

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 716 817**

51 Int. Cl.:

A23D 9/00 (2006.01)

C11B 1/10 (2006.01)

C11B 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.12.2011 PCT/CL2011/000082**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.07.2012 WO12088620**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.12.2011 E 11817504 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.02.2019 EP 2659780**

54 Título: **Concentrado de ω 3**

30 Prioridad:

27.12.2010 CL 15872010

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

17.06.2019

73 Titular/es:

**GOLDEN OMEGA S.A. (100.0%)
Avenida Apoquindo 5550, piso 8
Las Condes, Santiago, CL**

72 Inventor/es:

**SEPÚLVEDA REYES, JUVENAL ANTONIO;
BERRIOS CORNEJO, MIRIAM ROSA;
FUENZALIDA DÍAZ, MIGUEL ÁNGEL;
MARKOVITS ROJAS, ALEJANDRO y
HARTING GLADE, THOMAS FRANCIS**

74 Agente/Representante:

MILTENYI , Peter

ES 2 716 817 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

Concentrado de ω 3.

5 La presente invención se refiere a un proceso eficaz y sencillo para obtener concentrados de ácidos grasos de ω -3 sobre el 80 % de ácidos grasos de ω -3 a partir de composiciones de material que contiene ácidos grasos de ω -3 en forma de ésteres o ácidos grasos libres.

10 La utilidad de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga del tipo de ω -3, tales como ácidos octadecatrienoicos (ALA; ácido α -linolenico), ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), en la prevención de arterioesclerosis y enfermedades cardiovasculares, alivio de afecciones inflamatorias y retraso en crecimiento tumoral es bien conocido y documentado actualmente. Los isómeros naturales de estos ácidos grasos de ω -3 tienen todas las configuraciones *cis* y sus enlaces dobles están separados entre sí mediante una unidad de metileno. Cuando los enlaces dobles están separados entre sí por dos o más enlaces simples, se les denomina enlaces dobles aislados. Los expertos recomiendan una ingesta diaria de ácidos grasos de ω -3 en dosis que varían entre 0,5 a 10 g. Por lo tanto, existe un interés creciente en la obtención de concentrados de ácidos grasos de ω -3 para su incorporación en productos alimentarios, nutracéuticos y productos farmacéuticos.

20 Una de las fuentes que es más rica en ácidos grasos de ω -3, principalmente EPA y DHA, es el aceite de origen marino tal como aceites de pescado de distintas especies tales como sardina, jurel chileno, anchoa, salmón, bacalao y krill, microalgas marinas tales como *Phaeodactylum tricornutum*, *Nannochloropsis sp.* y aceites vegetales tales como linaza, cáñamo y otros ricos en ALA. El contenido combinado de EPA y DHA en los aceites de origen marino es típicamente de entre el 10 y el 35 % en peso. Actualmente los aceites de pescado refinado se están utilizando en la industria alimentaria y nutracéutica como fuente de ácidos grasos de ω -3. En términos generales, los procesos de refinamiento de los aceites de pescado son adaptaciones de los procesos de refinamiento clásicos de aceites vegetales e intentan reducir los olores y sabores desagradables característicos de los aceites de pescados para permitir su uso alimentario y nutracéutico. Algunos de estos procesos se divulgan en las patentes de los EE.UU. 4915876, 4874629, 4804555, 4599143 y 4838997, entre otros. Una ventaja de los procesos conocidos de refinamiento de aceite de pescado, además de conseguir hacer estos aceites adecuados para el consumo humano, es que en estos procesos no se producen pérdidas significantes en la concentración original de ácidos grasos de ω -3 en estos aceites.

35 No obstante, la preparación de productos nutracéuticos y farmacéuticos especiales requiere productos con un contenido de ácidos grasos de ω -3 por encima del 60 %, al menos el 70 %, preferentemente por encima del 80 % en peso, que evidentemente no puede lograrse utilizando los procesos de refinamiento de aceite tradicionales.

40 Existen numerosos procesos en el estado de la técnica para la producción de concentrados con un contenido de ácidos grasos de ω -3 por encima del 60 % en peso basándose en aceites de origen marino. Como EPA y DHA se encuentran en aceites marinos en gran parte en la forma de triglicéridos y/o fosfolípidos como es el caso del krill, la mayoría de los procesos de concentración empiezan con la transesterificación química o enzimática de estos aceites con un alcohol, normalmente etanol, o mediante la hidrólisis de los aceites con una solución alcalina acuosa para formar las sales de los ácidos grasos y los ácidos libres de estas sales. Los productos de la transesterificación o de la hidrólisis se envían posteriormente a procesos de fraccionamiento para lograr los productos deseados. Normalmente, es imposible obtener concentrados con un alto contenido en ácidos grasos de ω -3 con una única técnica de fraccionamiento, por lo tanto, se utiliza una combinación de técnicas.

La formación de complejos con urea es una de las técnicas de fraccionamiento más comúnmente utilizada para la recuperación de concentrados con un alto contenido de EPA y/o DHA.

50 La urea tiene la característica de formación de complejos o aductos sólidos con compuestos orgánicos alifáticos saturados. Cuando se añade una solución de urea a una composición derivada de aceite que contiene ácidos grasos libres o sus ésteres con un alcohol monohídrico, se forma un complejo o aducto cristalino que contiene la fracción más saturada de los ácidos. Los complejos pueden entonces retirarse, dejando un refinado de los ácidos más insaturados. El proceso de complejación se ha usado tanto con ácidos libres como también con sus ésteres de metilo o etilo.

60 El refinado puede entonces enviarse a otras etapas de fraccionamiento, tal como, por ejemplo, destilación molecular de una o más etapas que permite que los productos se obtengan con más de un 80 % en peso de ácidos grasos de ω -3, tal como se desvela en Breivik y col., en el documento US 5.945.318.

65 Otras técnicas de purificación del refinado que utiliza urea que se han utilizado incluyen la cristalización fraccional del refinado en la presencia de un disolvente orgánico tal como acetona desvelada en Rubin y col., en la patente US 4.792.418; cromatografía líquida de alta presión del refinado en columnas cargadas con sílice de Ag o alúmina de Ag desvelada por Lee en la patente US 6.664.405 y el tratamiento del refinado con carbono activo y hexano, desvelado por Wang en la patente US 5.679.809.

- No obstante, los procesos que implican la utilización de urea tienen diversas desventajas e inconvenientes. El primero de estos es el bajo rendimiento de recuperación de los ácidos grasos de ω -3, normalmente de aproximadamente el 30 % como los aductos de urea además de los ácidos grasos saturados también contienen considerables cantidades de ácidos grasos de ω -3 y en el presente no existe un proceso económicamente eficaz para la recuperación de ácidos grasos insaturados a partir de los aductos de urea, haciendo que el proceso sea muy costoso y requiriendo el uso de equipamiento complejo e instalaciones a gran escala con respecto a la producción. Por ejemplo, para cada tonelada de aceite de pescado, se recuperan entre 60 y 80 kilos del producto final, es decir, menos del 8 % (Breivik, Harald [2007], "Long Chain Omega-3 Specialty Oils", The Oily Press).
- Adicionalmente, la gran cantidad de aductos de urea formados, puesto que para cada tonelada de aceite marino se utiliza entre una a tres toneladas de urea, representa un enorme reto por su eliminación medioambiental; y, por otra parte, la producción de dos carcinógenos potentes, carbamatos de etilo o metilo, también se ha informado en el proceso (Cañas BI, Yurawecz MP [1999] "Ethyl carbamate formation during urea complexation for fractionation of fatty acids". J. Am Oil Chem Soc 76:537).
- A pesar de las desventajas y complejidades del proceso de refinamiento de ácidos grasos de ω -3 utilizando urea, estos procesos representan más del 85 % de la producción actual del mundo de concentrados con un contenido por encima del 80 % de ácidos grasos de ω -3.
- Se han desvelado pocos procesos para la producción de ácidos grasos de ω -3 que no recurran de una etapa de fraccionamiento con urea.
- Uno de estos es el proceso descrito por Kokubu y col. en la solicitud de patente japonesa JP 1982000131654 en la que aceite de pescado, después de una hidrólisis alcalina se enfría entre 25 y 5 °C para precipitar jabones de ácidos grasos saturados, El sobrenadante, una vez separado y añadido a agua adicional, se extrae con un disolvente orgánico tal como hexano, éter de petróleo, benceno u otro disolvente orgánico. La fase acuosa residual se acidifica con un ácido mineral para formar una fase orgánica que contiene ácido graso libre que se extrae con un disolvente orgánico tal como hexano, éter de petróleo, benceno u otro disolvente orgánico y, a continuación, se somete a blanqueamiento y desodorización mediante adsorción y destilación por vapor o destilación molecular.
- El proceso que se desvela solo es capaz de producir concentrados con un contenido entre el 60 al 70 % de EPA y DHA, que resulta aún insuficiente para la formulación de productos especiales para su uso farmacéutico y nutracéutico. Adicionalmente, utiliza una o más etapas de extracción con hidrocarburos o disolventes hidrocarbonados cuya concentración máxima permisible en producto para consumo humano está muy restringido. En los procesos para la producción de ingredientes nutracéuticos o farmacéuticos, el uso de disolventes orgánicos cuya concentración máxima permisible en producto para consumo humano es muy baja - menos de 1 mg/kg (como en el caso de hexano) - no es conveniente puesto que, entre otros inconvenientes técnicos y económicos, la retirada de esos disolventes, para cumplir con las normas, podría afectar la calidad de los ácidos grasos de ω -3.
- Morgan, en la solicitud WO 2009/20406 A1 desvela un proceso de concentración de ácidos grasos de ω -3 a partir de aceite de pescado por medio de hidrólisis a baja temperatura y no uso disolventes orgánicos cuya concentración máxima permisible es producto para consumo humano es muy baja, menos de 1 mg/kg. Las concentraciones de ácidos grasos de ω -3 que pueden alcanzarse en el proceso que se desvela no se desvelan en la presente memoria descriptiva, pero los ejemplos indican que las concentraciones de los productos directos del proceso desvelado varían de entre el 46 al 65 %. Aunque resulte obvio, el inventor desvela que los ácidos grasos enriquecidos en ácidos grasos poliinsaturados "obtenidas utilizando los métodos de la invención pueden purificarse adicionalmente por medio de técnicas conocidas tales como destilación, cristalización fraccionada o formación de un complejo de urea", en el Ejemplo 2, la concentración de ácidos grasos de ω -3 del producto obtenido directamente por medio del proceso de la invención fue del 65 %. El producto enviado a la etapa de recristalización (Ejemplo 3) tenía un contenido del 75 % en ácidos grasos de ω -3, aún insuficiente para su uso en aplicaciones nutracéuticas y farmacéuticas especiales.
- Otro proceso se desvela por Cornieri y col. en la patente los EE.UU 5.130.061 en la que, después de la transesterificación química de aceite de pescado, se extraen los ésteres con un disolvente orgánico tal como hexano y después de retirar el disolvente el producto se somete a cromatografía de gel de sílice seguido por destilación molecular para obtener un concentrado de EPA y DHA que tenga menos del 70 % en peso. Para aumentar la concentración, el producto cromatografiado se disuelve, en primer lugar, en acetona y se cristaliza a -40 °C y el producto cristalizado se somete a destilación molecular de dos etapas llevando a un producto que contiene ésteres de DHA de entre el 85 y 95 % en peso. El proceso también recurre al uso de hexano que tiene el inconveniente anteriormente mencionado. La etapa de purificación cromatográfica hace que el proceso económicamente poco atractivo y su implementación industrial también resulta compleja. Además, el rendimiento de recuperación de ácidos grasos de ω -3 es bajo, menos del 30 %.
- Hasta 1986, la compañía noruega Jahres Fabrikker produjo un concentrado de EPA y DHA a partir de aceite de pescado. El proceso consistía en saponificar el aceite de pescado con una solución acuosa de hidróxido de sodio para formar jabones sólidos que se extrajeron posteriormente con un disolvente, típicamente metanol. El extracto de

metanol se aciduló y se asilaron los ácidos grasos libres con el contenido de EPA y DHA del 50 %. (Breivik, Harald [2007] "Long Chain Omega-3 Specialty Oils" The Oily Press). Se destilaron molecularmente estos ácidos grasos para alcanzar una concentración máxima del 65 %.

5 No se conocen procesos eficaces en el estado de la técnica para obtener concentrador de ácidos grasos de ω -3 con un contenido de ácidos grasos de ω -3 sobre el 80 % que no recurran al fraccionamiento con urea o disolventes orgánicos, como hidrocarburos cuya concentración máxima permisible en producto para el consumo humano está restringida.

10 Para aplicaciones farmacéuticas y nutraceuticas especiales, es importante que en los concentrados de ácidos grasos de ω -3 cuyos ácidos grasos se corresponden con los isómeros naturales con todas las configuraciones *cis* y con enlaces dobles dispuestos en un sistema de dobles enlaces aislados separados entre sí por un grupo metilo.

15 No obstante, durante los procesos para la producción de concentrados de ácidos grasos de ω -3, se producen isómeros de tipo *trans* y también isómeros conjugados cuando dos o más enlaces dobles se separan mediante un enlace simple único.

20 Se han divulgado procesos para la producción de concentrados de ácidos grasos de ω -3 en cuyos cambios en la configuración natural de esos ácidos no han tenido lugar, pero sin referencia en ningún caso al problema de la isomerización de los enlaces dobles. De manera sorprendente, se ha encontrado que en los productos obtenidos mediante los procesos de la invención, no se han detectado isómeros tipo *trans* o isómeros con enlaces dobles conjugados.

25 Por consiguiente, el objetivo de la presente invención es proporcionar un proceso eficaz y sencillo que no use el fraccionamiento con urea o disolvente orgánicos cuya concentración máxima permisible en productos para el consumo humano está restringida, para la producción de concentrados de ácidos grasos de ω -3 sobre el 80 % de ácidos grasos de ω -3 basado en composiciones de material que contienen estos ácidos grasos en forma de ésteres o ácidos grasos libres, adecuados para el consumo humano y de calidad farmacéutica.

30 Este objeto se logra mediante un proceso de obtención de concentrados de ésteres de etilo que contienen sobre el 80 % en peso de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 a partir de una composición de material que comprende ésteres de ácido graso de ω -3 o ácidos grasos de ω -3 libres, comprendiendo el proceso las etapas de:

35 a) poner en contacto la composición de material con etanol que tiene un contenido de agua del 4 % o inferior y un hidróxido de metal alcalino a una temperatura de entre 60 °C y 200 °C para formar una mezcla líquida que comprende sales de metal alcalino o ácidos grasos;

40 b) enfriar la mezcla líquida a una temperatura de entre 50 y -20 °C para formar un sólido y una fase líquida y separar la fase líquida que comprende ácidos grasos de ω -3 de la fase sólida;

c) poner en contacto la fase líquida de la etapa b) con un ácido para formar una mezcla acidificada que comprende menos del 10 % en peso de agua, ácidos grasos de ω -3 y sales de metal alcalino y el ácido, y separar las sales del metal alcalino de la mezcla acidificada para obtener la mezcla acidificada libre de las sales del metal alcalino;

45 d) calentar la mezcla acidificada libre de sales del metal alcalino con un catalizador de esterificación a una temperatura de entre 50 °C y 150 °C para formar una mezcla que comprende ésteres de etilo de ácidos grasos de ω -3;

50 e) poner en contacto la mezcla de la etapa d) con un alcalino para formar una mezcla neutralizada; y

f) destilar la mezcla neutralizada para obtener un destilado que comprende al menos el 80 % de ésteres de etilo de ácidos grasos de ω -3.

55 También se desvela en el presente documento un concentrado de éster de etilo de ácido graso de ω -3 obtenible de acuerdo con el proceso de la invención en el que todos los enlaces dobles de los ácidos grasos tienen una configuración *cis* separados entre ellos por una unidad metilénica.

60 Se desvela adicionalmente en el presente documento un concentrado de éster de etilo de ácido graso de ω -3 que comprende al menos el 80 % en peso de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 en donde todos los enlaces dobles de los ácidos grasos tienen todos una configuración *cis* separados entre ellos por una unidad metilénica.

Se indican realizaciones preferentes en las sub-reivindicaciones.

65 Para el proceso descrito en la presente solicitud de patente, el material sin procesar utilizado es cualquier composición de material que contiene ácidos grasos de ω -3 esterificados en la forma de triglicéridos, fosfolípidos u otras formas, tales como en aceites o grasas de origen animal, tales como aceite crudo o refinado de distintas

especies tales como sardinas, jurel chileno, anchoa, salmón, bacalao, krill, microalgas marinas tales como *Phaeodactylum tricornutum*, *Nannochloropsis sp*, de origen vegetal tal como aceites vegetales de linaza, semillas de cáñamo, mezclas de aceites o grasas de origen marino con aceites vegetales o también en la forma de monoésteres o ácidos grasos libres, productos de distintas fuentes de procesos comerciales. Típicamente, el contenido combinado de ácidos grasos de ω -3 (EPA y DHA) en los aceites de pescado es de entre el 10 al 35 % en peso, mientras que en los aceites vegetales (ALA) es muy variable y puede alcanzar cerca del 50 % como en el aceite que proviene de linaza. En la presente invención, la palabra aceite también incluye grasas que contienen ácidos grasos de ω -3. La diferencia entre aceite y grasa recae en que la primera es líquido mientras que la segunda es sólida a temperatura ambiente. Los lípidos extraídos de diversas microalgas marinas son sólidos a temperatura ambiente y pueden contener entre el 5 al 30 % de ácidos grasos de ω -3. También son de utilidad como material sin procesar para la presente invención los lípidos extraídos de insectos, larvas de insectos y plantas genéticamente modificadas para la producción de ácidos grasos de ω -3 de cadena larga.

Para llevar a cabo la invención, se somete una composición de material que comprende ácidos grasos de ω -3 libres o esterificados a una etapa de neutralización o saponificación con un metal alcalino para formar una mezcla reaccionada que comprende las sales de metal alcalino de los ácidos grasos. Con este fin, la composición de material se pone en contacto con etanol anhidrido que tiene un contenido de agua de como máximo el 4 % en peso, preferentemente menos del 1 % en peso y un metal alcalino, preferentemente hidróxido de sodio o una solución alcalina a una temperatura de entre 60 °C a 200 °C, preferentemente a 120 °C. La solución alcalina puede ser o bien una solución acuosa de hidróxido de sodio al 40 % en peso o bien una solución etanólica de hidróxido de sodio de menos del 50 % en peso.

A esta temperatura, el tiempo de reacción para la saponificación o neutralización es solo de unos pocos minutos, permitiendo que se lleve a cabo la saponificación o neutralización de un modo continuo. La cantidad de etanol utilizado en la etapa de saponificación o neutralización puede variar entre 0,5 a 10 kg por kg de composición de material, preferentemente entre 1 a 6 kg de la composición de material mientras que la cantidad de metal alcalino en la etapa de saponificación o neutralización es igual o superior al 90 % en moles, preferentemente superior al 100 %, del índice de saponificación o yodo, que el caso de uso de hidróxido de sodio represente al menos ,712 g de hidróxido de sodio por kg de composición de material utilizado material multiplicado por el índice de saponificación de la composición de material utilizado.

La reacción puede llevarse a cabo o bien de modo discontinuo o de modo continuo en un vaso agitado o en un reactor tubular o en otro tipo habitualmente utilizado para la saponificación de aceites y grasas. Cuando la composición del material utilizado es aceite de pescado, o bien crudo o refinado, solo o en combinación con aceite vegetal, puede estar opcionalmente purificada para retirar posibles Contaminantes Orgánicos Persistentes (POP) que pueden estar presentes por medio de procesos conocidos en el estado de la técnica. Los POP son productos químicos tóxicos que se acumulan en el tejido graso de los organismos vivos. Se han encontrado niveles relativamente elevados de POP en distintas especies de pescado y como resultado en alimentos de pescado y aceite producido a partir de estas especies. Los POP comprenden pesticidas, productos químicos industriales como policlorobifenilos, subproductos de los procesos industriales tales como dioxinas y furanos. Los POP se pueden eliminar también de los productos finales del presente proceso.

Al final de la etapa de saponificación o neutralización, la mezcla reaccionada se enfría a una temperatura de entre 50 y -20 °C, preferentemente entre el 50 y 0 °C, llevando al precipitado que comprende ácidos grasos saturados y también parte de las sales de metal alcalino formadas durante la reacción. El enfriamiento de la mezcla reaccionada puede llevarse a cabo o bien de modo discontinuo o bien de modo continuo en un recipiente forrado agitado provisto con un agitador adecuado, como turbinas de espiga plana o agitadores de ancla, entre otros, o bien enfriarse mediante evaporación. El enfriamiento puede llevarse a cabo también en un reactor tubular, preferentemente agitado con un agitador con rascadores de superficie u otros tipos habitualmente utilizados en la cristalización de aceites y grasas.

Los sólidos formados durante el enfriamiento de la mezcla reaccionada, que comprenden sales de metal alcalino y ácidos grasos saturados se retiran de la mezcla enfriada mediante medios mecánicos como centrifugación o filtración, preferentemente mediante filtración al vacío o por presión. El líquido o filtrado obtenido, puede concentrarse adicionalmente mediante evaporación y, a continuación, enfriarse de nuevo permitiendo la formación de más sólidos precipitados y seguido por la separación de los sólidos tal como se ha descrito. El líquido o filtrado resultante se acidificaron posteriormente con una solución ácida o etanólica de un ácido en la que las cantidades ácidas hasta el 50 % en peso de la solución, preferentemente ácido sulfúrico, para obtener una mezcla acidificada que comprende ácidos grasos de ω -3 y sales alcalinas sólidas o de metal sódicas dado que el contenido de agua de la mezcla acidificada es inferior al 10 % en peso de agua, normalmente inferior al 5 %. Si se utiliza ácido sulfúrico en la solución de etanol-ácido, la formación de sulfatos de etanol perjudiciales puede evitarse preparando la solución a una temperatura baja inferior a 20 °C grados, preferentemente inferior a 10 °C y con menos del 20 % en peso de ácido sulfúrico.

La cantidad de solución de ácido o ácido-etanol a utilizar es de entre el 1 % al 10 % por encima del valor estequiométrico de la alcalinidad total de la fase líquida. La sal de metal alcalino, normalmente sulfato de sodio,

formada durante la etapa de acidificación, que es insoluble puede separar o bien mediante asentamiento, centrifugación o filtración, dejando atrás un líquido clarificado que comprende ácidos grasos de ω -3. A continuación, la mezcla acidificada o el líquido clarificado se calienta a una temperatura de entre 50 y 150 °C, mediante la cual los ácidos grasos reaccionan con el etanol, formando una mezcla esterificada que comprende ésteres de etilo de ácidos grasos de ω -3. La reacción se cataliza mediante ácido sulfúrico, en caso de que haya utilizado este ácido en la etapa de acidificación, pero si se necesitara se pueden añadir otros catalizadores tales como ácido sulfónico de p-tolueno a la mezcla acidificada.

A continuación, la mezcla esterificada se pone en contacto con una solución acuosa o etanólica de un alcalino seleccionado entre el grupo que consiste en un óxido, hidróxido o carbonato de un metal alcalino, amoníaco o hidróxido de amonio, preferentemente hidróxido de sodio para formar o bien una mezcla neutral o bien alcalina y los éteres de etilo de los ácidos grasos de ω -3 se separan de dicha mezcla mediante técnicas del estado de la técnica tal como se ilustra en los Ejemplos.

Un modo es evaporando el disolvente de la mezcla neutral o alcalina provocando una fase ligera que comprende ésteres de etilo de ácidos grasos de ω -3 y una fase pesada que comprende sales orgánicas o glicerina a continuación separando ambas fases o bien mediante decantación o mediante centrifugación. Cuando se utiliza una solución alcalina acuosa en la etapa de neutralización, la separación puede llevarse a cabo sin la etapa de evaporación.

A continuación, la fase ligera separada se somete a una o más etapas de destilación al vacío, llevando a un destilado que comprende al menos el 80 % en peso de ácidos grasos de ω -3. La destilación se lleva a cabo preferentemente en una columna de destilación de trayectoria corta o molecular a una temperatura de entre 100 °C a 250 °C y a una presión inferior a 1 mbar.

El proceso de la presente invención tiene la ventaja adicional de rendimiento de recuperación elevado de ácidos grasos de ω -3, que en caso de utilizar aceite de pescado o incluso materiales de entrada con bajo contenido en ácidos grasos de ω -3, puede ser sobre un 40 % de una cifra inesperadamente superior en los procesos del estado de la técnica, que requiere materiales de entrada de alto contenido en ácidos grasos de ω -3, típicamente más del 28 %. Sorprendentemente no se generan subproductos indeseados tales como ácidos grasos *trans* o sulfato de dietilo en el proceso y los ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 no tienen enlaces dobles conjugados.

Los siguientes ejemplos ilustran modos de llevar a cabo el proceso para la obtención de ácidos grasos ω -3 que contienen más del 80 % de ácidos grasos de ω -3 de composiciones de metal que contiene o bien ácidos grasos ω -3 libres o bien esterificados tal como se ha indicado anteriormente.

Se realizaron análisis de ácidos grasos de ω -3 de acuerdo con los *Métodos oficiales y prácticas recomendadas por la AOCS*, 6ª edición.

Ejemplos

Ejemplo 1.

Obtención de un concentrado de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 a partir de aceite de sardina.

Se mezclaron 276 g de hidróxido de sodio en un reactor agitado de Parr de 20 l con 6 kg del 99,2 % de etanol y 2 kg de aceite de sardina (South Pacific Korp.) que tenía un contenido total del 32,9 % en peso de ácidos grasos de ω -3 (16,8 % de EPA y 11,3 de DHA). La mezcla se calentó a 120 °C con agitación a 250 rpm durante 5 minutos y a continuación se dejó enfriar a 35 °C con agitación suave. La mezcla enfriada se filtró en un embudo Buchner a través de un medio de filtro de trapo de poliéster con recogida por vacío de un primer filtrado. La torta del filtro se lavó con 6.000 g de etanol que recogiendo un segundo filtrado que se mezcló con el primer filtrado y dicha mezcla se acidificó con 1.700 g una solución de ácido sulfúrico-etanol al 10 % y la mezcla acidificada formada se enfrió a 0 °C hasta la formación de una fase sólida dispersada, que se separó, posteriormente, mediante centrifugación de la mezcla acidificada enfriada obteniendo un líquido sobre nadante claro. Dicho sobrenadante se cargó en un reactor agitado que tiene un condensador externo conectado a la línea de vacío. Un 70 % de la carga se destiló a presión normal, a continuación se añadieron 25 g del 20 % de ácido sulfúrico en etanol y la mezcla formada se calentó a 76 °C durante 30 minutos y se dejó enfriar a 20 °C. Se añadieron 150 g del 8 % de hidróxido sódico en etanol a la mezcla enfriada, seguido por una evaporación completa del etanol desde la mezcla a una presión de 10 mbar. El resto se la evaporación se dejó asentar, recuperando 205 g de sólidos asentados. El líquido sobrenadante que comprendía 1.056 g de éteres de etilo crudos se lavó con agua y, a continuación, se suministró a una columna de destilación de trayectoria corta (UIC, KDL 5) y se sometió a dos etapas de destilación. En la primera etapa de destilación, la temperatura de la superficie en evaporación fue de 85 °C, la temperatura del condensador fue de 5 °C y la presión fue de 0,02 mbar. El resto de la primera etapa de destilación se destiló a una temperatura de 110 °C, una temperatura de condensador de 5 °C y a una presión de 0,01 mbar, obteniendo 451 g de destilado de dicha segunda etapa de destilación del 97,1 % en peso de éteres de etilo de ácido graso de ω -3 que comprendían un 45,2 % de EPA y un 37,3 % de DHA. El rendimiento completo de ácido graso de ω -3 fue del 60 %.

Ejemplo 2.

Obtención de un concentrado de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 a partir de aceite de jurel del cabo.

- 5 Se mezclaron 281 g de hidróxido de sodio en un reactor agitado de Parr de 20 con 11 kg del 99,2 % de etanol y 2 kg de aceite de jurel del cabo (South Pacific Korp.) que tenía un contenido total del 38,5 % en peso de ácidos grasos de ω -3 (12,5 % de EPA y 20,4 % de DHA). La mezcla se calentó a 120 °C con agitación a 250 rpm durante 5 minutos y a continuación se dejó enfriar a 35 °C con agitación suave. La mezcla enfriada se filtró en un embudo Buchner a través de un trapo de poliéster como medio de filtración al vacío, recogiendo un primer filtrado. La torta del filtro se lavó con 3.000 g de etanol que recogiendo un segundo filtrado que se mezcló con el primer filtrado y dicha mezcla se acidificó con 370 g de HCl al 36 % mezclado con 370 g de etanol dando como resultado la formación de una fase sólida dispersada, que se separó, posteriormente, mediante centrifugación de la mezcla acidificada enfriada obteniendo un líquido sobre nadante claro. Dicho sobrenadante se mezcló con 6 g de ácido sulfónico de tolueno y se cargó en un reactor agitado que tiene un condensador externo conectado a la línea de vacío. Un 70 % de la carga se destiló a presión normal, a continuación, se añadieron 20 g de hidróxido sódico al 50 % en etanol seguido por una evaporación completa del etanol desde la mezcla a una presión de 10 mbar. El resto se la evaporación se dejó asentar, recuperando 205 g de sólidos asentados. El líquido sobrenadante que comprendía 977 g de ésteres de etilo crudos se lavó con un 2 % de solución acuosa de sulfato sólido y, a continuación, se suministró a una columna de destilación de trayectoria corta (UIC, KDL 5) y se sometió a dos etapas de destilación. En la primera etapa de destilación, la temperatura de la superficie de evaporación fue de 84 °C, la temperatura del condensador fue de 5 °C y la presión fue de 0,02 mbar. El resto de la primera etapa de destilación se destiló a una temperatura de 114 °C, una temperatura de condensador de 5 °C y a una presión de 0,01 mbar, obteniendo 508 g de destilado de dicha segunda etapa de destilación del 92,6 % en peso de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 que comprendían un 30,2 % de EPA y un 52,3 % de DHA. El rendimiento completo de ácido graso de ω -3 fue del 56 %.

Ejemplo 3.

Obtención de un concentrado de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 a partir de aceite de linaza.

- 30 Se mezclaron 560 g de solución de hidróxido de sodio al 50 % en un reactor agitado de Parr de 20 con 10 kg del 99,2 % de etanol y 2 kg de aceite de linaza (Terrasol) que tenía un contenido total del 51,7 % en peso de ácidos grasos de ω -3 (51,7 de ALA). La mezcla se calentó a 80 °C con agitación a 250 rpm durante 25 minutos y a continuación se dejó enfriar a 35 °C con agitación suave. La mezcla enfriada se filtró en un embudo Buchner a través de un medio de filtro de trapo de poliéster con recogida por vacío de un primer filtrado. La torta del filtro se lavó con 2000 g de etanol que recogiendo un segundo filtrado que se mezcló con el primer filtrado y dicha mezcla se acidificó con 180 g de ácido sulfúrico concentrado dando como resultado la formación de una fase sólida dispersada. Dicha mezcla acidificada se mezcló con 7 g de ácido sulfónico de tolueno y se cargó en un reactor agitado que tiene un condensador externo conectado a la línea de vacío. Un 70 % de la carga se destiló a presión normal, a continuación, la mezcla acidificada concentrada se filtró por presión y se añadieron 20 g de hidróxido sódico al 50 % en etanol al filtrado seguido por evaporación completa de todo el etanol de la mezcla a una presión de 10 mbar y, a continuación, se dejó asentar y los sólidos asentados se separaron. El líquido sobrenadante que comprendía 871 g de ésteres de etilo crudos se lavó con agua y, a continuación, se suministró a una columna de destilación de trayectoria corta (UIC, KDL 5) y se sometió a dos etapas de destilación. En la primera etapa de destilación, la temperatura de la superficie de evaporación fue de 72 °C, la temperatura del condensador fue de 5 °C y la presión fue de 0,02 mbar. El resto de la primera etapa de destilación se destiló a una temperatura de 95 °C, una temperatura de condensador de 5 °C y a una presión de 0,01 mbar, obteniendo 580 g de resto de dicha segunda etapa de destilación del 89,6 % en peso de ésteres de etilo de ALA. El rendimiento completo de ácido graso de ω -3 fue del 45 %.

Ejemplo 4.

Obtención de un concentrado de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 a partir de aceite de krill.

- Las condiciones descritas en el Ejemplo 1 se replicaron utilizando aceite de krill al 27,5 % en peso de ácidos grasos de ω -3 (9,5 % de EPA y 15,4 % de DHA.). Se obtuvieron 354 g de destilado a partir de la segunda etapa de destilación que tenía un 92,3 % en peso de ésteres de ácido graso de ω -3 (28,3 % de EPA y 56,6 % de DHA).

El rendimiento completo de ácidos grasos de ω -3 fue del 54 %.

Ejemplo 5.

Obtención de un concentrado de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 a partir de una mezcla de aceite de sardina y de linaza.

Las condiciones descritas en el Ejemplo 1 se replicaron utilizando 500 g de aceite de linaza mezclado con 1.500 g de aceite de sardina. Se obtuvieron 514 g de destilado que tenía un 88,9 % en peso de ésteres de ácidos grasos de ω -3 (29,8 % de ALA, 26,3 % de EPA y 17,1 % de DHA)

- 5 El rendimiento completo de ácidos grasos de ω -3 fue del 47 %.

Ejemplo 6.

10 Obtención de un concentrado de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 a partir de ácidos grasos de aceite de pescado.

Se mezclaron 280 g de hidróxido de sodio en un reactor agitado de Parr de 20 l con 10 kg del 99,2 % de etanol y 2 kg de ácidos grasos de aceite de pescado (South Pacific Korp.) que tenía un contenido total del 26,8 % en peso de ácidos grasos de ω -3 (13,6 % de EPA y 9,2 % de DHA). La mezcla se calentó a 60 °C con agitación a 250 rpm durante 5 minutos y a continuación se dejó enfriar a 35 °C con agitación suave. La mezcla enfriada se filtró en un embudo Buchner a través de un medio de filtro de trapo de poliéster con recogida por vacío de un primer filtrado. La torta del filtro se lavó con 3.000 g de etanol que recogiendo un segundo filtrado que se mezcló con el primer filtrado y dicha mezcla se acidificó con 400 g de HCl al 36 % mezclado con 400 g de etanol dando como resultado la formación de una fase sólida dispersada, que se separó, posteriormente, mediante centrifugación de la mezcla acidificada enfriada obteniendo un líquido sobre nadante claro. Dicho líquido de sobrenadante se mezcló con 5 g de ácido sulfónico de tolueno y se cargó en un reactor agitado que tiene un condensador externo conectado a la línea de vacío. Un 70 % de la carga se destiló a presión normal, a continuación, se añadieron 100 g de hidróxido sódico al 8 % en etanol seguido por una evaporación de todo el etanol desde la mezcla a una presión de 10 mbar. El resto de la evaporación se filtró recuperando 820 g de éteres de etilo crudos que se suministraron a una columna de destilación de trayectoria corta (UIC, KDL 5) y se sometió a dos etapas de destilación. En la primera etapa de destilación, la temperatura de la superficie en evaporación fue de 84 °C, la temperatura del condensador fue de 5 °C y la presión fue de 0,02 mbar. El resto de la primera etapa de destilación se destiló a una temperatura de 114 °C, una temperatura de condensador de 5 °C y a una presión de 0,01 mbar, obteniendo 409 g de destilado de dicha segunda etapa de destilación del 87,0 % en peso de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 que comprendían un 40,5 % de EPA y un 33,5 % de DHA. El rendimiento completo de ácido graso de ω -3 fue del 60 %.

Ejemplo 8.

35 Obtención de un concentrado de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 a partir de un aceite de pescado que tiene bajo contenido en ácidos grasos de ω -3.

Se replicó el Ejemplo 1 utilizando un aceite de pescado crudo de baja calidad con un 23,5 % de ácidos grasos de ω -3 (12,5 % de EPA y 8,4 % de DHA) que tiene un número ácido de 19 mg de KOH/g.

- 40 Se obtuvo un destilado que comprendía el 90,3 % de ésteres de etilo de ácidos grasos de ω -3 con un 55,1 % de EPA y un 27,5 % de DHA. El rendimiento completo de ácidos grasos de ω -3 fue del 42 %.

Ejemplo 8.

45 Obtención de un concentrado de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 a partir de aceite de sardina.

Se mezclaron 280 g de hidróxido de sodio en un reactor agitado de Parr de 20 l con 6 kg del 99,2 % de etanol y 2 kg de aceite de sardina (South Pacific Korp.) que tenía un contenido total del 32,9 % en peso de ácidos grasos de ω -3 (16,8 % de EPA y 11,3 de DHA). La mezcla se calentó a 120 °C con agitación a 250 rpm durante 5 minutos y a continuación se dejó enfriar a 48 °C con agitación suave. La mezcla enfriada se filtró en un embudo Buchner a través de un medio de filtro de trapo de poliéster con recogida por vacío de un primer filtrado. La torta del filtro se lavó con 2.000 g de etanol recogiendo un segundo filtrado que se mezcló con el primer filtrado y se concentró mediante evaporación aproximadamente el 50 % del volumen y, a continuación, se enfrió a 0 °C y se filtró, obteniendo un tercer filtrado. Dicho filtrado se acidificó con 1.200 g de una solución de ácido sulfúrico-etanol al 10 % y la mezcla acidificada formada se enfrió a 0 °C hasta la formación de una fase sólida dispersada, que se separó, posteriormente, mediante centrifugación de la mezcla acidificada, obteniendo un líquido de sobrenadante claro.

Dicho líquido de sobrenadante se cargó en un reactor agitado que tiene un condensador externo conectado a la línea de vacío. Un 50 % de la carga se destiló a presión normal, a continuación se añadieron 25 g del 20 % de ácido sulfúrico en etanol a la mezcla formada y se calentó a 78 °C durante 30 minutos y se dejó enfriar a 20 °C. Se añadieron 100 g del 8 % de hidróxido sódico en etanol a la mezcla enfriada, seguido por la evaporación completa del etanol desde la mezcla a una presión de 10 mbar. El resto de la evaporación se dejó asentar. El líquido sobrenadante que comprendía 556 g de éteres de etilo crudos se lavó con agua y, a continuación, se suministró a una columna de destilación de trayectoria corta (UIC, KDL 5) y se sometió a dos etapas de destilación. En la primera etapa de destilación, la temperatura de la superficie en evaporación fue de 88 °C, la temperatura del condensador fue de 5 °C y la presión fue de 0,02 mbar. El resto de la primera etapa de destilación se destiló a una temperatura de

115 °C, una temperatura de condensador de 5 °C y a una presión de 0,01 mbar, obteniendo un resto de dicha segunda etapa de destilación del 99,7 % en peso de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3.

Ejemplo 9

5 Análisis de ácidos grasos *trans* en concentrados de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3.

Las muestras de los concentrados obtenidos en los ejemplos 1 a 8 se sometieron para la detección de ácidos grasos *trans* por medio de cromatografía por gas. Ninguna de las muestras mostró la presencia de ácidos grasos *trans*.

10 **Ejemplo 10.**

Análisis de ácidos grasos conjugados en concentrados de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3

15 Las muestras de los concentrados obtenidos en los ejemplos 1 a 8 se sometieron para la detección de ácidos grasos conjugados por medio de espectroscopía por absorción UV. Ninguna de las muestras mostró la presencia de ácidos grasos conjugados.

Ejemplo 11.

20 Análisis de dietil sulfato (DES) en concentrados de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3

25 Las muestras de los concentrados obtenidos en los ejemplos 1 a 8 se sometieron para la detección de ácidos grasos conjugados por medio de espectroscopía por absorción UV. Ninguna de las muestras mostró la presencia de ácidos grasos conjugados.

Ejemplo 12.

30 Determinación de acidez de titulación (contenido de ácido libre), valor de peróxido y valor de anisidina en concentrados de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3.

35 Las muestras de los concentrados obtenidos en los ejemplos 1 a 8 se sometieron a la determinación de acidez de titulación (contenido de ácido libre), valor de peróxido y valor de anisidina de acuerdo con los procedimientos de los *Métodos oficiales y prácticas recomendadas por la AOCS*.

El contenido de ácido libre de todas las muestras fue inferior a 1 mg de KOH/g, el contenido de peróxido fue inferior a 3 meq/kg y el valor de anisidina fue inferior a 15.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso eficaz y sencillo para obtener un concentrado que contiene más del 80 % en peso de ésteres de etilo de ácido graso de ω -3 a partir de una composición de material que comprende ésteres de ácido graso de ω -3 o ácidos grasos de ω -3 libres, comprendiendo el proceso las etapas de:
- 5
- a) poner en contacto la composición de material con etanol que tiene un contenido de etanol de al menos el 96 % en peso y que contiene un 4 % en peso o inferior de agua y un hidróxido de metal alcalino a una temperatura de entre 60 °C y 200 °C para formar una mezcla líquida que comprende sales de metal alcalino o ácidos grasos;
- 10
- b) enfriar la mezcla líquida a una temperatura de entre 50 y -20 °C para formar un sólido y una fase líquida y separar la fase líquida que comprende ácidos grasos de ω -3 de la fase sólida;
- 15
- c) poner en contacto la fase líquida separada de la etapa b) con un ácido para formar una mezcla acidificada con un contenido de agua por debajo del 10 %, en el que la mezcla consiste en una fase sólida que incluye la sal de metal alcalino del ácido y una fase líquida que comprende ácidos grasos de ω -3;
- 20
- d) calentar la mezcla acidificada de la etapa c) libre de sales del metal alcalino en presencia de un catalizador de esterificación a una temperatura de entre 50 °C y 150 °C para formar una mezcla que comprende ésteres de etilo de ácidos grasos de ω -3;
- e) poner en contacto la mezcla de la etapa d) con un alcalino para formar una mezcla neutralizada; y
- 25
- f) destilar la mezcla neutralizada para obtener un destilado que comprende más del 80 % de éteres de etilo de ácidos grasos de ω -3.
2. El proceso de la reivindicación 1, en el que la temperatura en la etapa a) es de entre 90 °C y 150 °C.
3. El proceso de la reivindicación 1, en el que la temperatura en la etapa a) es de 120 °C.
- 30
4. El proceso de la reivindicación 1, en el que la temperatura en la etapa b) es de entre 50 °C y 0 °C.
5. El proceso de la reivindicación 1, en el que el ácido en la etapa c) es ácido sulfúrico o ácido clorhídrico y en el que el ácido tiene una temperatura de entre 90 °C y 150 °C.