

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 395 254**

51 Int. Cl.:

C11C 3/14 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

A61K 31/201 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.02.2006 E 06706675 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **17.10.2007 EP 1844131**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de ácidos grasos**

30 Prioridad:

04.02.2005 CN 200510054223

14.02.2005 EP 05250836

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

11.02.2013

73 Titular/es:

LIPID NUTRITION B.V. (50.0%)

HOGEWEG 1

1521 AZ WORMERVEER, NL y

ANQING ZHONGCHUANG BIOENGINEERING CO., LTD. (50.0%)

72 Inventor/es:

BHAGGAN, KRISHNADATH;

ZHANG, GENWANG;

GUO, ZHENG;

CHENG, SHUHONG;

YAN, YOUCHUN y

SCHWEITZER, ERIK

74 Agente/Representante:

URÍZAR ANASAGASTI, José Antonio

ES 2 395 254 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

- 5 [0001] Esta invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un material que comprende ácidos grasos, en particular, isómeros conjugados de un ácido graso poliinsaturado, a productos obtenibles por el procedimiento y a productos alimenticios, complementos alimenticios o productos farmacéuticos que comprenden los productos.
- [0002] Se conoce que los isómeros conjugados de ácidos grasos poliinsaturados proporcionan beneficios para la salud y se han utilizado en productos alimenticios. Por lo general, estos productos comprenden isómeros del ácido linoleico con los isómeros cis 9, trans 11 y trans 10, con frecuencia siendo cis 12 los isómeros presentes de manera más abundante en estos materiales, en general, en una proporción de peso 1:1.
- 10 [0003] Los ácidos grasos poliinsaturados conjugados son compuestos que contienen dobles enlaces carbono-carbono adyacentes (por ejemplo, uno o más vínculos $-\text{CH} = \text{CH}-\text{CH} = \text{CH}-$). Los ácidos grasos poliinsaturados conjugados pueden prepararse a partir de los ácidos grasos correspondientes no conjugados. Por ejemplo, EP-A-0902082 describe un procedimiento para producir ácidos grasos poliinsaturados conjugados, como el ácido linoleico conjugado (CLA). El procedimiento implica someter ácidos grasos poliinsaturados no-conjugados a un tratamiento con una base en un disolvente que es un alcohol con al menos tres átomos de carbono y al menos dos grupos hidroxilo.
- 15 [0004] Las fuentes típicas de ácidos grasos poliinsaturados, como el aceite de cártamo, por lo general contienen alrededor de 80% en peso de ácido linoleico, 12% en peso de ácido oleico y un 8% en peso de ácidos grasos saturados. Al usar fraccionamiento y destilación, sólo se pueden eliminar los ácidos grasos saturados lo que significa que el contenido de ácido linoleico no puede superar el 90% en peso. En consecuencia, la cantidad de ácido linoleico conjugado que puede producirse en un paso posterior de conjugación, como el descrito anteriormente, también está limitada a un máximo de 90% en peso.
- 20 [0005] Por lo tanto, existe una necesidad de materiales que contengan altas cantidades de ácidos grasos poliinsaturados conjugados.
- [0006] US 6395778 describe un procedimiento para hacer una mezcla enriquecida que comprende un éster de ácido graso poliinsaturado no conjugado. El procedimiento implica una primera etapa de transesterificación de un aceite para formar ésteres de ácido graso, adición de urea a la mezcla de ésteres de ácido graso y enfriamiento o concentración de la mezcla resultante. El precipitado comprende urea y los ésteres de ácidos grasos saturados y la fracción líquida contiene más de los ésteres de ácidos grasos poliinsaturados. Los ésteres de ácido graso específicos divulgados son no-conjugados y contienen al menos cinco dobles enlaces carbono-carbono. No hay ninguna sugerencia de que el procedimiento puede llevarse a cabo utilizando ácidos grasos libres.
- 25 [0007] EP-A-1211304 describe un método para aislar ácidos grasos insaturados no-conjugados por cristalización selectiva usando urea en metanol como disolvente.
- [0008] No hay revelación en US 6395778 o EP-A-1211304 de una conjugación posterior de los ácidos grasos.
- 30 [0009] WO 2005/014516 se refiere a ácidos linolénicos conjugados y a métodos de preparación y purificación y usos de los mismos.
- [0010] Yang et al, J Agric Food Chem., vol 52, 14 de julio de 2004, páginas 5.079 a 5.084 describe la producción de ácido linoleico conjugado a partir de aceite de soja.
- 35 [0011] Hemos encontrado un procedimiento para producir ácidos grasos poliinsaturados conjugados con rendimiento sorprendentemente alto. Además, cuando se lleva a cabo sobre ácidos grasos poliinsaturados que contienen dos enlaces dobles carbono-carbono, el procedimiento da lugar a un menor número de los isómeros trans, trans de los ácidos grasos en relación con los isómeros trans, cis. Se ha encontrado inesperadamente que la eficacia del procedimiento depende en gran medida del disolvente que se emplea en el procedimiento.
- 40 [0012] Por consiguiente, la presente invención proporciona un procedimiento para la preparación de un material que comprende un de ácido graso poliinsaturado conjugado, que comprende:
- 45 tratar una primera mezcla de ácidos grasos que comprende ácidos grasos saturados, ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos poliinsaturados no-conjugados en presencia de etanol para formar (i) una fracción sólida y (ii) una fracción líquida que comprende una segunda mezcla de ácidos grasos, en donde la segunda mezcla de ácidos grasos tiene una mayor fracción molar del total de ácidos grasos poliinsaturados totales a ácidos grasos saturados y monoinsaturados totales que la primera mezcla de ácidos grasos; separar la fracción sólida y la fracción líquida, y someter la segunda mezcla de ácidos grasos o un derivado o un producto de reacción a tratamiento con una base en presencia de un disolvente, para formar isómeros conjugados de al menos algunos de los ácidos grasos poliinsaturados.
- 50

- 5 [0013] El procedimiento de la invención permite la producción de materiales que contienen cantidades relativamente altas de ácidos grasos poliinsaturados conjugados respecto a la cantidad total de ácidos grasos en el material. Preferiblemente, el material comprende al menos el 90% en peso, preferiblemente al menos el 91%, más preferiblemente al menos el 92%, más preferiblemente al menos 93%, como mínimo el 94% o al menos el 95% en peso de ácidos grasos poliinsaturados conjugados respecto a los ácidos grasos totales.
- 10 [0014] Los términos ácido graso, ácidos grasos poliinsaturados y términos relacionados como aquí se usan se refieren a ácidos carboxílicos de cadena lineal que contienen de 12 a 24 átomos de carbono, preferentemente de 14 a 18 átomos de carbono. Los ácidos grasos saturados no contienen enlaces dobles carbono-carbono en la cadena de alquilo, ejemplos son el ácido mirístico (referido como C14: 0), ácido palmítico (C16: 0) y ácido esteárico (C18: 0). Los ácidos grasos monoinsaturados contienen un enlace doble carbono-carbono en la cadena de alquilo, ejemplos son el ácido oleico (C18: 1) y el ácido eláidico (C18: 1). Los ácidos grasos poliinsaturados contienen dos o más (preferiblemente dos) enlaces dobles carbono-carbono en la cadena de alquilo, ejemplos son el ácido linoleico (C18: 2) y el ácido linoléico (C18: 3).
- 15 [0015] Se ha encontrado que el procedimiento de la invención es particularmente eficaz cuando los ácidos grasos saturados, los ácidos grasos monoinsaturados, y los ácidos grasos poliinsaturados contienen 18 átomos de carbono. Los ácidos grasos poliinsaturados conjugados producidos a partir de tales ácidos grasos son preferentemente el ácido linoleico conjugado (CLA). El CLA puede existir en varias formas isoméricas, dependiendo de la geometría de los dos enlaces dobles carbono-carbono, entre ellos: cis 9, trans 11; trans 10, cis 12; cis 9, cis 11; cis 10, cis 12; trans 9, trans 11; y trans 10, trans 12. Los isómeros cis 9, trans 11 y trans 10, cis 12 son generalmente los más abundantes. El procedimiento de la invención puede ser utilizado para producir cualquiera de o todos los isómeros, y, en general dará lugar a la formación de una mezcla de isómeros en la que los isómeros 9 cis, trans 11 y trans 10, cis 12 son los isómeros predominantes de CLA.
- 20 [0016] El procedimiento de la invención implica un paso de tratar una primera mezcla de ácidos grasos que comprende ácidos grasos saturados, ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos poliinsaturados en la presencia de etanol para formar (i) una fracción sólida y (ii) una fracción líquida que comprende una segunda mezcla de ácidos grasos. Este tratamiento proporciona una fracción líquida que tiene una mayor fracción molar del total de ácidos grasos poliinsaturados a ácidos grasos saturados y monoinsaturados que la primera mezcla de ácidos grasos. Preferiblemente, este tratamiento implica el tratamiento con urea, de modo que la fracción sólida comprende urea, por lo general junto con al menos una proporción de los ácidos grasos saturados y / o los ácidos grasos monoinsaturados. El tratamiento por lo tanto resulta en una mezcla que está enriquecida en ácidos grasos poliinsaturados en relación al material de partida de la primera mezcla de ácidos grasos. Sorprendentemente, se ha encontrado que el uso de etanol en esta etapa del procedimiento, en lugar de metanol como fue enseñado por EP-A-1211304, se traduce en un mayor rendimiento de isómeros conjugados después de la etapa posterior de conjugación de la invención y, cuando los ácidos grasos poliinsaturados contienen dos enlaces dobles carbono-carbono, en una reducción de isómeros trans, trans, que puede ser beneficiosa si se requieren isómeros cis, trans.
- 25 [0017] En la etapa de tratamiento, la urea y la primera mezcla de ácidos grasos normalmente se combinan en forma líquida. Preferiblemente, una solución de urea en etanol se combina con la primera mezcla de ácidos grasos añadiendo la solución a la mezcla de ácidos grasos o viceversa. El paso se realiza generalmente a una temperatura de unos 10°C a 80°C y es seguido opcionalmente por una etapa de calentamiento para aumentar la temperatura hasta 80 ° C, si es necesario. La mezcla de reacción es entonces preferiblemente enfriada a una temperatura a la que la urea se cristaliza de la mezcla, tal como una temperatura de 0°C a 30°C. Los cristales de urea, que contienen algunos ácidos grasos saturados y / o ácidos grasos monoinsaturados, se separan de la mezcla, por ejemplo, por filtración o centrifugación. El líquido resultante comprende una segunda mezcla de ácidos grasos enriquecida en ácidos grasos poliinsaturados.
- 30 [0018] La cantidad de urea que se usa en la forma de realización preferida del procedimiento es preferentemente suficiente para dar una relación de peso urea: etanol de al menos 1:5, preferiblemente al menos 1:4 y más preferiblemente una relación de peso en el intervalo de desde 1:4 a 1:2. La cantidad de urea respecto a la primera mezcla de ácidos grasos es preferentemente suficiente para dar una relación de peso de urea: primera mezcla de ácidos grasos de al menos 2:1, preferiblemente al menos 3:1 y más preferiblemente una relación de peso en el intervalo de 3:1 a 5:1.
- 35 [0019] El disolvente para el procedimiento comprende etanol. El etanol puede contener hasta un 20% en peso de otro o más disolventes como agua y / o metanol. Por lo tanto, la primera mezcla de ácidos grasos suele tratarse en presencia de un disolvente que comprende al menos el 80% en peso de etanol. Preferentemente, por razones económicas, el etanol contiene de 2% a 10% en peso de agua.
- 40 [0020] La segunda mezcla de ácidos grasos que se obtiene después del tratamiento de la primera mezcla de ácidos grasos es opcionalmente sometida a etapas posteriores del procedimiento (antes del tratamiento con la base en el paso de conjugación) para formar un derivado o producto de reacción de las mismas. Por ejemplo, las etapas posteriores del procedimiento pueden incluir la purificación, la eliminación de disolvente del líquido, esterificación para formar ésteres alquílicos C1 a C6 de los ácidos grasos, y combinaciones de estos pasos. En general, cualquier derivación o reacción no debería tener el efecto de alterar significativamente la distribución de los ácidos grasos o, después de derivación o de
- 45
- 50
- 55

reacción, los residuos de ácidos grasos, en la mezcla. Es deseable especialmente reducir la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados en relación con otros ácidos grasos en la mezcla.

5 [0021] La primera mezcla de ácidos grasos puede ser obtenida por métodos que se conocen en la técnica. La primera mezcla de ácidos grasos normalmente se deriva de una fuente animal o vegetal. La primera mezcla de ácidos grasos se obtiene preferentemente a partir de un aceite que contiene del 50% al 85% en peso de ácidos grasos poli-insaturados que contienen 18 átomos de carbono respecto al total de ácidos grasos totales. Aceites vegetales adecuados incluyen aceite de cártamo, aceite de girasol, aceite de colza, aceite de semilla de algodón, aceite de soja y aceite de linaza.

10 [0022] La primera mezcla de ácidos grasos es preferiblemente obtenida por un método que comprende la hidrólisis del aceite, por ejemplo, con una base, como hidróxido de sodio. El procedimiento puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente como el etanol y suele ser seguido por acidificación para formar los ácidos grasos libres. Los ácidos grasos libres pueden ser extraídos y opcionalmente purificados.

15 [0023] En el procedimiento de la invención, la segunda mezcla de ácidos grasos o un derivado o producto de reacción de la misma es sometida a un tratamiento con una base en presencia de un disolvente, para formar isómeros conjugados de al menos algunos de los ácidos grasos poliinsaturados. La segunda mezcla de ácidos grasos comprende preferentemente ácidos grasos libres. Este procedimiento puede llevarse a cabo de acuerdo a las enseñanzas de la EP-A-0902082, cuyo contenido se incorpora aquí por referencia.

[0024] El disolvente que se utiliza en este paso del procedimiento es preferiblemente un alcohol con al menos tres átomos de carbono y al menos dos grupos hidroxilo.

20 [0025] Un disolvente muy adecuado es 1,3-dihidroxiopropano o 1,2-dihidroxiopropano (es decir, propilenglicol). Estos disolventes son de categoría alimenticia de manera que las trazas dejadas en los productos no son nocivas. La reacción se realiza, preferentemente, en ausencia de glicerol.

25 [0026] La base que se utiliza en el paso de conjugación puede ser cualquier base, pero los mejores resultados se obtienen con NaOH o KOH como base. Las concentraciones adecuadas de la base son mayores que 0.25 mol / l de disolvente, preferentemente 0,25-3,5 preferiblemente 1.25-2,75 mol / l. El uso de cantidades más altas de la base conduce a la formación de productos, en donde muchos isómeros (en particular, isómeros C18: 2 trans / trans) están presentes.

30 [0027] Los productos son convenientemente aislados de la mezcla cruda de reacción por la adición de ácido diluido al jabón formado hasta que se consigue un pH ácido (preferiblemente: pH de 1 a 3), tras lo cual el aceite es separado del agua, lavado con agua a pH 6-8 y secado. La adición ácido da lugar a la formación de una sal inorgánica que comprende el catión de la base (por ejemplo, un ion de sodio o de potasio) y el anión del ácido (como cloruro o sulfato). Por lo tanto, la sal formada puede ser, por ejemplo, sulfato de potasio. Se ha encontrado que la presencia de la sal puede interferir con la posterior extracción del producto. Por lo tanto, se prefiere que el procedimiento comprenda el paso de eliminar al menos una parte de la sal o sales formadas a partir de la base y el ácido, después del paso de acidificación. La sal puede ser eliminada por separación de la sal en forma sólida de la mezcla de reacción, cuando la sal se ha cristalizado o precipitado en la mezcla de reacción. Preferiblemente, la cantidad de sal que se retira aumenta por enfriamiento de la mezcla de reacción para aumentar la cristalización o precipitación de sales. Por lo general, la sal se elimina con la fase acuosa por separación de la fase acuosa de la fase no acuosa, seguido de enfriamiento de la fase no acuosa y extracción de la sal así precipitada o cristalizada (por ejemplo, por filtración).

40 [0028] Por lo tanto, la invención comprende el paso de acidificar la segunda mezcla de ácidos grasos después del tratamiento con la base. El producto acidificado se purifica opcionalmente. También es preferible que al menos una parte de las sales formadas en la acidificación se elimine y la mezcla resultante se purifique posteriormente. El término "purificado" se refiere a cualquier aumento en el contenido de isómeros conjugados de isómeros poliinsaturados en la mezcla y no implica 100% de pureza. La purificación puede realizarse mediante la eliminación de cualquier resto de fase acuosa, opcionalmente lavando con agua y secando, seguido de una fase más del procedimiento como destilación.

45 [0029] Los ácidos grasos poliinsaturados conjugados que se producen en la invención pueden ser sometido a etapas posteriores del procedimiento, tales como la formación de un mono-, di- o de triglicérido de los isómeros conjugados de ácidos grasos poliinsaturados. Este paso puede llevarse a cabo mediante técnicas de esterificación que son bien conocidas en la técnica.

50 [0030] El producto de la invención puede ser utilizado como material de partida para un procedimiento en el que la cantidad de uno o más isómeros (por ejemplo, isómeros geométricos) de los ácidos grasos poliinsaturados conjugados se enriquece en relación con otros isómeros. Un procedimiento adecuado se describe en WO 97/18320. Por lo tanto, la invención contempla un procedimiento para el enriquecimiento de uno o mas isómeros de ácidos grasos poli-insaturados conjugados utilizando el producto de la invención como material de partida.

55 [0031] Preferiblemente, el producto del procedimiento de la invención comprende al menos 90% (más preferiblemente al menos 92%, como mínimo 93% o al menos 94%, aún más preferiblemente al menos 95%) en peso de ácido linoleico conjugado, al menos 43% en peso de la cis-9, trans-11 isómeros del ácido linoleico conjugado y al menos 43% en peso

- 5 del isómero trans-10, cis-12 del ácido linoleico conjugado, o las mismas cantidades de mono-, di- y triglicéridos totales de estos ácidos, en donde la proporción de peso del isómero cis-9, trans-11 al isómero trans-10, cis-12 se encuentra en el intervalo de 1,1:1 a 1:1,1 (más preferiblemente 1,05:1 a 1:1,05). Todos los porcentajes son en peso en base al total de ácidos grasos. Estos productos pueden comprender menos de 1,5% en peso (preferiblemente menos de 1,0% en peso, como por ejemplo menos de 0,7% en peso) de isómeros trans, trans del ácido linoleico conjugado o glicéridos del mismo. Los productos pueden comprender hasta el 0,2% en peso de ácidos grasos saturados y / o hasta 7,5% en peso de ácidos grasos monoinsaturados, o glicéridos de cualquiera de los ácidos grasos.
- [0032] Un producto alimenticio, complemento alimenticio o producto farmacéutico puede comprender un producto del procedimiento de la invención.
- 10 [0033] Productos del procedimiento de la invención se utilizan opcionalmente como una mezcla con una grasa complementaria.
- [0034] La mezcla puede comprender desde 0,3 hasta 95% en peso, preferentemente 2 a 80% en peso, más preferiblemente 5-40% en peso del producto de la invención y 99,7 - 5% en peso, preferiblemente 98-20% en peso, lo más preferiblemente 95 -60% en peso de una grasa complementaria seleccionada de: manteca de cacao, equivalentes de manteca de cacao, aceite de palma o sus fracciones, aceite de almendra de palma o sus fracciones, mezclas interesterificadas de dichas grasas o sus fracciones, o aceites líquidos, seleccionados de: aceite de girasol, aceite de girasol alto oleico, aceite de soja, aceite de colza, aceite de semilla de algodón, aceite de pescado, aceite de cártamo, aceite de cártamo alto oleico, aceite de maíz y aceites MCT.
- 15 [0035] Los productos alimenticios (término que incluye la alimentación animal), pueden contener una fase grasa, en donde la fase grasa contiene el producto de la invención. Los productos alimenticios se seleccionan adecuadamente del grupo que consiste en: productos para untar, margarinas, cremas, aliños, mayonesas, helados, productos de panadería, alimentos para lactantes, chocolate, confitería, salsas, recubrimientos, queso, y sopas.
- [0036] Los complementos alimenticios o productos farmacéuticos pueden estar en forma de cápsulas u otras formas, adecuadas para la aplicación enteral o parenteral y comprenden un producto de la invención.
- 20 [0037] Los ejemplos de productos alimenticios adecuados incluyen los seleccionados del grupo que consiste en margarinas, productos untables de difusión continua en grasa o continua o bicontinua en agua, productos untables de grasa reducidas, productos de confitería, tales como chocolate o coberturas de chocolate o rellenos de chocolate o rellenos de panadería, helados, hielo coberturas de helados, inclusiones de helados, aderezos, mayonesas, quesos, alternativas de crema, sopas secas, bebidas, barras de cereales, salsas, snacks, productos lácteos, productos de nutrición clínica y formulaciones para lactantes.
- 25 [0038] Los productos farmacéuticos incluyen composiciones farmacéuticas, como por ejemplo en forma de pastillas, píldoras, cápsulas, comprimidos, multipartículas incluyendo: gránulos, granos, pellets y partículas micro-encapsuladas, polvos, elixires, jarabes, suspensiones y soluciones. Las composiciones farmacéuticas comprenderán un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas se adaptan preferiblemente para la administración parenteral (por ejemplo, por vía oral). Composiciones administrables por vía oral pueden estar en forma sólida o líquida y pueden adoptar la forma de comprimidos, polvos, jarabes y suspensiones. Opcionalmente, las composiciones comprenden uno o más agentes aromatizantes y/o colorantes.
- 30 [0039] Vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados para uso en tales composiciones son bien conocidos en la técnica de farmacia. Las composiciones de la invención pueden contener 0,1 a 99% en peso de ácidos grasos conjugados. Las composiciones se preparan generalmente en forma de dosis unitarias. Preferiblemente, la dosis unitaria de ácidos grasos conjugados es de 1 mg a 1000 mg (preferiblemente de 100 mg a 750 mg). Los excipientes utilizados en la preparación de estas composiciones son los excipientes conocidos en la técnica.
- [0040] Ejemplos de complementos alimenticios incluyen productos en forma de un gel suave o una cápsula dura que comprende un material encapsulado seleccionado del grupo que consiste en gelatina, almidón, almidón modificado, derivados del almidón, tales como glucosa, sacarosa, lactosa y fructosa. El material de encapsulado puede opcionalmente contener agentes reticulantes o de polimerización, estabilizantes, antioxidantes, agentes de absorción de la luz para la protección de rellenos sensibles a la luz, conservantes, y similares. Preferiblemente, la dosis unidad de ácidos grasos conjugados en los complementos alimenticios es de 1 mg a 1000 mg (preferiblemente de 100 mg a 750 mg).
- 35 [0041] Los siguientes ejemplos no limitativos ilustran la presente invención. En los ejemplos y a lo largo de esta especificación, todos los porcentajes son porcentajes en peso a menos que se indique lo contrario.
- Ejemplos
- Ejemplo 1
- 40 [0042] 27,3g de NaOH se disolvieron en 200 ml de etanol al 95%. Se añadió 100 g de aceite de cártamo y la solución fue sometida a reflujo durante 2 horas. La mezcla resultante se dividió con ácido sulfúrico, a continuación se extrajo 3
- 55

5 veces con 900 ml de hexano, las capas de hexano se combinaron y lavaron con agua destilada hasta que el pH era cerca de 7, la capa orgánica se evaporó a continuación, utilizando un evaporador rotativo. 270g de urea se disolvieron en 1500 ml de etanol al 95% a 30°C y se añadieron ácidos grasos, luego la mezcla se calentó a 60°C durante 1 hora y luego se enfrió a 20°C durante 3 horas. El material se filtró para eliminar los cristales de urea y el filtrado se evaporó a continuación. 168g de KOH se disolvieron en 55ml de propilenglicol en el matraz, luego se añadieron 50 gramos de la mezcla de ácidos grasos obtenida a partir del filtrado después de la evaporación (que contiene más del 90% de ácido linoleico). El matraz se lavó con nitrógeno a 150°C durante 15 horas. Después de la conjugación, la mezcla de reacción se colocó en una solución caliente al 10% de ácido sulfúrico, la capa inferior se desechó y la capa superior fue lavada con agua caliente hasta pH 7, y finalmente secada sobre nitrógeno. El ácido linoleico conjugado se analizó por GC, HPLC y los resultados se presentan en la Tabla 1.

Ejemplo 2 (Ejemplo Comparativo)

[0043] El procedimiento del ejemplo 1 fue repetido usando exactamente las mismas condiciones, salvo que la reacción con urea se realizó con metanol en lugar de etanol al 95%. Después de la reacción, los ácidos linoleicos conjugados fueron analizados y los resultados se muestran en la Tabla 1.

15 Tabla 1. Análisis FAME (éster metílico de ácido graso)

Ejemplos	1 Etanol	2 Metanol
C14:0	0,0	0,0
C16:0	0,1	0,3
C16:1c	0,1	0,1
C18:0	0,0	0,0
C18:1 c	6,9	8,6
C18:2 c,c	0,4	0,4
C18:3 c,c,c	0,1	0,2
CLA-9,11 c,c	1,0	1,1
CLA-10,12 c,c	1,1	1,1
CLA-11,13 c,c	1,3	1,0
CLA-OX	0,0	0,3
C18:2 t,t	1,1	1,3
CLA t,t	1,2	2,0
CLA-9,11 c,t	43,0	41,6
CLA-10,12 t,c	43,3	42,1
SAFA	0,1	0,4
CLA principal	86,3	83,7
CLA total	91,2	89,1
*Cx:y se refiere a ácidos grasos que contienen átomos de carbono e y enlaces dobles		
* c es cis y t es trans		
*CLA es ácido linoleico conjugado; CLA-OX es productos de		

oxidación de CLA

* en CLA m,n, m y n son las posiciones de los dobles enlaces en la cadena, p.ej., CLA-9, 11 es el ácido 9,11-dienoico

* SAFA significa ácidos grasos saturados

[0044] La tabla muestra las ventajas del procedimiento de la invención usando etanol en lugar de metanol, es decir, hay una mayor cantidad de CLA total y principales isómeros de CLA, menos isómeros trans, trans.

Ejemplo 3

5 [0045] Los productos para untar que contienen triglicéridos del producto del ejemplo 1 se pueden formular como sigue, utilizando el método descrito en WO 97/18320.

Fase grasa	% en peso
Mezcla de grasas*	40,3240
Hymono 7804	0,3
Color (2% β-caroteno)	<u>0,02</u>
Total	40,32
Fase acuosa (a pH 5.1	% en peso
Agua	56,44
Leche desnatada en polvo	1,5
Gelatina (270 floración)	1,5
Sorbato de potasio	0,15
Ácido cítrico en polvo	<u>0,07</u>
Total	59,66
* Mezcla de hardstock / aceite de girasol / glicéridos del producto de ejemplo 1 (13/82/5 en peso)	

Ejemplo 4

10 [0046] Los aderezos que contienen glicéridos del producto del ejemplo 1 se puede formular como sigue, utilizando el método descrito en WO 97/18320.

	% en peso
Aceite líquido*	25,0
Maltodextrina	20,0
Yema de huevo seca	0,9
Goma de xanthum	0,4
Vinagre	5,0

Agua	48,8
* mezcla interesterificada del producto con aceite de girasol	

Ejemplo 5

[0047] Este ejemplo se refiere a la conjugación de aceite de cártamo enriquecido a escala de planta piloto.

5 [0048] 60 kg de hidróxido de potasio (solución de KOH al 50% (en peso) se mezclaron con 115 kg de propilenglicol. Esta mezcla se calentó a 70°C, mientras que el nitrógeno se burbujeó a través de la mezcla. Después de esto, el burbujeo de nitrógeno se detuvo y 95 kg de ácidos grasos de cártamo enriquecidos preparados con urea de acuerdo con la presente invención se añadieron al propilenglicol alcalino.[0049] La temperatura se incrementó luego a 110°C, y la mezcla se agitó a esta temperatura durante 2 horas. Después de esto, la temperatura se incrementó a 135°C y la mezcla se agitó a esta temperatura hasta que el contenido de C18: 2c era inferior al 1%. Esto fue supervisado eliminando muestras a 10 intervalos regulares de tiempo y analizando la composición FAME por GC. En total, tres lotes fueron llevados a cabo y el tiempo promedio de reacción total fue de 82 horas.

[0050] El jabón de cada lote se dividió con ácido sulfúrico concentrado. Después de la reacción de conjugación, la mezcla se enfrió a 70°C y se diluyó con 250 L de agua caliente desmineralizada. Después de esto, 30 kg de ácido sulfúrico concentrado se añadieron para dividir el jabón.

15 [0051] La mezcla obtenida se decantó y se drenó la capa inferior.

[0052] Las fases aceite de los tres lotes fueron puestas juntas y se lavaron con agua desmineralizada caliente a 80 ° C. Después de un primer lavado se formó la capa de emulsión y por lo tanto sólo una parte del agua añadida pudo ser drenada. Durante el segundo lavado la emulsión se mantiene y después de drenar una parte del agua añadida el aceite se secó mediante la aplicación de vacío.

20 [0053] El aceite seco se destiló por destilación de ruta corta. El rendimiento es 170 kg. Debido a la emulsión se produjo una pérdida (alrededor del 40%) de producción del producto.

[0054] El análisis FAME del producto se da en la Tabla 2 abajo

Tabla 2

	Mezcla final	Producto final
C14:0	0	0
C16:0	0,2	0,2
C16:1c	0,1	0,1
C18:0	0	0
CLA t,t	0,9	1,4
CLA c9, c11	0,9	1
CLA c10, c12	0,9	1
CLA 11, 13	1	0,8
C18:1 t	0	0
C18:1 c	4,9	4,7
CLA_OX	0,1	0,2
C18:2 t,t	0,6	0,4
C18:2 c,c	0,9	1,3
C20:0	0	0
C20:1 c	0	0

ES 2 395 254 T3

SAFA	0,3	0,2
CLA principal	89,4	88,8
CLA c9, t11	44	43,3
CLA c10, t12	45,5	45,5
CLA total	93,2	93,2

Ejemplo 6

5 [0055] 7700 kilogramos de ácidos grasos de cártamo enriquecidos se añadieron a 9.780 kilogramos de propilenglicol bajo cobertura de nitrógeno en un fermentador de tanque agitado. A esto, se agregaron 5.120 kilogramos de hidróxido de potasio (solución de KOH 50% en peso) y se calentó a 110°C en atmósfera de nitrógeno. Después de la eliminación del agua, la temperatura se incrementó a 139°C y se agitó a esta temperatura hasta que el contenido de C18:2cis en el análisis FAME fue inferior al 1%. El tiempo de reacción total fue de 42 horas.

10 [0056] Después de la conjugación, la mezcla se enfrió primero a 100 ° C y luego se diluyó con 25 toneladas de agua desmineralizada, seguido de enfriamiento a 55°C. El jabón diluido se separó con 3.090 kg de ácido sulfúrico concentrado (98% en peso). La mezcla de ácidos grasos se decantó y se drenó la capa de agua inferior. Los cristales de sulfato de potasio, formados durante la división, se eliminaron por completo con la fase acuosa durante el drenado de la capa inferior. La fase de ácido graso restante se enfrió a 55°C para cristalizar todo el sulfato de potasio restante. Este también fue eliminado para evitar la formación de emulsión en los pasos siguientes.

15 [0057] La fase de ácidos grasos fue calentada a 95°C y se lavó en dos etapas, respectivamente, con 10 toneladas y 5 toneladas de agua desmineralizada caliente (95°C). No se encontró emulsión en las etapas de lavado. Después de lavar el aceite se secó para la destilación.

[0058] Los ácidos grasos lavados fueron destilado por destilación de camino corto para producir 6200 kg de producto. La pérdida de rendimiento se redujo al 20%.

[0059] El análisis FAME del producto se muestra abajo en la Tabla 3

20

Tabla 3

	Análisis producto
C14:0	0,0
C16:0	0,2
C16:1c	0,1
C18:0	0,1
CLA t,t	0,9
CLA c9, c11	0,9
CLA c10, c12	0,9
CLA 11, 13	0,8
C18:1 t	0,0
C18:1 c	4,8
CLA_OX	0,2
C18:2 t,t	0,6
C18:2 c,c	0,6

ES 2 395 254 T3

C20:0	0,0
C20:1 c	0,0
SAFA	0,4
CLA principal	89,9
CLA c9, t11	44,3
CLA c10, t12	45,6
CLA total	93,6

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de un material que comprende isómeros conjugados de un ácido graso poliinsaturado, que comprende:
- 5 tratar una primera mezcla de ácidos grasos que comprende ácidos grasos saturados, ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos poliinsaturados en presencia de etanol para formar (i) una fracción sólida y (ii) una fracción líquida que comprende una segunda mezcla de ácidos grasos, en donde la segunda mezcla de ácidos grasos tiene una mayor fracción molar del total de ácidos grasos poliinsaturados al total de ácidos grasos saturados y monoinsaturados que la primera mezcla de ácidos grasos;
- 10 separar la fracción sólida y la fracción líquida, y someter la segunda mezcla de ácidos grasos o un derivado o producto de reacción de la misma a tratamiento con una base en presencia de un disolvente, para formar isómeros conjugados de al menos algunos de los ácidos grasos poliinsaturados.
2. Procedimiento como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el material comprende al menos un 90% en peso de isómeros conjugados de ácidos grasos poliinsaturados.
- 15 3. Procedimiento como se reivindica en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde los ácidos grasos poliinsaturados contienen de 12 a 24 átomos de carbono.
4. Procedimiento como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde los ácidos grasos saturados, los ácidos grasos monoinsaturados, y los ácidos grasos poliinsaturados contienen 18 átomos de carbono.
- 20 5. Procedimiento como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde los isómeros conjugados son isómeros conjugados de ácido linoleico.
6. Procedimiento como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera fracción de ácidos grasos es tratada con urea y la fracción sólida comprende urea.
7. Procedimiento como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera mezcla de ácidos grasos se trata en presencia de un disolvente que comprende al menos 80% en peso de etanol.
- 25 8. Procedimiento como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la segunda mezcla de ácidos grasos es sometida a etapas posteriores del procedimiento antes del tratamiento con la base para formar un derivado o producto de reacción de la misma.
9. Procedimiento según la reivindicación 8, en donde las etapas posteriores del procedimiento se seleccionan de purificación, eliminación de disolvente, esterificación para formar ésteres alquílicos C1 a C6 de los ácidos grasos y combinaciones de las mismas.
- 30 10. Procedimiento como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera mezcla de ácidos grasos se obtiene de un aceite que contiene del 50% al 85% en peso, respecto a los ácidos grasos totales, de ácidos grasos que contienen 18 átomos de carbono.
11. Procedimiento como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera mezcla de ácidos grasos se obtiene mediante un método que comprende la hidrólisis de aceite vegetal con una base en presencia de etanol como disolvente
- 35 12. Procedimiento según la reivindicación 11, en donde el aceite vegetal se selecciona del grupo que consiste en aceite de cártamo, aceite de girasol, aceite de colza, aceite de semilla de algodón, aceite de soja y aceite de linaza.
13. Procedimiento como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el disolvente comprende un alcohol que tiene tres átomos de carbono y al menos dos grupos hidroxilo.
- 40 14. Procedimiento como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el disolvente es el propilenglicol.
15. Procedimiento como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende acidificar la segunda mezcla de ácidos grasos después del tratamiento con una base.
- 45 16. Procedimiento según la reivindicación 15, en donde al menos una proporción de las sales formadas en la acidificación se elimina y la mezcla resultante se purifica posteriormente.
17. Procedimiento como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, comprendiendo además el paso de formar un mono-, di- o triglicérido de los isómeros conjugados de ácidos grasos poliinsaturados.