

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 369 043**

51 Int. Cl.:

C11B 1/10 (2006.01)

C12P 7/64 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06763775 .1**

96 Fecha de presentación: **19.06.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1893731**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **05.03.2008**

54 Título: **PROCESO PARA OBTENER UN LÍPIDO A PARTIR DE CÉLULAS.**

30 Prioridad:
23.06.2005 EP 05105622
23.06.2005 US 693073 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
24.11.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
24.11.2011

73 Titular/es:
DSM IP ASSETS B.V.
HET OVERLOON 1
6411 TE HEERLEN, NL y
MARTEK BIOSCIENCES CORPORATION

72 Inventor/es:
BIJL, Hendrik, Louis;
VERKOEIJEN, Daniel y
NIGGLI, Heinz

74 Agente: **Lehmann Novo, Isabel**

ES 2 369 043 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

Proceso para obtener un lípido a partir de células

5 La presente invención se refiere a un proceso para obtener un lípido a partir de una composición que comprende células y agua.

10 Los lípidos pueden ser producidos por microorganismos, por ejemplo, en un proceso de fermentación. También pueden estar presentes en células vegetales. Los lípidos tienen muchos usos y pueden, por ejemplo, ser incluidos en alimentos, piensos, suplementos nutricionales y productos farmacéuticos.

15 La obtención de un lípido a partir de células suele implicar obtener el lípido a partir de una composición que comprende células y agua. La composición puede, por ejemplo, ser un caldo de fermentación o un producto parcialmente deshidratado obteniendo separando parte del agua de un caldo de fermentación, por ejemplo, mediante técnicas de separación mecánica. Se sabe que existen varios procesos para permitir la recuperación de un lípido a partir de una composición que comprende células y agua. Por ejemplo, existe constancia del secado de la composición mediante la deshidratación por aspersión y la recuperación del lípido a partir del producto deshidratado por extracción con un disolvente orgánico. Sin embargo, la calidad del lípido puede verse afectada por las condiciones predominantes durante la deshidratación por aspersión. Es más, la morfología del producto seco puede hacer que la extracción subsecuente sea menos eficaz.

20 El documento WO-A-97/36996 describe un proceso para obtener un lípido a partir de células microbianas, que implica la granulación de las células en forma de gránulos, preferentemente mediante extrusión. Los gránulos se secan y el lípido se obtiene a partir de los gránulos secos, por ejemplo, mediante extracción con un disolvente orgánico. La extracción es eficaz, el lípido resultante es de alta calidad y el rendimiento, es decir, la cantidad de lípido recuperado por cantidad de lípido presente en las células, es elevado.

25 A pesar de la ventaja del proceso de WO-A-97/36996, se sigue deseando mejorar aún más. En particular, el proceso implica relativamente muchos pasos, tales como la granulación y el secado de los gránulos. Es más, el paso de secado requiere energía. Por lo tanto, se desea un proceso que requiera menos pasos, en el que se pueda ahorrar energía y que permita la extracción del lípido de forma eficaz.

30 Este objetivo se consigue de acuerdo con la invención proporcionando un proceso para obtener un lípido a partir de una composición que comprende células y agua, dicho proceso comprende:

- 35 (a) poner en contacto la composición con un desecante; y
(b) recuperar el lípido de las células.

40 El proceso de acuerdo con la invención permite obtener un lípido de alta calidad con un rendimiento elevado. De acuerdo con la invención, el secado de las células mediante calentamiento antes de recuperar el lípido de las células no es necesario. Esta es una ventaja particular para los lípidos termosensibles, por ejemplo, lípidos que comprenden un ácido graso poliinsaturado (PUFA, por sus siglas en inglés). El proceso de acuerdo con la invención además tiene la ventaja de que se evita o minimiza la formación de finos o polvo (que se forman, por ejemplo, mediante procesos de la técnica anterior que implican la deshidratación por aspersión o la molienda). Además, se ha descubierto que (cuando el lípido se recupera mediante extracción con un disolvente) cantidades relativamente pequeñas de disolvente son suficientes para obtener un rendimiento relativamente elevado. La invención también permite recuperar el lípido mediante extracción en presencia de un desecante, es decir, sin que se necesite separar el desecante de las células. Por lo tanto, la extracción se puede llevar a cabo en presencia de agua adsorbida al desecante o absorbida por este. Esto es sorprendente ya que la técnica anterior recomienda eliminar el agua para obtener rendimientos elevados (remítase, p. ej., a WO-A-97/36996).

45 El proceso de acuerdo con la invención comprende poner en contacto la composición que comprende células y agua con un desecante. Como resultado, el agua de la composición es capturada por el desecante. La captación de agua puede ser mediante adsorción y/o absorción. El desecante no se limita a un desecante específico y se pueden emplear varios tipos de agentes capaces de capturar el agua de la composición mediante adsorción y/o absorción como desecante. También se hace referencia a tales agentes en la técnica como adsorbentes y/o absorbentes.

50 Los ejemplos de desecantes que se pueden utilizar en el proceso son, por ejemplo, sílice (p. ej., gel de sílice), carbón activo, alúmina activada, un tamiz molecular (p. ej., un tamiz molecular de carbón o una zeolita) o un polímero reticulado (p. ej., un poliacrilato). Se prefiere sílice. Preferentemente, el desecante está en forma particulada.

55 Preferentemente, el desecante tiene una capacidad de absorción elevada. La capacidad de absorción se refiere a la cantidad de agua que puede ser absorbida por cantidad de desecante. Una capacidad de absorción relativamente elevada presenta la ventaja de que se pueden obtener rendimientos de extracción óptimos utilizando cantidades relativamente pequeñas de desecante. El desecante puede tener una capacidad de absorción de al menos 50 g de agua por 100 g de desecante, preferentemente al menos 100 g de agua por 100 g de desecante. No existe límite superior específico para la capacidad de absorción. En la práctica, la capacidad de absorción de agua es inferior a 20 000 g de

agua por 100 g de desecante, por ejemplo, inferior a 10 000 g de agua por 100 g de desecante. Como se utiliza en la presente, el peso del desecante se refiere al peso del desecante anhidro. La capacidad de absorción se puede determinar mediante técnicas con las que estará familiarizado un experto. Un método adecuado es la absorción de BDP, por ejemplo, conforme con DIN 53601.

5 Preferentemente, el desecante tiene un área superficial específica elevada. Un área superficial específica elevada presenta la ventaja de que se pueden obtener rendimientos de extracción óptimos utilizando cantidades relativamente pequeñas de desecante. El desecante puede, por ejemplo, tener un área superficial específica de al menos 25 m²/g, preferentemente de al menos 50 m²/g, preferentemente de al menos 100 m²/g. No existe límite superior específico para el área superficial específica del desecante. En la práctica, el área superficial específica es inferior a 2000 m²/g, por ejemplo, inferior a 1000 m²/g. El área superficial específica se puede determinar mediante técnicas con las que estará familiarizado un experto, por ejemplo, conforme con ISO 5794/1, Anexo D.

15 En una realización preferida, el desecante es poroso. Este presenta la ventaja de que el área superficial disponible para la adsorción es relativamente elevada.

20 En el proceso de acuerdo con la invención, la composición que se pone en contacto con el desecante puede comprender agua en cualquier cantidad adecuada. El contenido de agua de la composición que se pone en contacto con el desecante puede ser, por ejemplo, de al menos un 5% en peso, por ejemplo, de al menos un 10% en peso, por ejemplo, de al menos un 20% en peso, por ejemplo, de al menos un 30% en peso. No existe límite superior específico para el contenido de agua de la composición que se pone en contacto con el desecante. El contenido de agua de la composición que se pone en contacto con el desecante puede ser, por ejemplo, inferior a un 98% en peso, preferentemente inferior a un 95% en peso, preferentemente inferior a un 90% en peso, preferentemente inferior a un 80% en peso, preferentemente inferior a un 70% en peso. Un contenido de agua menor presenta la ventaja de que se puede utilizar menos desecante para obtener un rendimiento óptimo.

25 Como se utiliza en la presente, el contenido de agua de las células viene determinado por $W_a/(W_{células}+W_a)*100\%$ donde:

30 W_a = peso del agua de la composición

$W_{células}$ = peso de la materia seca de las células de la composición.

Un experto comprenderá que el peso de la materia seca de las células ($W_{células}$) se refiere al peso de las células deshidratadas, pero incluye el peso del lípido. Cabe destacar que el peso del agua comprendida en la composición (W_a) incluye el peso total de agua en la composición, incluida el agua intracelular, intercelular y extracelular. Los valores de W_a y $W_{células}$, y por consiguiente el contenido de agua de la composición se pueden determinar mediante métodos con los cuales estará familiarizado un experto, por ejemplo, evaporando el agua a una temperatura de 105 °C y determinando el peso del agua evaporada y las células remanentes. Se puede utilizar, por ejemplo, una balanza para determinar la materia seca con secado por infrarrojos.

40 En una realización preferida, la invención proporciona cantidades preferidas del desecante que se pone en contacto con la composición. Se ha descubierto que el rendimiento de la extracción aumenta al aumentar la cantidad de desecante que se pone en contacto con la composición hasta que se consigue un rendimiento óptimo. Sobre la base de este descubrimiento proporcionado por la invención, un experto puede determinar (variando la cantidad de desecante) la cantidad óptima de desecante en cualquier situación.

45 En particular, se ha descubierto que las cantidades preferidas de desecante dependen del contenido de agua de la composición y de las propiedades del desecante. En una realización preferida, $W_{des}/(W_{células(a)}+W_{a(a)}) > (1/X)^{(1-W_{células(a)}/(0,8*(W_{células(a)}+W_{a(a)})))$, donde:

W_{des} = peso del desecante que se pone en contacto con la composición en (a)

50 $W_{células(a)}$ = peso de la materia seca de las células en la composición que se pone en contacto con el desecante en (a)

$W_{a(a)}$ = peso del agua de la composición que se pone en contacto con el desecante en (a)

X = capacidad de absorción del desecante.

En otra realización preferida,

55 $W_{des}/(W_{células(a)}+W_{a(a)}) > (1/X)^{(1-W_{células(a)}/(0,9*(W_{células(a)}+W_{a(a)})))$.

En una realización preferida, el proceso de acuerdo con la invención comprende poner en contacto la composición con una cantidad de desecante tal que el rendimiento sea de al menos un 70%, preferentemente de al menos un 80%, más preferentemente de al menos un 85%, más preferentemente de al menos un 90%. Como se utiliza en la presente, el rendimiento se refiere a la cantidad de lípido recuperado de las células por cantidad de lípido presente en las células.

60 La composición que se pone en contacto con el desecante puede ser cualquier composición adecuada que comprenda células y agua de la cual se pueda obtener un lípido. La composición puede ser, por ejemplo, un caldo de fermentación o un producto parcialmente deshidratado obtenido de la separación de agua, por ejemplo mediante separación mecánica, de un caldo de fermentación. La composición puede ser, por ejemplo, una masa húmeda, un lodo, una suspensión, un concentrado y/o una crema. Aunque la granulación no sea necesaria de acuerdo con la invención, el

proceso de acuerdo con la invención también ofrece ventajas cuando las células están en forma de un granulado, por ejemplo, un extrusado.

5 Se puede poner en contacto la composición con el desecante de cualquier forma adecuada, preferentemente mezclando la composición con el desecante para obtener una mezcla que comprenda las células y el desecante. El lípido se puede recuperar de la mezcla, por ejemplo, mediante extracción con un disolvente.

10 En vista de lo anterior, en una realización preferida, la invención proporciona un proceso para obtener un lípido a partir de una composición que comprende células y agua, donde dicho proceso comprende (a) mezclar la composición con un desecante para obtener una mezcla que comprende las células y el desecante; y (b) recuperar el lípido de la mezcla.

15 En otro aspecto, la invención también proporciona una mezcla que comprende (i) células que comprenden un lípido y (ii) desecante, de acuerdo con la reivindicación 27. Cabe destacar que los aspectos y/o las realizaciones preferidas del proceso de acuerdo con la invención se aplican también a la mezcla de acuerdo con la invención. En WO-A-00/77183 se describe una mezcla de células vegetales, fosfolípidos y un desecante.

20 En una realización preferida, la mezcla comprende además agua, donde $W_{des,mez}/(W_{células,mez}+W_{a,mez}) > (1/X) (1-W_{células,mez}/(0,8*(W_{células,mez} + W_{a,mez})))$, preferentemente $W_{des,mez}/(W_{células,mez}+W_{a,mez}) > (1/X) (1-W_{células,mez}/(0,9*(W_{células,mez} + W_{a,mez})))$, donde:

$W_{des,mez}$ = peso del desecante en la mezcla
 $W_{células,mez}$ = peso de la materia seca de las células en la mezcla
 $W_{a,mez}$ = peso del agua en la mezcla
 X = capacidad de absorción del desecante.

25 La mezcla se puede realizar en cualquier mezclador adecuado, por ejemplo, en un mezclador de alta velocidad, por ejemplo, un mezclador de tornillo orbital, un mezclador de palas, un mezclador de paletas, un mezclador de tambor con barras intensificadoras o un mezclador Diosna.

30 El lípido se puede recuperar de las células resultantes del contacto en (a) de cualquier forma adecuada. El lípido puede, por ejemplo, recuperarse de las células, por ejemplo, extrayendo con un disolvente, después o durante la puesta en contacto de la composición con el desecante.

35 En una realización preferida, el lípido se recupera de las células mediante extracción con un disolvente. Se pueden utilizar muchos tipos de disolventes. El disolvente puede ser, por ejemplo, un éster de alquilo C₁₋₁₀ (p. ej., acetato de etilo o butilo), tolueno, un alcohol C₁₋₃ (p. ej., metanol, propanol), alcanos C₃₋₆ (p. ej., hexanos) o un fluido supercrítico (p. ej., CO₂ líquido o propano supercrítico). También son posibles mezclas de disolventes. En una realización preferida, el disolvente es un disolvente orgánico. El proceso de acuerdo con la invención es especialmente ventajoso si el disolvente es un disolvente apolar. Más preferentemente, el disolvente es hexano o CO₂ supercrítico.

40 Las células o la mezcla que comprende las células se puede poner en contacto con el disolvente de cualquier forma adecuada, por ejemplo, mediante extracción por percolación, extracción contracorriente o extracción en un mezclador. Se prefiere la extracción en un mezclador. En una realización preferida, se utilizan de 2 a 40 partes en peso de disolvente por partes en peso de células.

45 En una realización de la invención, al menos parte del desecante (p. ej., al menos el 50%) se separa de la mezcla antes de poner las células en contacto con el disolvente. En una realización preferida, la mezcla comprende las células y al menos parte del desecante está en contacto con el disolvente. Por consiguiente, se puede llevar a cabo la recuperación del lípido mediante extracción con un disolvente en presencia del desecante (al menos en parte). Esto presenta la ventaja de que no se necesita un paso de separación del desecante de las células. Sorprendentemente, el proceso de acuerdo con la invención sigue produciendo una extracción eficaz, incluso en presencia de agua. En una realización,

$$W_{a(b)}/W_{células(b)} > 0,5*W_{a(a)}/W_{células(a)}$$

donde:

$W_{a(b)}$ = peso del agua en la mezcla de la cual se recupera el lípido en (b)
 $W_{células(b)}$ = peso de la materia seca de las células en la mezcla de la cual se recupera el lípido en (b)
 $W_{a(a)}$ = peso del agua en la composición que se pone en contacto con el desecante en (a)
 $W_{células(a)}$ = peso de la materia seca de las células en la composición que se pone en contacto con el desecante

en (a).

En otra realización, $W_{a(b)}/W_{células(b)} > 0,7*W_{a(a)}/W_{células(a)}$.

En otra realización, $W_{a(b)}/W_{células(b)} > 0,8*W_{a(a)}/W_{células(a)}$.

En otra realización, $W_{a(b)}/W_{células(b)} > 0,9*W_{a(a)}/W_{células(a)}$.

60 El proceso de acuerdo con la invención se puede utilizar para obtener una gran variedad de lípidos de muchos tipos de células. El lípido puede comprender, por ejemplo, uno o más de los siguientes compuestos: lipstatina, estatina, TAPS, pimarcina, nistatina, antibiótico liposoluble (p. ej., laidlomocina), antioxidante liposoluble (p. ej., coenzima Q10), colesterol, fitosterol, desmosterol, tocotrienol, tocoferol, carotenoide o xantófilos, por ejemplo, betacaroteno, luteína,

- licopeno, astaxantina, zeaxantina o cantaxantina, ácidos grasos, tales como ácidos linoleicos conjugados o ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). En una realización preferida, el lípido comprende al menos uno de los compuestos mencionados anteriormente con una concentración de un 5% en peso, más preferentemente de al menos un 10% en peso (con respecto al peso del lípido).
- 5 Se puede obtener un lípido que comprende, por ejemplo, triglicérido, fosfolípido, ácido graso libre, éster de ácido graso (p. ej., éster de metilo o etilo) y/o combinaciones de estos. En una realización preferida, el lípido tiene un contenido de triglicéridos de al menos un 50%, más preferentemente de al menos un 70%, de forma óptima de al menos un 90%.
- 10 En una realización particularmente preferida de la invención, el lípido comprende un ácido graso poliinsaturado (PUFA), por ejemplo un PUFA que contiene al menos 18 átomos de carbono, por ejemplo, un PUFA C18, C20 o C22. En una realización preferida, el PUFA es un PUFA omega-3 ($\Omega 3$) o un PUFA omega-6 ($\Omega 6$). Preferentemente, el PUFA tiene al menos 3 dobles enlaces. Los PUFA preferidos son:
- 15 ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 $\Omega 3$);
 ácido γ -linolénico (GLA, 18:3 $\Omega 6$);
 ácido α -linolénico (ALA, 18:3 $\Omega 3$);
 ácido dihomo- γ -linolénico (DGLA, 20:3 $\Omega 6$);
 ácido araquidónico (ARA, 20:4 $\Omega 6$) y
 ácido eicosapentaenoico (EPA; 20:5 $\Omega 3$).
- 20 En una realización preferida, el lípido comprende al menos un PUFA (por ejemplo, ARA o DHA) con una concentración de al menos un 5% en peso, por ejemplo, al menos un 10% en peso, por ejemplo, al menos un 20% en peso (con respecto al peso del lípido).
- 25 El PUFA puede estar en forma de un (mono-, di- o tri)glicérido, fosfolípido, ácido graso libre, éster de ácido graso (p. ej., éster de metilo o etilo) y/o combinaciones de estos. Preferentemente, se obtiene un lípido en el que al menos un 50% de todos los PUFA estén en forma de triglicérido.
- 30 El lípido puede ser un aceite o una grasa, por ejemplo, un aceite que comprende un PUFA. Las realizaciones preferidas para el lípido se aplican al aceite o a la grasa *mutatis mutandis*.
- Las células pueden ser cualesquiera células que comprendan un lípido. Normalmente, las células han producido el lípido. Las células pueden ser células enteras o células fraccionadas. Las células pueden ser de cualquier origen adecuado. Las células pueden ser, por ejemplo, células vegetales, por ejemplo, células de semillas, o células de un microorganismo (células microbianas). Los ejemplos de células microbianas son células de levaduras, células bacterianas, células fúngicas y células algáceas. Se prefieren los hongos, preferentemente los del orden de los *Mucorales*, por ejemplo, *Mortierella*, *Phycomyces*, *Blakeslea*, *Aspergillus*, *Thraustochytrium*, *Pythium* o *Entomophthora*. La fuente preferida de ácido araquidónico (ARA) es *Mortierella alpina*, *Blakeslea trispora*, *Aspergillus terreus* o *Pythium insidiosum*. Las algas pueden ser dinoflagelados y/o incluir *Porphyridium*, *Nitzschia* o *Cryptocodinium* (p. ej., *Cryptocodinium cohnii*). Las levaduras incluyen las del género *Pichia* o *Saccharomyces*, tales como *Pichia ciferii*. Las bacterias pueden ser del género *Propionibacterium*. Los ejemplos de células vegetales que comprenden un lípido son células de semillas de soja, colza, canola, girasol, coco, lino y palmera. En una realización de la invención, las células son células vegetales que comprenden un lípido, dicho lípido comprende ARA.
- 45 En una realización de la invención, las células se producen mediante fermentación. Un experto estará familiarizado con los procesos adecuados para la fermentación y estos se describen, por ejemplo, en WO-A-9737032. Preferentemente, las células producidas por fermentación se calientan o pasteurizan.
- 50 En una realización preferida, el proceso de acuerdo con la invención comprende uno o más de los siguientes pasos antes de poner en contacto la composición con el desecante: (i) calentar o pasteurizar las células; (ii) separar el agua de las células mediante separación mecánica; (iii) lavar las células; y (iv) prensar las células.
- El calentamiento o la pasteurización se pueden llevar a cabo a una temperatura de 65 a 120 °C. Esto puede inactivar o desnaturalizar enzimas tales como lipasas y/o lipoxigenasas.
- 55 Se puede utilizar convenientemente la separación del agua de las células mediante separación mecánica para obtener los valores preferidos para el contenido de agua y/o el contenido de materia seca descritos anteriormente en la presente. La separación mecánica puede, por ejemplo, implicar filtrar, centrifugar, prensar, sedimentar o el uso de un hidrociclón.
- 60 El lípido se puede tratar además de cualquier forma adecuada. Si el lípido se recupera mediante extracción con un disolvente, el lípido se puede separar del disolvente mediante evaporación del disolvente.
- 65 El lípido obtenido o que se puede obtener mediante el proceso de acuerdo con la invención se puede someter a otros tratamientos, por ejemplo, tratamiento ácido (también denominado desgomado), tratamiento alcalino (también denominado neutralización), decoloración, desodorización, enfriamiento (también denominado winterización).

El lípido obtenido o que se puede obtener mediante el proceso de acuerdo con la invención tiene muchos usos. Por ejemplo, se puede utilizar para preparar un producto alimentario, por ejemplo, un producto alimentario para humanos (p. ej., preparado para lactantes) o un producto alimentario para animales. También se puede utilizar para preparar un producto farmacéutico o un producto cosmético.

5

La invención se explicará a continuación haciendo referencia a los siguientes ejemplos pero sin que estos la limiten.

Ejemplos

10

Experimento A de comparación

Se obtuvo un caldo de fermentación que contenía ARA mediante la fermentación de *Mortierella alpina* en las condiciones descritas en WO-A-9736996, página 45, y se pasteurizó posteriormente a 65 °C durante una hora. El caldo se filtró utilizando un filtro de banda, se lavó con agua para eliminar los componentes residuales del medio y se prensó. El contenido de agua de la masa retenida en el filtro prensada fue de un 60,7% en peso. El contenido en materia seca (células, incluido el aceite de las células) fue de un 39,3% en peso. La masa retenida en el filtro prensada se extruyó como se describe en WO-A-973699 y a continuación se secó hasta un contenido de materia seca de un 94% en peso utilizando un secador en lecho fluidizado.

15

20

La extracción se llevó a cabo como se indica a continuación. En una primera etapa de extracción, se agregaron 100 g del producto seco obtenido como se describe anteriormente a 300 mL de *n*-hexano de calidad de laboratorio y se agitó magnéticamente a temperatura ambiente (20 °C) durante una hora. Después de la primera etapa de extracción, la fase líquida (que comprendía aceite disuelto en hexano) se decantó de los sólidos (que comprendían células). En una segunda etapa de extracción, los sólidos remanentes se agregaron a 250 mL de *n*-hexano y se agitó durante 30 minutos. Después de la segunda etapa de extracción, la fase líquida (que comprendía aceite disuelto en hexano) se separó de los sólidos mediante filtración al vacío. Se combinó la fase líquida de la primera con la de la segunda etapa de extracción, después de lo cual el hexano se evaporó utilizando un Rotavapor® adquirido de Büchi, Suiza, que operaba a 68 °C y a una presión de entre 100 y 400 mbara durante 30 minutos.

25

30

A efectos de esta solicitud de patente, el rendimiento (de aceite que contiene ARA) para el experimento A de comparación se define como el 100%. Los rendimientos obtenidos en los siguientes experimentos se presentan con respecto al rendimiento del experimento A de comparación.

Experimento B de referencia

El experimento A de comparación se repitió con la diferencia de que no se llevó a cabo ninguna extrusión ni secado. La mezcla se extruyó utilizando el mismo procedimiento que se describe en el experimento A de comparación. El rendimiento fue de un 29,68%.

35

Ejemplo 1

El experimento B de referencia se repitió con la diferencia de que se disgregaron 82 partes en peso de la masa retenida en el filtro prensada y se mezclaron con 18 partes en peso de sílice (SIPERNAT® 22 obtenida de Degussa AG, Alemania) en un mezclador de alta velocidad Hobart. La extracción se llevó a cabo de la misma forma. El rendimiento fue de un 84,68%, lo cual supone un aumento del 55% en comparación con el experimento de referencia en el que no se empleó desecante.

40

45

Ejemplo 2

El ejemplo 1 se repitió con la diferencia de que la cantidad de sílice se incrementó desde 18 partes en peso hasta 25 partes en peso. Esto produjo un aumento del rendimiento (del 4,8%) hasta un valor de 89,48%.

Ejemplo 3

El ejemplo 2 se repitió con la diferencia de que la cantidad de sílice se incrementó aún más desde 25 partes en peso hasta 35 partes en peso. Esto produjo un aumento adicional del rendimiento del 7,53% hasta un valor de 97,01%.

50

55

En la tabla 1 se presenta un resumen de los ejemplos 1, 2 y 3, y los experimentos A y B. Esta tabla muestra que el uso de un desecante produce un aumento del rendimiento de la extracción y que el rendimiento de la extracción aumenta al aumentar la cantidad de desecante empleado. Esto permite obtener rendimientos de extracción óptimos variando la cantidad de sílice empleada. Los experimentos muestran que se puede obtener prácticamente el mismo rendimiento utilizando un desecante de acuerdo con la invención y que la extrusión y el secado no son necesarios.

Tabla 1. Rendimiento obtenido mediante el proceso de acuerdo con la invención frente al rendimiento de los experimentos A y B

Ej. N.º	Masa(% en peso)	Sílice (% en peso)	Rendimiento
A de comp.	Extrusión y secado		100
Exp. B de ref.	100	0	29,68
Ejemplo 1	82	18	84,68
Ejemplo 2	75	25	89,48
Ejemplo 3	65	35	97,01

5 El lípido obtenido mediante el proceso de acuerdo con la invención y el obtenido mediante el proceso que implicaba extrusión y secado tienen prácticamente la misma composición, remítase a la tabla 2.

Ejemplo 4

10 Se preparó una masa retenida en el filtro prensada (*Mortierella alpina*) con un contenido en materia seca de un 45,6% como se describe en los ejemplos anteriores. Se mezclaron 50 g de esta masa con 5 g de poliacrilato superabsorbente (Luquasorb® FP 800, adquirido de BASF, Alemania). La mezcla obtenida se extrajo con 250 mL de hexano con agitación. La cantidad de aceite que contenía ARA extraído se determinó 7 horas después de la extracción (después de evaporar el hexano) y se determinó que era de 7,8 g.

Ejemplo 5

15 El ejemplo 4 se repitió con la diferencia de que se utilizaron 10 g de desecante de sílice (SIPERNAT® 22, adquirido de Degussa AG, Alemania) en vez de 5 g de poliacrilato. 7 horas después de la extracción, la cantidad de aceite que contenía ARA extraído fue de 7,8 g.

20 Cuando se lleva a cabo la extracción de los ejemplos 4 y 5 utilizando extrusados como los descritos en WO-A-9736996 (en ausencia de desecante) se obtienen de 7,65 a 8,1 de aceite extraído.

Se puede observar claramente que utilizando un desecante de acuerdo con la invención se puede obtener el mismo rendimiento sin necesidad de granular/extrudir y/o secar mediante evaporación.

25 Tabla 2. Composición del lípido (aceite) obtenido mediante el proceso de acuerdo con la invención frente a los experimentos A y B

	Invención (como los ejemplos 1-3, pero con 20 partes en peso de sílice)	Experimento A de comparación (extrusión + secado)
ARA (kg/Kg)	404,5	421,5
% de ARA de los ácidos grasos totales	46,4	46,8
Polímeros	0,6	0,5
Triglicéridos	91,9	92,2
Diglicéridos	5,5	5,4
Esteroles	2	2
C14:0	0,6	0,6
C16:0	13,1	13,1
C17:0	0,4	0,4
C18:0	9,3	9,4
C18:1w9c	8,5	8,4
C18:1w7c	0,5	0,4
C18:2w6	7,6	7,4
C20:0	0,9	0,9
C18:3w6	3,9	3,6
C20:1w9	0,3	0,3
C20:2	0,7	0,7
C22:2	1,6	1,6
C20:3w6	4,7	4,7
C24:0	1,5	1,6

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para obtener un lípido a partir de una composición que comprende células y agua, donde dicho proceso comprende:
 - (a) poner en contacto la composición con un desecante; y
 - (b) recuperar el lípido de las células.
2. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el desecante tiene una capacidad de absorción de al menos 50 g de agua por 100 g de desecante.
3. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde el desecante es poroso.
4. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde el desecante tiene un área superficial específica de al menos 25 m²/g.
5. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde el desecante se selecciona entre sílice, carbón activo, alúmina activada, un tamiz molecular (p. ej., un tamiz molecular de carbón o una zeolita) o un polímero reticulado (p. ej., un poliacrilato).
6. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde el desecante es sílice.
7. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde $W_{des}/(W_{células(a)}+W_{a(a)}) > (1/X) * (1-W_{células(a)}/(0,8*(W_{células(a)}+W_{a(a)})))$, donde:

W_{des} = peso del desecante que se pone en contacto con la composición en (a)

$W_{células(a)}$ = peso de la materia seca de las células en la composición que se pone en contacto con el desecante en (a)

$W_{a(a)}$ = peso del agua de la composición que se pone en contacto con el desecante en (a)

X = capacidad de absorción del desecante.
8. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde el proceso comprende obtener las células mediante fermentación.
9. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde la composición que se pone en contacto con el desecante en (a) es un caldo de fermentación o donde la composición que se pone en contacto con el desecante en (a) se obtiene separando el agua del caldo de fermentación, por ejemplo, mediante separación mecánica.
10. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde la composición que se pone en contacto con el desecante en (a) tiene un contenido de agua de entre un 5 y un 95% en peso.
11. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde (a) comprende mezclar la composición con el desecante para obtener una mezcla que comprende células y desecante; y donde (b) comprende recuperar el lípido de la mezcla, opcionalmente en la presencia de al menos parte del desecante.
12. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 11, donde dicho proceso comprende al menos uno de los siguientes:
 - (i) separar al menos parte del desecante de la mezcla; y/o
 - (ii) $W_{a(b)}/W_{células(b)} > 0,5*W_{a(a)}/W_{células(a)}$, donde:

$W_{a(b)}$ = peso del agua en la mezcla de la cual se recupera el lípido en (b)

$W_{células(b)}$ = peso de la materia seca de las células en la mezcla de la cual se recupera el lípido en (b)

$W_{a(a)}$ = peso del agua en la composición que se pone en contacto con el desecante en (a)

$W_{células(a)}$ = peso de la materia seca de las células en la composición que se pone en contacto con el desecante en (a).
13. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde (b) comprende recuperar el lípido mediante extracción con un disolvente.
14. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde el disolvente es un disolvente apolar, por ejemplo, un alcano C₃₋₆, preferentemente hexano.
15. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde el disolvente es un fluido supercrítico, por ejemplo, CO₂ líquido o propano supercrítico.
16. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde dicho proceso no comprende después de (a) ni antes de (b):

un paso de secado que implica calentar las células; y/o granular las células para obtener partículas granulares.

17. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde las células son células microbianas, por ejemplo, células de levaduras, células bacterianas, células fúngicas o células algáceas.
- 5 18. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde las células son del género *Mortierella* o de *Pythium* o *Entomophthora*.
- 10 19. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde las células son del género *Cryptocodinium* o del orden de los *Thraustochytriales*, por ejemplo, del género *Thraustochytrium* o *Schizochytrium*.
20. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde las células son células vegetales, por ejemplo, células de semillas o nueces.
- 15 21. El proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde dicho lípido comprende un ácido graso poliinsaturado (PUFA), por ejemplo, un PUFA Ω -3 o un PUFA Ω -6.
- 20 22. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde dicho PUFA es un PUFA que contiene al menos 18 átomos de carbono.
23. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde dicho PUFA es el ácido araquidónico (ARA).
- 25 24. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde dicho PUFA es el ácido docosahexaenoico (DHA).
26. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde dicho lípido comprende al menos un 5% en peso de dicho PUFA.
- 30 26. Un proceso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, donde dicho lípido comprende uno o más de los siguientes compuestos: lipstatina, estatina, TAPS, pimarcina, nistatina, antibiótico liposoluble (p. ej., laidlomocina), un antioxidante liposoluble (p. ej., coenzima Q10), colesterol, fitosterol, desmosterol, tocotrienol, tocoferol, carotenoide o xantófilos, por ejemplo, betacaroteno, luteína, licopeno, astaxantina, zeaxantina o cantaxantina.
- 35 27. Una mezcla que comprende (i) células que comprenden un lípido y (ii) un desecante, donde dicho lípido es un lípido como el definido en cualquiera de las reivindicaciones 21 a 26 y donde las células son células como las definidas en cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19.
- 40 28. Una mezcla de acuerdo con la reivindicación 27, donde dicho desecante es un desecante como los definidos en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6.
- 45 29. Una mezcla de acuerdo con la reivindicación 27 ó 28, donde dicha mezcla comprende además agua, donde $W_{des,mez}/(W_{células,mez}+W_{a,mez}) > (1/X) \cdot (1-W_{células,mez}/(0,8 \cdot (W_{células,mez} + W_{a,mez})))$, preferentemente $W_{des,mez}/(W_{células,mez}+W_{a,mez}) > (1/X) \cdot (1-W_{células,mez}/(0,9 \cdot (W_{células,mez} + W_{a,mez})))$, donde:
 $W_{des,mez}$ = peso del desecante en la mezcla
 $W_{células,mez}$ = peso de la materia seca de las células en la mezcla
 $W_{a,mez}$ = peso del agua en la mezcla
 X = capacidad de absorción del desecante.
- 50 30. Un proceso para obtener un lípido, donde dicho proceso comprende poner en contacto una mezcla de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 27 a 29 con un disolvente orgánico.