosas reticuladas, los núcleos 12 de los productos 10, que se recuperan transfiriendo las partículas a agua de lavado y separando la fase oleosa, por ejemplo mediante centrifugación: Verter la mezcla anterior en un recipiente/reactor grande y añadir un volumen de agua igual al doble del volumen de la fase oleosa. El agua contiene un 1% en peso de agente osmótico, preferentemente sorbitol.

25 La solución bifásica se homogeneiza y luego se centrifuga a 1000 g durante dos minutos. Los núcleos 12 centrifugados migran a la fase acuosa.

Se eliminan el sobrenadante correspondiente al aceite y el sobrenadante de agua de lavado, conservando los núcleos 12.

Esta purificación de las partículas se repite dos veces con agua suplementada con 1% de sorbitol.

30 En cada caso, se eliminan la fase oleosa y el sobrenadante acuoso.

Finalmente, las partículas sedimentadas se añaden a una fase acuosa cuyo volumen es el doble del de las partículas sedimentadas. El agua contiene un 1% de sorbitol y un 0,05% de quitosano (agente estabilizador antibacteriano).

Los núcleos pueden almacenarse a +4°C.

35 Las partículas se caracterizan en el analizador de tamaño de partículas Malvern Mastersizer 3000 con dispersión líquida por hidro EV, utilizando el software de determinación de tamaño del aparato (ecuación de Fraunhofer). La figura 7 muestra los resultados obtenidos.

40 El tamaño medio de las partículas en fase acuosa, los núcleos, obtenidos con una velocidad de rotación de 2000 rpm es de 480 μm . El tamaño medio puede reducirse aumentando la velocidad de cizallamiento de la solución, disminuyendo la viscosidad de la solución de alginato (fase dispersa) o aumentando la viscosidad de la fase continua (aceite).

Las partículas así obtenidas pueden almacenarse en frío (4°C), o utilizarse para la etapa de recubrimiento por deposición de una capa de biopolímero capa por capa.

45 Según una variante de fabricación ilustrada en la Figura 3, después de preparar la fase acuosa gelificable 18 (etapa (b)), la matriz acuosa 18 se deja reposar hasta que se haya gelificado completamente (etapa (b')), después la matriz acuosa 18 se tritura en una batidora de cuchillas o licuadora, opcionalmente con un volumen de agua que contenga un agente osmótico apropiado (sorbitol o cloruro sódico), hasta obtener el tamaño de núcleo deseado (etapa (c')). El volumen adecuado de agua corresponde al volumen de agua necesario para alcanzar el equilibrio osmótico con la matriz acuosa 18 y/o para obtener el tamaño de núcleo deseado. El volumen apropiado de agua es ventajosamente inferior a 5 veces el volumen de dicha fase acuosa 18.

50 En la etapa (e), el recubrimiento 14 de los núcleos 12 se forma por dispersión en un baño acuoso en el que se introducen sucesivamente soluciones de materiales biocompatibles M+ catiónicos y M- aniónicos:

ES 2 976 471 T3

El procedimiento se describe para 100 g de partículas acuosas dispersadas en 300 g de agua suplementada con 1% de sorbitol.

Se utiliza un agitador que favorece una buena homogeneización sin inducir un cizallamiento excesivo de la solución (agitador de doble hélice).

5 Preparamos:

- 2000 ml de una primera solución acuosa de quitosano (M+) al 0,1% en peso respecto al peso de la solución acuosa (con 0,05% de ácido acético);
- 2000 ml de una segunda solución acuosa al 0,1% en peso de alginato de sodio (M-);
- 200 ml de una tercera solución acuosa de cloruro cálcico al 2% en peso (R+); y

10 • 200 ml de una cuarta solución acuosa al 0,5% en peso de SMTP (R-).

- Nota: El TSTP se obtiene por puenteo químico del SMTP, que es el reactivo introducido.

Las adiciones se inician con la solución de alginato de sodio al 0,1% en peso y se agita durante 1 a 2 minutos entre cada adición. A continuación, se añade la solución de quitosano.

El procedimiento seguido y las proporciones de cada adición son entonces los siguientes (todos los % son % en peso):

15 • + 20 ml de solución de alginato de sodio al 0,1%;

- + 20 ml de solución de quitosano al 0,1%;

• + 60 ml de solución de alginato de sodio al 0,1%;

• + 20 ml de solución SMTP de 5 g/l;

• + 10 ml de solución de quitosano al 0,1%;

20 • + 10 ml de solución de cloruro cálcico al 2%;

• + 4,25 g de montmorillonita;

• + 100 ml de solución de quitosano al 0,1%;

• + 80 ml de solución de alginato de sodio al 0,1%;

• + 20 ml de solución de quitosano al 0,1%; y

25 • + 20 ml de solución de cloruro cálcico al 20%.

Agitación durante 15 min a 370 rpm. Este procedimiento permite obtener un recubrimiento de siete capas, la primera de las cuales es una capa de alginato sódico aniónico y la última una capa de quitosano catiónico. En el centro del recubrimiento hay una capa de láminas de esmectita (montmorillonita) (MR). Estas operaciones se repitieron hasta siete veces en el laboratorio.

30 La monitorización conductimétrica de la conductancia de las soluciones se utiliza para monitorizar la deposición de biopolímeros cargados.

Como referencia, se mide el cambio en la conductividad de una solución de agua pura, a la que se hacen adiciones dosificadas de solución de quitosano al 0,1% (curva C1), luego adiciones dosificadas independientemente de alginato de sodio al 0,1% (curva C2), y finalmente la combinación de las dos (curva C3). La figura 8 muestra los resultados obtenidos.

35 Se caracteriza así el aumento de la conductividad de la solución cuando se añaden quitosano y alginato de sodio, con una conductividad más elevada para el alginato. La combinación de los dos reactivos da lugar a un aumento de la conductividad en diente de sierra más lento que el de los polímeros aniónicos (M-) y catiónicos (M+) por separado, ya que las cargas se neutralizan en gran medida entre sí y el radio de giro de los coacervados es mayor (menor conductividad aparente).

40 La Figura 9 muestra la evolución de la conductividad de una solución de partículas acuosas durante adiciones dosificadas de biopolímeros cargados. Esta figura muestra que la adición de biopolímeros aniónicos (M-) y catiónicos (M+) no aumenta la conductividad de la solución; al contrario, la disminuye. Es la firma de la condensación de

biopolímeros aniónicos (M-) y catiónicos (M+) en la superficie de las partículas, lo que provoca una disminución de la conductividad global de la solución. Dado que las grandes partículas lipídicas contribuyen poco a la conductividad, y que las sales en solución (agente osmótico) pueden quedar atrapadas en la interfase durante la condensación, ya no contribuyen a la conductividad de la solución.

- 5 Los piensos y complementos alimenticios 10 que constituyen algunos de los productos de la invención son, por tanto, productos con una arquitectura modular que permiten encapsular diversos nutrientes y sustancias activas y liberarlos en el sistema digestivo de los animales destinatarios.

La estabilización del recubrimiento 14 por medio de polímeros M+ y M- le permite resistir el entorno ácido del estómago, permitiendo al mismo tiempo una rápida desintegración en un entorno básico posterior, lo que garantiza una liberación muy rápida y eficaz de todos los nutrientes y sustancias activas allí donde son más eficaces.

10 La arquitectura modular del núcleo 12 permite incorporar una veintena de sustancias activas hidrosolubles diferentes en la fase interna acuosa 18; también se puede incorporar un gran número de sustancias activas liposolubles diferentes en la fase interna lipídica L.

El procedimiento de fabricación es respetuoso con estos nutrientes y sustancias activas.

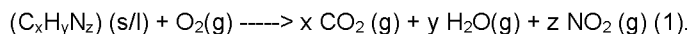
- 15 Los productos objeto de la invención, con su arquitectura modular, son por tanto muy flexibles en su utilización y, variando las condiciones de fabricación, es posible variar las dimensiones respectivas de las partículas y los núcleos, así como la naturaleza y la cantidad de las sustancias activas y nutrientes, con el fin de adaptarlos finamente a todos los animales de destino.

La estabilidad de los productos objeto de la invención se analiza por el procedimiento Dumas para las proteínas liberadas en el sobrenadante de la preparación de las partículas alimenticias.

20 Principios del procedimiento:

La combustión es un procedimiento rápido para determinar la composición elemental de compuestos orgánicos, conocido como procedimiento Dumas. Se utiliza en particular para determinar las cantidades de nitrógeno y carbono presentes en la materia orgánica, y cuando el Diazote obtenido se dosifica en equipos como el modelo Leco serie FP828p utilizado en experimentación, puede correlacionarse con la cantidad de proteína para ingredientes de origen animal o vegetal.

25 Durante la combustión, el uso de oxígeno puro induce la oxidación total del material orgánico, y la siguiente ecuación puede ser escrita para la reacción de combustión de muestras orgánicas (ecuación 1):



- 30 El carbono y el hidrógeno de las muestras sólidas o líquidas (C_xH_yN_z) se transforman completamente en los productos correspondientes, es decir, dióxido de carbono CO₂ y agua H₂O, mientras que el nitrógeno se oxida para formar NO₂.

La muestra sólida o líquida envuelta en papel de aluminio se quema en el reactor de combustión en la corriente de oxígeno puro y la ceniza formada se recoge en la trampa de cenizas. Gracias a dos catalizadores, los productos gaseosos de la combustión reaccionan completamente para formar los óxidos deseados. A continuación, los óxidos de nitrógeno se reducen a nitrógeno elemental, mientras que los otros dos productos, agua y dióxido de carbono, se separan como subproductos en separadores especiales. En la corriente de gas restante, compuesta por helio (un gas portador inerte) y nitrógeno, el nitrógeno puede medirse mediante un detector de conductividad térmica.

Los fabricantes de analizadores proponen un factor de conversión de 6,38 entre la dosis de N₂ y la cantidad de proteína presente en la muestra. Este factor se utiliza para determinar la cantidad de proteína medida en el agua de lixiviación de los alimentos.

40 Condiciones experimentales:

Las muestras del núcleo se prepararon con la misma composición proteica interna (55% en peso del alimento es proteína), basada en la composición proteica de los ingredientes utilizados en la formulación del núcleo. se prepararon 50 g de núcleos 12 según la invención y se dispersaron con un tamaño de 150 micras, para luego ser recubiertos o no con un recubrimiento 14 según la invención. A continuación, la solución obtenida se almacena en una solución en equilibrio osmótico con las partículas obtenidas (núcleos solos o núcleos + recubrimientos), para limitar el riesgo de bombeo osmótico entre el interior de las partículas y el exterior, mediante la disolución de un 1% de sorbitol en masa y 41g/L de sal (NaCl) en el agua de la fase continua.

50 La cantidad de proteína total liberada en el sobrenadante de la dispersión de partículas (núcleos solos o núcleos + recubrimientos) se determina para evaluar la eficiencia de la encapsulación de proteínas en las partículas.

Para acentuar el efecto de lixiviación, se probaron varias diluciones de las partículas (núcleos solos o núcleos + recubrimientos) en la solución de sorbitol y sal, así como la estabilidad de las muestras encapsuladas tras dos días de almacenamiento de las dispersiones de partículas.

5 Todas las pruebas se realizaron 3 veces, y las desviaciones típicas representadas reflejan gráficamente la variabilidad experimental, con un factor de corrección de 1,638 tomado de las tablas de Student para un intervalo de confianza del 90%.

Resultados y conclusiones:

La figura 10 muestra los resultados obtenidos para los siguientes productos:

- Producto sin recubrimiento y factor de dilución x3,5;
- 10 • Producto sin recubrimiento y factor de dilución x5,6;
- Producto con recubrimiento y factor de dilución x3,6;
- Producto con recubrimiento y factor de dilución x4,1;
- Producto con recubrimiento y factor de dilución x3,6 tras 2 días de almacenamiento; y
- Producto con recubrimiento y factor de dilución x4,1 tras 2 días de almacenamiento.

15 Los histogramas anteriores muestran que las partículas no recubiertas pierden una cantidad significativa de proteínas (3,2g por 50g de pienso diluido 3,5x), que se acentúa (6,5g por 50g de pienso) por el factor de dilución (5,6x) de las partículas, a pesar de la estrategia de equilibrar las presiones osmóticas de las partículas de pienso con sal y sorbitol.

20 Para las partículas que han sido protegidas por un recubrimiento de coacervados y una carga mineral (bentonita exfoliada), la cantidad de proteína medida en el sobrenadante es dos veces inferior (1,6g para 50g de pienso). Además, las partículas del pienso se mantuvieron estables al aumentar el factor de dilución (1,8 g de proteína por 50 g de pienso) y, sobre todo, no cambiaron tras dos días de almacenamiento (< 2 g de proteína por 50 g de pienso).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Pienso o complemento alimenticio que permite la liberación controlada de sustancias nutritivas y/o fisiológicamente activas para animales, que comprende un núcleo (12) con una fase lipídica L que comprende sustancias nutritivas y/o fisiológicamente activas liposolubles, estando dicha fase lipídica L en forma de partículas (16) dispersas en una matriz acuosa gelificada (18), **caracterizado porque:**
 - dicha fase acuosa gelificada (18) contiene nutrientes hidrosolubles y/o sustancias fisiológicamente activas,
 - dicha fase acuosa gelificada (18) comprende una carga mineral exfoliada con una superficie específica superior a 100 m²/g,
 - 10 - la interfaz entre las partículas lipídicas (16) y la matriz acuosa (18) comprende tensioactivos seleccionados del grupo de micropartículas minerales, nanopartículas minerales, microfibras orgánicas, nanofibras orgánicas y combinaciones de las mismas, y
 - el pienso o complemento alimenticio tiene un recubrimiento (14) del núcleo (12).
2. Pienso o complemento alimenticio según la reivindicación 1, en el que la fase acuosa gelificada (18) comprende al menos un agente gelificante seleccionado entre cationes multivalentes.
- 15 3. Pienso o complemento alimenticio según una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en el que dicha fase acuosa (18) comprende un polisacárido neutro o funcionalizado con al menos una función seleccionada entre las funciones carboxilo, sulfonato, alcoholato o fosfato, y preferentemente la función carboxilo, con un contenido comprendido entre el 1 y el 8% en peso, y preferentemente entre el 1 y el 5,5% en peso con relación al peso de un extracto seco de dicha fase acuosa (18).
- 20 4. Pienso o complemento alimenticio según la reivindicación 3, en el que dicha fase acuosa (18) se gelifica por reacción de dicho polisacárido neutro o funcionalizado con dichos cationes multivalentes en presencia de pirofosfato o delta gluconolactona, por liberación de protones ácidos por hidrólisis acuosa.
5. Pienso o complemento alimenticio según la reivindicación 4, en el que los cationes multivalentes se seleccionan del grupo de los cationes calcio, magnesio, zinc, manganeso, hierro, aluminio y combinaciones de los mismos.
- 25 6. Pienso o complemento alimenticio según una cualquiera de las reivindicaciones 4 y 5, en el que el catión multivalente es una sal de calcio seleccionada del grupo de carbonato, sulfato, lactato, citrato, tartrato, caseinato y estearato.
7. Pienso o complemento alimenticio según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicha carga mineral exfoliada es un filosilicato y preferentemente una esmectita.
- 30 8. Pienso o complemento alimenticio según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dichos tensioactivos son microfibras o nanofibras de celulosa o quitina.
9. Pienso o complemento alimenticio según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que dichos tensioactivos tienen un contenido comprendido entre el 0,1 y el 4% en peso y preferentemente entre el 0,3 y el 2% en peso con relación al peso de las partículas lipídicas (16).
- 35 10. Pienso o complemento alimenticio según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el núcleo (12) tiene cargas libres en su superficie, y en el que el recubrimiento (14) del núcleo (12) comprende n capas C de materiales biocompatibles con un apilamiento alternativo de cargas electrostáticas positivas y negativas que forman coacervados reticulados estructurados como un apilamiento de capas, siendo n al menos igual a 2 y las n capas C comprenden al menos una capa C+ que comprende un material biocompatible M+ con cargas electrostáticas positivas y un agente de reticulación R- seleccionado entre aniones multivalentes, y al menos una capa C- que comprende un material biocompatible M- con cargas electrostáticas negativas y un agente de reticulación R+ seleccionado entre cationes multivalentes.
- 40 11. Pienso o complemento alimenticio según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el núcleo (12) comprende un polímero cargado, o proteínas con cargas superficiales o tensioactivos catiónicos, aniónicos o zwitteriónicos.
- 45 12. Pienso o complemento alimenticio según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el tamaño de dicho pienso o complemento alimenticio es inferior a 1 mm y preferentemente entre 10 y 600 micrómetros.
13. Pienso o complemento alimenticio según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el tamaño de dichas partículas lipídicas (16) está comprendido entre 1 y 100 micrómetros y preferentemente entre 1 y 20 micrómetros.
- 50 14. Procedimiento de preparación de un pienso o de un complemento alimenticio según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende las etapas siguientes:

- (a) preparar una primera emulsión aceite en agua estabilizada por nanopartículas o micropartículas para obtener dichas partículas lipídicas (16);
- 5 (b) preparar una fase acuosa que contenga las sustancias activas hidrosolubles y los reactivos gelificantes, añadir la primera emulsión de aceite en agua a esta fase acuosa y homogeneizar el conjunto para obtener una fase acuosa gelificable (18) que contiene una fase lipídica L estabilizada y dispersa;
- (c) añadir dicha fase acuosa durante la gelificación a una fase oleosa y cizallar fuertemente el conjunto para obtener una segunda emulsión de partículas acuosas (18) que terminarán de reticularse y solidificarse en el aceite;
- 10 (d) separar las partículas acuosas gelificadas (18) de la fase oleosa para obtener los núcleos (12); y
- (e) formar el recubrimiento (14) de dichos núcleos (12).
15. Procedimiento de preparación de un pienso o de un complemento alimenticio según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, que comprende las etapas siguientes:
- 15 (a) preparar una primera emulsión aceite en agua estabilizada por nanopartículas o micropartículas para obtener dichas partículas lipídicas (16);
- (b) preparar una fase acuosa que contenga las sustancias activas hidrosolubles y los reactivos gelificantes, añadir la primera emulsión de aceite en agua a esta fase acuosa y homogeneizar el conjunto para obtener una fase acuosa gelificable (18) que contiene una fase lipídica L estabilizada y dispersa;
- (b') dejar reposar dicha fase acuosa para obtener una fase acuosa gelificada (18);
- 20 (c') introducir dicha fase acuosa gelificada (18) en un mezclador, opcionalmente con un volumen determinado de agua que contenga agentes osmóticos, y mezclar hasta obtener núcleos (12) del tamaño deseado; y
- (e) formar el recubrimiento (14) de dichos núcleos.

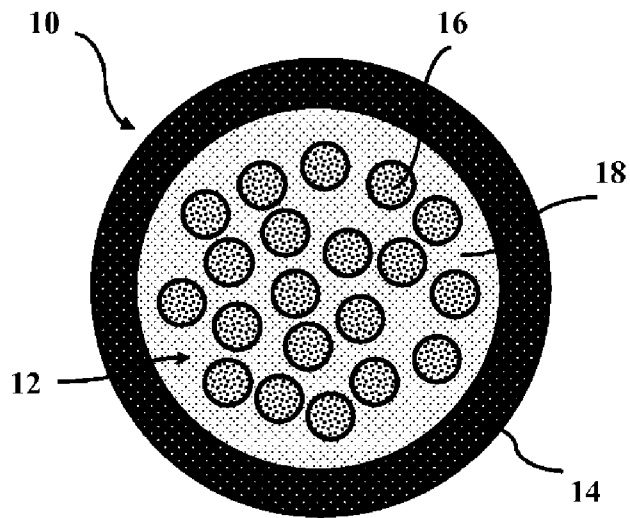


Fig. 1

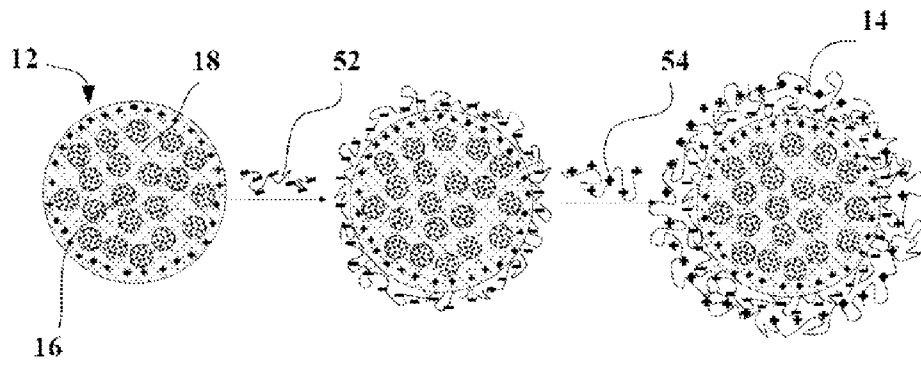
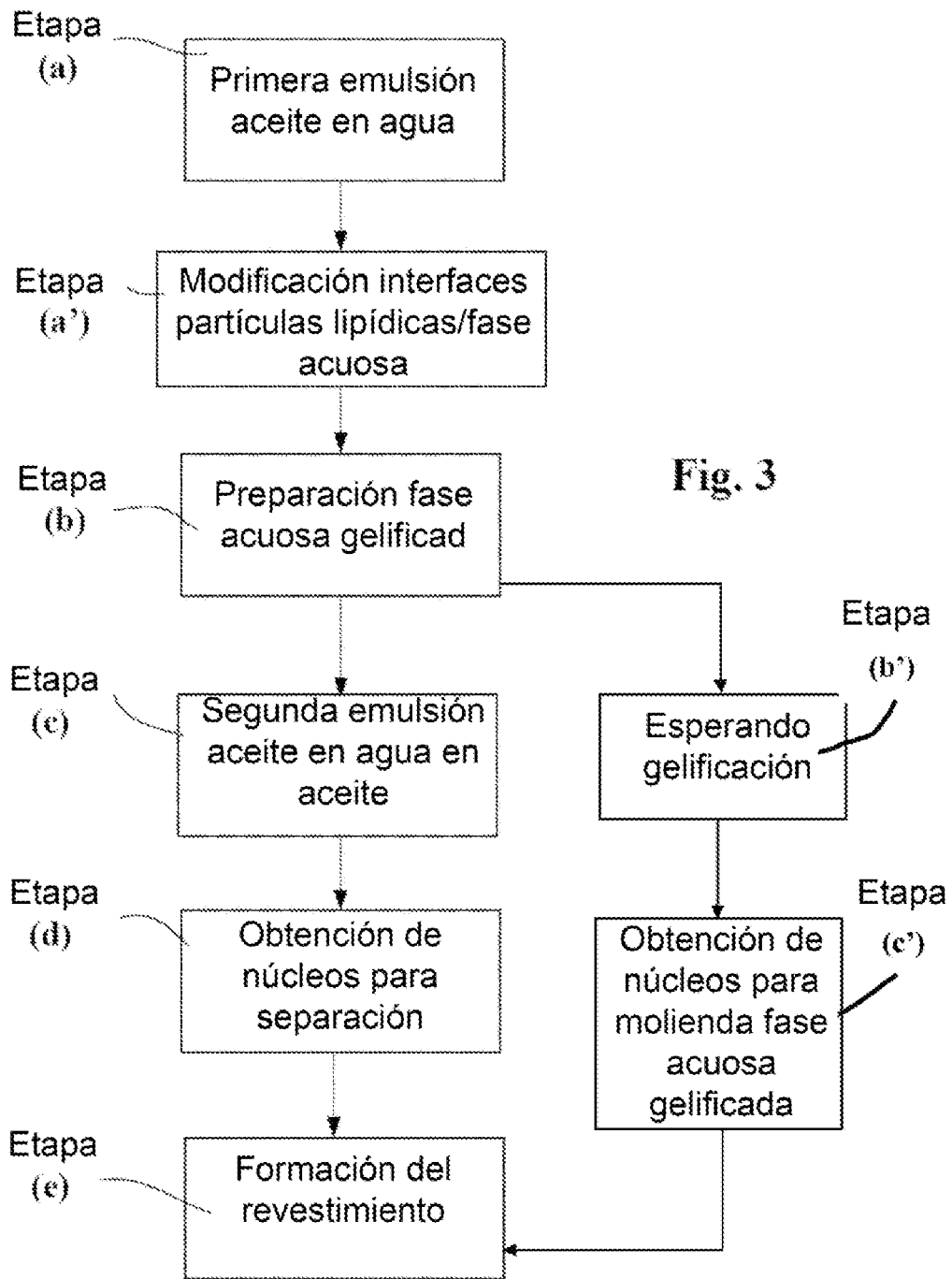


Fig. 2



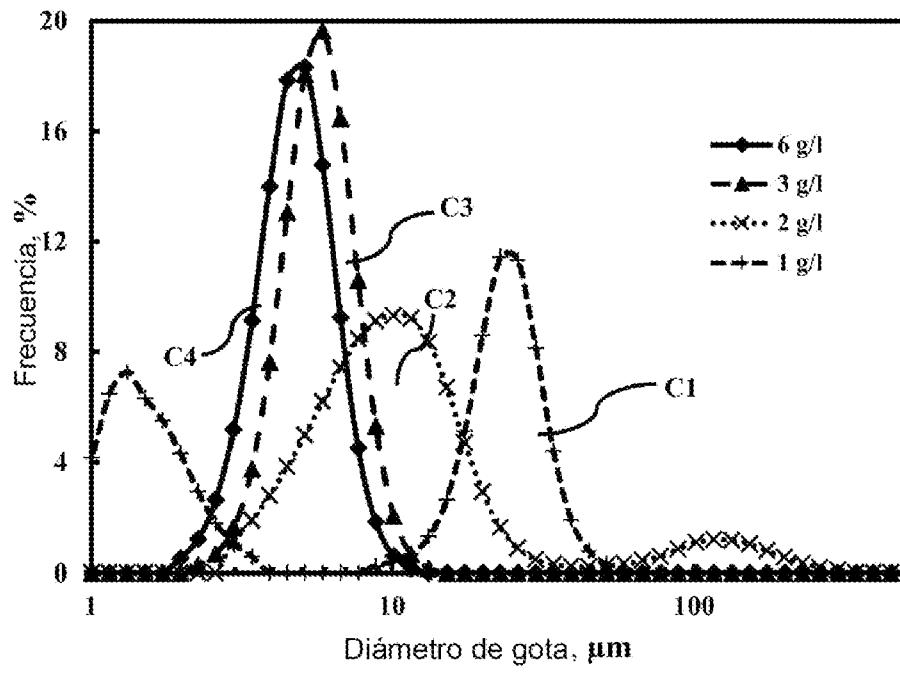


Fig. 4

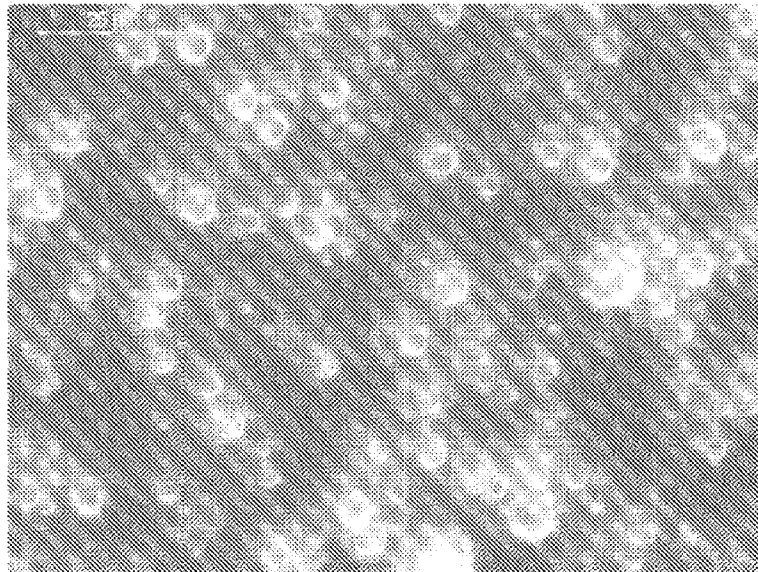


Fig. 5

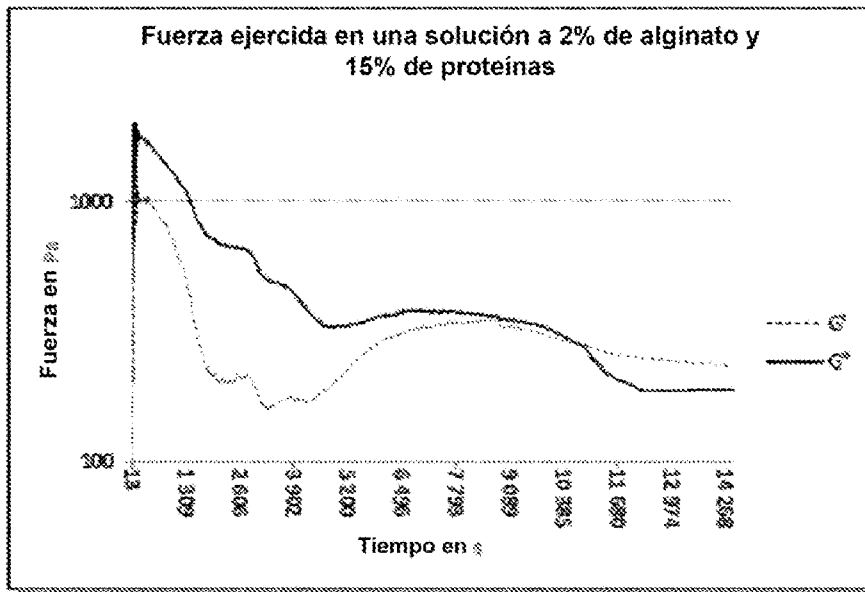


Fig. 6

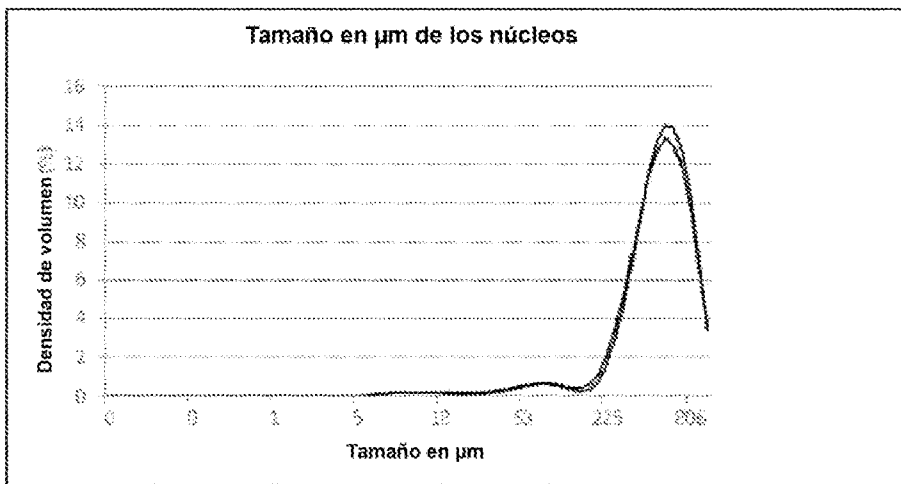


Fig. 7

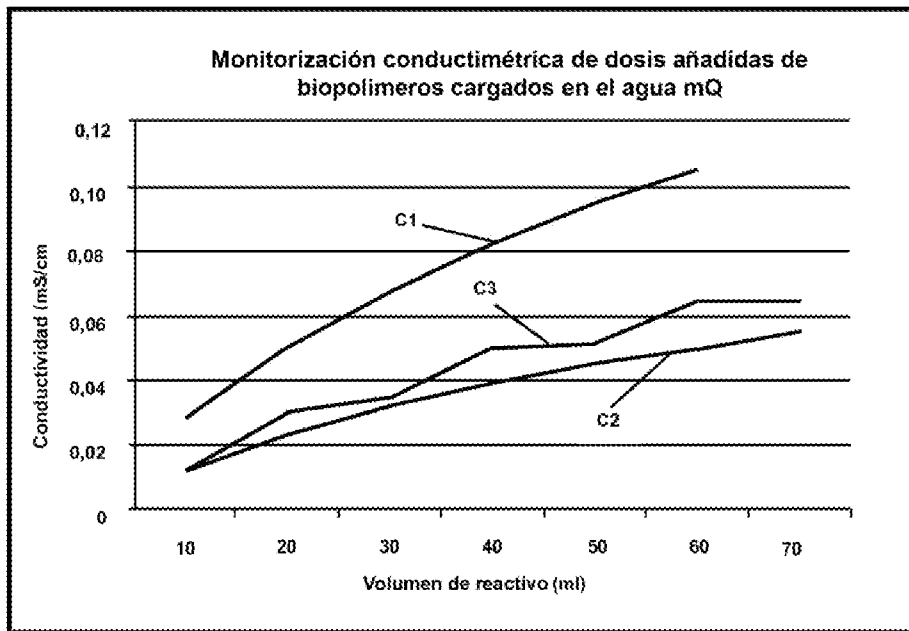


Fig. 8

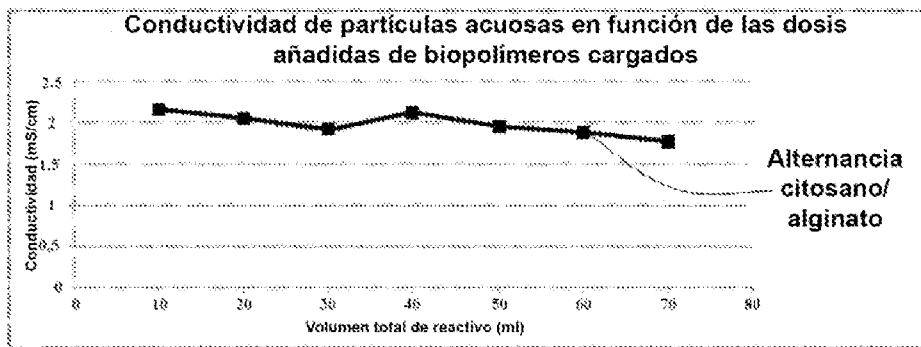


Fig. 9

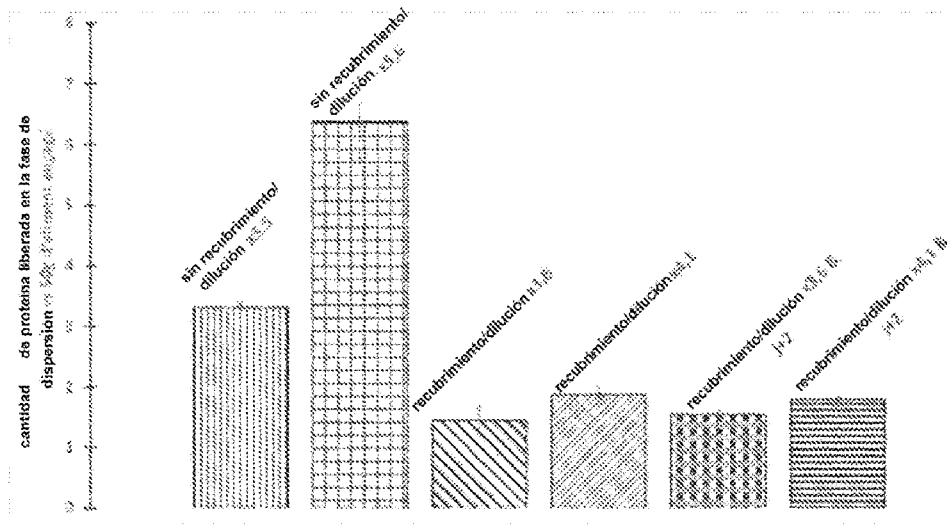


Fig. 10