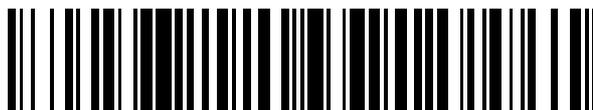


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 459 951**

51 Int. Cl.:

**B01D 15/18** (2006.01)

**C07C 51/47** (2006.01)

**C11B 3/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.12.2010 E 10818131 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.03.2014 EP 2519332**

54 Título: **Proceso de separación cromatográfico de lecho móvil simulado para la purificación de ácidos grasos poliinsaturados**

30 Prioridad:

**14.09.2010 GB 201015343**

**30.12.2009 US 291184 P**

**30.12.2009 GB 0922707**

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

**13.05.2014**

73 Titular/es:

**BASF PHARMA (CALLANISH) LIMITED (100.0%)**  
**PO Box 4, Earl Road, Cheadle Hulme**  
**Cheadle, Cheshire SK8 6QG, GB**

72 Inventor/es:

**KELLIHER, ADAM;**  
**MORRISON, ANGUS;**  
**OROSKAR, ANIL;**  
**NAIR REMA, RAKESH VIKRAMAN y**  
**AGARWAL, ABHILESH**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 459 951 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 de separación cromatográfico de lecho móvil simulado para la purificación de ácidos grasos poliinsaturados

5 La presente invención se refiere a un proceso de fraccionamiento cromatográfico para la purificación de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) y sus derivados. En particular, la presente invención se refiere a un proceso de separación cromatográfico mejorado de lecho móvil simulado o real para la purificación de AGPI y sus derivados.

10 Los ácidos grasos, en particular los AGPI, y sus derivados son precursores de moléculas biológicamente importantes, que desempeñan un papel importante en la regulación de funciones biológicas tales como la agregación plaquetaria, la inflamación y las respuestas inmunológicas. Así, los AGPI y sus derivados pueden ser terapéuticamente útiles en el tratamiento de un amplio espectro de dolencias patológicas que incluyen dolencias del SNC; neuropatías, incluyendo neuropatía diabética; enfermedades cardiovasculares; dolencias generales del sistema inmunitario e inflamatorias, incluyendo enfermedades inflamatorias cutáneas.

15 Los AGPI se encuentran en materias primas naturales, tales como aceites vegetales y aceites marinos. Dichos AGPI, no obstante, con frecuencia están presentes en dichos aceites en mezcla con ácidos grasos saturados y muchas otras impurezas. Por tanto, de forma deseable, los AGPI se deberían purificar antes de sus usos nutricionales o farmacéuticos.

20 Desafortunadamente, los AGPI son extremadamente frágiles. Así, cuando se calientan en presencia de oxígeno, son propensos a la isomerización, peroxidación y oligomerización. Por tanto, el fraccionamiento y purificación de los productos de AGPI para preparar ácidos grasos puros es difícil. La destilación, incluso al vacío, puede dar lugar a la degradación en productos no aceptables.

25 La cromatografía de lecho móvil simulado o real son técnicas conocidas, familiares para los expertos en la materia. El principio de funcionamiento supone el movimiento a contracorriente de una fase eluyente líquida y una fase adsorbente sólida. Esta operación permite un uso mínimo de disolvente haciendo que el proceso sea económicamente viable. Dicha tecnología de separación ha encontrado diversas aplicaciones en distintas áreas, incluyendo hidrocarburos, compuestos químicos industriales, aceites, azúcares y API. Dicha tecnología de separación también se ha aplicado para purificar AGPI y sus derivados.

30 Como es bien sabido, en un sistema cromatográfico de lecho estacionario convencional, una mezcla cuyos componentes se deben separar se percola a través de un contenedor. El contenedor por lo general es cilíndrico, y normalmente se denomina columna. La columna contiene un empaquetamiento de un material poroso (por lo general denominada fase estacionaria) que presenta una alta permeabilidad a los fluidos. La velocidad de percolación de cada componente de la mezcla depende de las propiedades físicas de ese componente de manera que los componentes salen de la columna de forma sucesiva y selectiva. Así, algunos de los componentes tienden a fijarse fuertemente a la fase estacionaria y por tanto percolarán lentamente, mientras que otros tienden a fijarse débilmente y salen de la columna más rápidamente. Se han propuesto muchos sistemas cromatográficos de lecho estacionario diferentes y se usan tanto para fines analíticos como de producción industrial.

35 En contraste, un sistema de lecho móvil simulado consiste en una serie de columnas individuales que contienen adsorbente que están conectadas juntas en serie. El eluyente se pasa a través de las columnas en una primera dirección. Los puntos de inyección de la fuente de alimentación y el eluyente, y los puntos de recolección de los componentes separados en el sistema, se desplazan periódicamente por medio de una serie de válvulas. El efecto global es simular la operación de una sola columna que contiene un lecho móvil de adsorbente sólido. Así, un sistema de lecho móvil simulado consiste en columnas que, como en un sistema de lecho estacionario convencional, contienen lechos estacionarios de adsorbente sólido a través de los cuales se pasa el eluyente, pero en un sistema de lecho móvil simulado la operación es tal que simula un lecho móvil continuo a contracorriente.

40 Los procesos y equipos para la cromatografía de lecho móvil simulado se describen en diversas patentes, incluyendo US 2.985.589, US 3.696.107, US 3.706.812, US 3.761.533, FR-A-2103302, FR-A-2651148 y FR-A-2651149. El tema también se aborda en profundidad en "Preparative and Production Scale Chromatography", editado por Ganetsos and Barker, Marcel Dekker Inc, Nueva York, 1993.

45 Un sistema de lecho móvil real es similar en funcionamiento a un sistema de lecho móvil simulado. No obstante, en lugar de desplazar los puntos de inyección de la mezcla de alimentación y el eluyente, y de los puntos de recolección del componente separado por medio de un sistema de válvulas, se mueven físicamente una serie de unidades de adsorción (es decir columnas) con respecto a la alimentación de los puntos de extracción. De nuevo, la operación es tal que simula un lecho móvil continuo a contracorriente.

50 Los procesos y equipos para cromatografía de lecho móvil real se describen en diversas patentes, incluyendo US 6.979.402, US 5.069.883 y US 4.764.276.

65 La tecnología de lecho móvil simulado y real por lo general sólo es adecuada para separar mezclas binarias. Así, un

componente más polar se moverá con el eluyente, y se recogerá como corriente refinada, y un componente menos polar se moverá con el adsorbente, y se recogerá como corriente de extracto. Por tanto es difícil usar tecnología de lecho móvil simulado o real para separar un producto deseado de una mezcla en bruto que contiene tanto impurezas polares como no polares. Esto limita la aplicabilidad de dichas técnicas en la purificación de productos AGPI a partir de aceites de pescado, por ejemplo.

Por consiguiente, cuando en el pasado se ha utilizado la tecnología de lecho móvil simulado o real para separar AGPI a partir de aceites naturales, por lo general en primer lugar es necesario someter el aceite natural a una etapa de separación preliminar (por ejemplo, cromatografía en columna fija) antes de purificar el producto intermedio obtenido usando la tecnología de lecho móvil simulado o real (véase, por ejemplo, la patente EP-A-0697034). Por lo general, la etapa de purificación inicial elimina los componentes polares o no polares, creando así una mezcla esencialmente binaria que a continuación se somete a cromatografía de lecho móvil.

Este proceso de separación de una mezcla binaria se ilustra con referencia a la Figura 1. El concepto de un proceso de separación cromatográfico continuo a contracorriente simulado o real se explica considerando una columna cromatográfica vertical que contiene una fase estacionaria S dividida en secciones, más en concreto en cuatro subzonas superpuestas I, II, III y IV que van de abajo arriba de la columna. El eluyente se introduce en la parte inferior en IE por medio de una bomba P. La mezcla de los componentes A y B que se deben separar se introduce en IA + B entre la subzona II y la subzona III. Se recoge un extracto que contiene principalmente B en SB entre la subzona I y la subzona II, y se recoge un refinado que contiene principalmente A en SA entre la subzona III y la subzona IV.

En el caso de un sistema de lecho móvil simulado, se provoca un movimiento descendente simulado de la fase estacionaria S mediante el movimiento de los puntos de introducción y recolección con respecto a la fase sólida. En el caso de un sistema de lecho móvil real, se provoca un movimiento descendente de la fase estacionaria S mediante el movimiento de las diversas columnas cromatográficas con respecto a los puntos de introducción y recolección. En la Figura 1, el eluyente fluye ascendentemente y la mezcla A + B se inyecta entre la subzona II y la subzona III. Los componentes se moverán según sus interacciones cromatográficas con la fase estacionaria, por ejemplo la adsorción sobre un medio poroso. El componente B que presenta la mayor afinidad por la fase estacionaria (el componente que avanza más despacio) será arrastrado más lentamente por el eluyente y saldrá tras él con retraso. El componente A que presenta la menor afinidad por la fase estacionaria (el componente que avanza más rápido) será arrastrado fácilmente por el eluyente. Si se estiman y controlan correctamente una serie de parámetros adecuados, especialmente el caudal en cada zona, el componente A que presenta la menor afinidad por la fase estacionaria se recogerá entre la subzona III y la subzona IV en forma de refinado y el componente B que presenta la mayor afinidad por la fase estacionaria se recogerá entre la subzona I y la subzona II en forma de extracto.

Por tanto se aprecia que el sistema de lecho móvil convencional ilustrado esquemáticamente en la Figura 1 está limitado al fraccionamiento binario.

Por consiguiente, existe la necesidad de un único proceso de separación cromatográfico del lecho móvil simulado o real que pueda separar AGPI o sus derivados tanto de componentes que avanzan más rápido como componentes que avanzan más despacio (es decir, impurezas más polares y menos polares), para producir AGPI esencialmente puros o uno de sus derivados. Además es deseable que el proceso suponga el uso de eluyentes baratos que trabajan en condiciones estándar de temperatura y presión.

Ahora se ha comprobado de forma sorprendente que un producto de AGPI se puede purificar eficazmente con un único aparato de lecho móvil simulado o real utilizando un eluyente de alcohol acuoso. Por tanto, la presente invención proporciona un proceso de separación cromatográfico para recuperar un producto de ácido graso poliinsaturado (AGPI), a partir de una mezcla de alimentación, proceso que comprende la introducción de la mezcla de alimentación en un aparato de cromatografía de lecho móvil simulado o real que tiene una pluralidad de columnas cromatográficas unidas que contienen, como eluyente, un alcohol acuoso, en el que el aparato tiene una pluralidad de zonas que comprenden al menos una primera zona y una segunda zona, cada zona que tiene una corriente de extracto y una corriente de refinado a partir de las cuales se puede recoger el líquido procedente de dicha pluralidad de columnas cromatográficas unidas, y en el que (a) se recoge una corriente de refinado que contiene el producto de AGPI junto con componentes más polares procedentes de una columna en la primera zona y se introduce en una columna no adyacente en la segunda zona, y/o (b) se recoge una corriente de extracto que contiene el producto de AGPI junto con componentes menos polares procedentes de una columna en la segunda zona y se introduce en una columna no adyacente en la primera zona, dicho producto de AGPI que se separa de los diferentes componentes de la mezcla de alimentación en cada zona.

También se describe un producto de AGPI que se puede obtener mediante el proceso de la presente invención.

Los productos de AGPI producidos mediante el proceso de la presente invención se producen con un alto rendimiento, y tienen una alta pureza. Además, el contenido de las impurezas características que por lo general aparecen en la destilación de los AGPI es muy bajo. Como se usa en el presente documento, el término "impurezas

isoméricas" se usa para denotar aquellas impurezas producidas por lo general durante la destilación de aceites naturales que contienen AGPI. Estas incluyen isómeros, productos de peroxidación y oligomerización de AGPI.

5 La Figura 1 ilustra los principios básicos de un proceso de lecho móvil simulado o real para la separación de una mezcla binaria.

La Figura 2 ilustra una primera realización preferida de la invención que es adecuada para la separación de EPA a partir de componentes que avanzan más rápido y más despacio (es decir, impurezas más polares y menos polares).

10 La Figura 3 ilustra una segunda realización preferida de la invención que es adecuada para la separación de DHA a partir de componentes que avanzan más rápido y más despacio (es decir, impurezas más polares y menos polares).

15 La Figura 4 ilustra con mayor detalle la primera realización preferida de la invención que es adecuada para la separación de EPA a partir de componentes que avanzan más rápido y más despacio (es decir, impurezas más polares y menos polares).

20 La Figura 5 ilustra con mayor detalle la segunda realización preferida de la invención que es adecuada para la separación de DHA a partir de componentes que avanzan más rápido y más despacio (es decir, impurezas más polares y menos polares).

25 La Figura 6 ilustra con mayor detalle un método alternativo para la primera realización preferida de la invención que es adecuado para la separación de EPA a partir de componentes que avanzan más rápido y más despacio (es decir, impurezas más polares y menos polares).

La Figura 7 ilustra con mayor detalle un método alternativo para la segunda realización preferida de la invención que es adecuada para la separación de DHA a partir de componentes que avanzan más rápido y más despacio (es decir, impurezas más polares y menos polares).

30 La Figura 8 ilustra una realización preferida en particular de la invención para la purificación de EPA a partir de componentes que avanzan más rápido y más despacio (es decir, impurezas más polares y menos polares).

35 La Figura 9 ilustra un método alternativo para una realización preferida en particular de la invención para la purificación de EPA a partir de componentes que avanzan más rápido y más despacio (es decir, impurezas más polares y menos polares).

La Figura 10 ilustra una realización preferida en particular de la invención para la purificación de EPA a partir de componentes que avanzan más rápido y más despacio (es decir, impurezas más polares y menos polares).

40 La Figura 11 muestra un análisis GC de un producto EPA producido de acuerdo con la invención.

La Figura 12 muestra las huellas de GC FAMES de las primeras corrientes de extracto y de refinado obtenidas de acuerdo con la invención.

45 La Figura 13 muestra las huellas de GC FAMES de las segundas corrientes de extracto y de refinado obtenidas de acuerdo con la invención.

La Figura 14 muestra las huellas de GC FAMES de un producto DHA producido de acuerdo con la invención.

50 La Figura 15 muestra las huellas de GC FAMES de un producto DHA producido por destilación.

El término "ácido graso poliinsaturado" (AGPI) se refiere a ácidos grasos que contienen más de un doble enlace. Dichos AGPI son muy conocidos por el experto en la materia. Como se usa en el presente documento, un derivado de AGPI es un AGPI en forma de mono, di o triglicérido, éster, fosfolípido, amida, lactona, o sal. Se prefieren los triglicéridos y los ésteres. Los ésteres son más preferidos. Los ésteres por lo general son alquilésteres, preferentemente alquilésteres C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, más preferentemente alquilésteres C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>. Los ejemplos de ésteres incluyen metil y etil ésteres. Los etil ésteres son los más preferidos.

60 Como se usa en el presente documento, el término "producto de AGPI" se refiere a un producto que comprende uno o más ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), y/o sus derivados, por lo general de importancia nutricional farmacéutica. Por lo general, el producto de AGPI es un único AGPI o uno de sus derivados. De manera alternativa, el producto de AGPI es una mezcla de dos o más AGPI o sus derivados, por ejemplo dos.

65 Como se usa en el presente documento, el término "zona" se refiere a una pluralidad de columnas cromatográficas unidas que contienen, como eluyente, un alcohol acuoso, y que tienen uno o más puntos de inyección para una

corriente de la mezcla de alimentación, uno o más puntos de inyección para agua y/o alcohol, una corriente de extracción de refinado a partir de la cual se puede recoger el líquido procedente de dicha pluralidad de columnas cromatográficas unidas, y una corriente de extracción de extracto a partir de la cual se puede recoger el líquido procedente de dicha pluralidad de columnas cromatográficas unidas. Por lo general, cada zona únicamente tiene un punto de inyección para una mezcla de alimentación. En una realización, cada zona tiene únicamente un punto de inyección para el eluyente de alcohol acuoso. En otra realización, cada zona tiene dos o más puntos de inyección para agua y/o alcohol.

El término "refinado" es muy conocido por el experto en la materia. En el contexto de cromatografía de lecho móvil real y simulado, se refiere a la corriente de componentes que se mueven más rápidamente con la fase eluyente líquida en comparación con la fase adsorbente sólida. Así, una corriente de refinado por lo general está enriquecida con más componentes polares, y empobrecida de componentes menos polares en comparación con una corriente de alimentación.

El término "extracto" es muy conocido por el experto en la materia. En el contexto de la cromatografía de lecho móvil real y simulado, se refiere a la corriente de componentes que se mueven más rápidamente con la fase adsorbente sólida en comparación con la fase eluyente líquida. Así, una corriente de extracto por lo general está enriquecida con componentes menos polares, y empobrecida de componentes más polares en comparación con una corriente de alimentación.

Como se usa en el presente documento, el término "no adyacentes" cuando se aplica a columnas en el mismo aparato se refiere a columnas separadas por una o más columnas, preferentemente 3 o más columnas, más preferentemente 5 o más columnas, lo más preferentemente 5 columnas aproximadamente.

Así, cuando (a) se recoge una corriente de refinado que contiene el producto de AGPI junto con componentes más polares procedente de una columna en la primera zona y se introduce en una columna no adyacente en la segunda zona, la corriente de refinado recogida procedente de la primera zona es la mezcla de alimentación para la segunda zona. Cuando (b) se recoge una corriente de extracto que contiene el producto de AGPI junto con componentes menos polares procedente de una columna en la segunda zona y se introduce en una columna no adyacente en la primera zona, la corriente de extracto recogida procedente de la segunda zona es la mezcla de alimentación en la primera zona.

Por lo general, el producto de AGPI comprende al menos un AGPI  $\omega$ -3 u  $\omega$ -6, preferentemente al menos un AGPI  $\omega$ -3. Los ejemplos de AGPI  $\omega$ -3 incluyen el ácido  $\alpha$ -linoleico (ALA), ácido estearidónico (SDA), ácido eicosatrienoico (ETE), ácido eicosatetraenoico (ETA), ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosapentaenoico (DPA) y ácido docosahexaenoico (DHA). Se prefieren los SDA, EPA, DPA y DHA. El EPA y DHA son más preferidos. Los ejemplos de AGPI  $\omega$ -6 son el ácido linoleico (LA), el ácido gamma-linolénico (GLA), el ácido eicosadienoico, el ácido dihomo-gamma-linolénico (DGLA), el ácido araquidónico (ARA), el ácido docosadienoico, el ácido adrenico y el ácido docosapentaenoico ( $\omega$ -6). Se prefieren el LA, ARA, GLA y DGLA.

En una realización, el producto de AGPI es EPA y/o el éster etílico (EE) del EPA.

En otra realización, el producto de AGPI es DHA y/o el éster etílico (EE) del EPA.

En otra realización adicional, el producto de AGPI es una mezcla de EPA y DHA y/o EE del EPA y EE del DHA.

Las mezclas de alimentación adecuadas para el fraccionamiento mediante el proceso de la presente invención se pueden obtener de fuentes naturales que incluyen ácidos y grasas vegetales y animales, y de fuentes sintéticas que incluyen aceites obtenidos a partir de plantas, animales y microorganismos modificados genéticamente, incluyendo levaduras. Los ejemplos incluyen aceites de pescado, aceites de algas y microalgas y aceites vegetales, por ejemplo, aceite de borraja, aceite de Echium y aceite de onagra. En una realización, la mezcla de alimentación es un aceite de pescado. En otra realización, la mezcla de alimentación es un aceite de algas. Los aceites de algas son particularmente adecuados cuando el producto de AGPI deseado es EPA y/o DHA. El aceite de cártamo modificado genéticamente es particularmente adecuado cuando el producto de AGPI deseado es GLA. La levadura genéticamente modificada es particularmente adecuada cuando el producto de AGPI deseado es el EPA.

La mezcla de alimentación se puede someter a tratamiento químico antes del fraccionamiento mediante el proceso de la invención. Por ejemplo, se puede someter a transesterificación con glicéridos o hidrólisis de glicéridos seguido, en ciertos casos, por procesos selectivos tales como cristalización, destilación molecular, fraccionamiento de urea, extracción con nitrato de plata u otras soluciones de sales metálicas, yodolactonización o fraccionamiento de fluidos supercríticos.

Las mezclas de alimentación por lo general contienen el producto de AGPI y al menos un componente más polar y al menos un componente menos polar. Los componentes menos polares tienen una mayor adherencia al adsorbente usado en el proceso de la presente invención que la del producto de AGPI. Durante su funcionamiento, dichos componentes menos polares por lo general se mueven con la fase adsorbente sólida en preferencia con respecto a

la fase eluyente líquida. Los componentes más polares tienen una menor adherencia al adsorbente usado en el proceso de la presente invención que la del producto de AGPI. Durante su funcionamiento, dichos componentes más polares por lo general se mueven con la fase eluyente líquida en preferencia con respecto a la fase adsorbente sólida. En general, los componentes más polares se separarán en una corriente de refinado, y los componentes menos polares se separarán en una corriente de extracto.

Los ejemplos de los componentes más y menos polares incluyen (1) otros compuestos que aparecen en aceites naturales (por ejemplo, aceites marinos o aceites vegetales), (2) subproductos formados durante las etapas previas de almacenamiento, refinado y concentración y (3) contaminantes de disolventes o reactivos que se utilizan durante las etapas previas de concentración o purificación.

Los ejemplos de (1) incluyen otros AGPI no deseados; ácidos grasos saturados; esteroides, por ejemplo colesterol; vitaminas; y contaminantes medioambientales, tal como policlorobifenilos (PCB), pesticidas de hidrocarburos poliaromáticos (PAH), pesticidas clorados, dioxinas y metales pesados. Los PCB, PAH, dioxinas y pesticidas clorados son todos componentes altamente no polares.

Los ejemplos de (2) incluyen isómeros y productos de oxidación o descomposición del producto de AGPI, por ejemplo, productos poliméricos de auto-oxidación de ácidos grasos o sus derivados.

Los ejemplos de (3) incluyen urea que se puede añadir para eliminar los ácidos grasos saturados o mono-insaturados de la mezcla de alimentación.

Preferentemente, la mezcla de alimentación es un aceite marino que contiene AGPI, más preferentemente un aceite marino que comprende EPA y/o DHA.

Una mezcla de alimentación típica para la preparación de EPA concentrado mediante el proceso de la presente invención comprende el 50-75 % de EPA, el 0-10 % de DHA, y otros componentes que incluyen otros ácidos grasos  $\omega$ -3 y  $\omega$ -6 esenciales.

Una mezcla de alimentación preferida para la preparación de EPA concentrado mediante el proceso de la invención comprende el 55 % de EPA, el 5 % de DHA, y otros componentes que incluyen otros ácidos grasos  $\omega$ -3 y  $\omega$ -6 esenciales. El DHA es menos polar que el EPA.

Una mezcla de alimentación típica para la preparación de DHA concentrado mediante el proceso de la presente invención comprende el 50-75 % de DHA, el 0-10 % de EPA, y otros componentes que incluyen otros ácidos grasos  $\omega$ -3 y  $\omega$ -6 esenciales.

Una mezcla de alimentación preferida para la preparación de DHA concentrado mediante el proceso de la presente invención comprende el 75 % de DHA, el 7 % de EPA y otros componentes que incluyen otros ácidos grasos  $\omega$ -3 y  $\omega$ -6 esenciales. El EPA es más polar que el DHA.

Una mezcla de alimentación típica para la preparación de una mezcla concentrada de EPA y DHA mediante el proceso de la presente invención comprende más del 33 % de EPA, y más del 22 % de DHA.

El proceso de la invención requiere una pluralidad de zonas en dicho aparato cromatográfico. Por lo general, se usan dos o más zonas. El número de zonas no está limitado en particular, pero en general hay de 2 a 5 zonas. Preferentemente hay dos o tres zonas, más preferentemente hay dos zonas.

Por lo general, los componentes separados en cada zona del aparato usado en el proceso de la presente invención tienen polaridades diferentes.

Por lo general, (a) el eluyente de alcohol acuoso presente en cada zona tiene una relación de agua:alcohol diferente; y/o (b) la velocidad a la que el líquido recogido a través de las corrientes de extracto y de refinado en cada zona se vuelve a recircular hacia la misma zona se ajusta de forma que el producto de AGPI se pueda separar de los diferentes componentes de la mezcla de alimentación en cada zona.

Cuando el aparato usado en el proceso de la presente invención tiene dos zonas, la presente invención por lo general proporciona un proceso de separación cromatográfico para recuperar un producto de ácido graso poliinsaturado (AGPI), de una mezcla de alimentación, proceso que comprende la introducción de la mezcla de alimentación en un aparato de cromatografía de lecho móvil simulado o real que tiene una pluralidad de columnas cromatográficas unidas que contienen, como eluyente, un alcohol acuoso, en el que el aparato tiene una primera zona y una segunda zona, cada zona que tiene una corriente de extracto y una corriente de refinado de las cuales se puede recoger el líquido procedente de dicha pluralidad de columnas cromatográficas unidas, y en el que (a) se recoge una corriente de refinado que contiene el producto de AGPI junto con componentes más polares procedentes de una columna en la primera zona y se introduce en una columna no adyacente en la segunda zona, y/o (b) se recoge una corriente de extracto que contiene el producto de AGPI junto con componentes menos polares

procedentes de una columna en la segunda zona y se introduce en una columna no adyacente en la primera zona, dicho producto de AGPI que se separa de los componentes menos polares de la mezcla de alimentación en la primera zona, y dicho producto de AGPI que se separa de los componentes más polares de la mezcla de alimentación en la segunda zona.

5 Por lo general, cuando el aparato usado en el proceso de la presente invención contiene dos zonas, el eluyente en la primera zona contiene más alcohol que el eluyente en la segunda zona, y la segunda zona está aguas abajo de la primera zona con respecto al caudal de eluyente en el sistema. Así, el eluyente en el sistema por lo general se mueve desde la primera zona a la segunda zona. Por el contrario, la fase adsorbente sólida por lo general se mueve desde la segunda zona a la primera zona. Por lo general, las dos zonas no se solapan, es decir, no hay columnas cromatográficas que se encuentren en ambas zonas.

15 En una realización adicional de la invención, el aparato tiene una primera zona, una segunda zona y una tercera zona. Las relaciones de agua:alcohol del eluyente de alcohol acuoso presente en la primera, segunda y tercera zona por lo general son diferentes. Como será evidente para el experto en la materia, esto tiene como consecuencia que las impurezas que tienen polaridades diferentes se puedan eliminar en cada zona.

20 Preferentemente, cuando el aparato tiene tres zonas, el eluyente en la primera zona contiene más alcohol que el eluyente en la segunda zona y la tercera zona y la primera zona está aguas arriba de la segunda y tercera zona con respecto al caudal del eluyente en el sistema. Por lo general, el eluyente en la segunda zona contiene más alcohol que el eluyente en la tercera zona y la segunda zona está aguas arriba de la tercera zona con respecto al caudal del eluyente en el sistema. Por lo general, en la primera zona, dicho producto de AGPI se separa de los componentes de la mezcla de alimentación que son menos polares que el producto de AGPI. Por lo general, en la segunda zona, dicho producto de AGPI se separa de los componentes de la mezcla de alimentación que son menos polares que el producto de AGPI pero más polares que los componentes separados en la primera zona. Por lo general, en la tercera zona, dicho producto de AGPI se separa de los componentes de la mezcla de alimentación que son más polares que el producto de AGPI.

30 En una realización adicional, en la primera zona, dicho producto de AGPI se separa de los componentes de la mezcla de alimentación que son menos polares que el producto de AGPI, en la segunda zona, dicho producto de AGPI se separa de los componentes de la mezcla de alimentación que son más polares que el producto de AGPI, y en la tercera zona, dicho producto de AGPI se separa de los componentes de la mezcla de alimentación que son más polares que el producto de AGPI y también más polares que los componentes separados en la segunda zona.

35 Dicha configuración con tres zonas sería adecuada para la separación de EPA y DHA a partir de una mezcla que contiene impurezas que son menos polares que el DHA y EPA y que también contienen impurezas que son más polares que el EPA. En la primera zona, los componentes que son menos polares que el DHA y EPA se eliminan en forma de corriente de extracto y se recoge una corriente de refinado que comprende DHA, EPA y componentes que son más polares que el EPA y se introduce en la segunda zona. En la segunda zona, el DHA se elimina en forma de corriente de extracto y se recoge una corriente de refinado que comprende EPA y componentes que son más polares que el EPA y se introduce en la tercera zona. En la tercera zona, los componentes que son más polares que el EPA se eliminan en forma de corriente de refinado y el EPA purificado se recoge en forma de corriente de extracto. En esta realización, el EPA purificado es el producto de AGPI purificado. Dicha configuración tiene la ventaja de que también se puede recuperar un AGPI secundario. En este caso, el AGPI secundario es el DHA recogido como corriente de extracto procedente de la segunda zona.

50 Por lo general, además de dicho producto de AGPI, se recoge un producto de AGPI secundario adicional en el proceso de separación cromatográfico de la invención. Preferentemente, el producto de AGPI es EPA y el producto de AGPI secundario adicional es DHA.

55 En una realización adicional de la invención, el aparato está configurado para recoger un producto de AGPI que es una mezcla concentrada de EPA y DHA. Así, se usa una mezcla de alimentación que contiene EPA, DHA, componentes que son más polares que el EPA y el DHA, y componentes que son menos polares que el EPA y el DHA. En la primera zona, se elimina el material menos polar que el EPA y el DHA. En la segunda zona se elimina el material que es más polar que el EPA y el DHA, y se recoge una mezcla concentrada de EPA y DHA en forma de producto de AGPI.

60 Para los fines del método de la presente invención se puede utilizar cualquier aparato conocido de cromatografía de lecho móvil simulado o real, siempre que el aparato esté configurado con zonas múltiples, en particular dos, que caracterizan el proceso de la presente invención. Se pueden usar otros aparatos descritos en los documentos US 2.985.589, US 3.696.107, US 3.706.812, US 3.761.533, FR-A-2103302, FR-A-2651148, FR-A-2651149, US 6.979.402, US 5.069.883 y US 4.764.276 si están configurados de acuerdo con el proceso de la presente invención.

65 El número de columnas usadas en el aparato no está limitado en particular. El experto en la materia será capaz de determinar fácilmente un número adecuado de columnas a utilizar. El número de columnas por lo general es de 8 o superior, preferentemente de 15 o superior. En una realización más preferida se usan 15 o 16 columnas. En otra

realización más preferida, se usan 19 o 20 columnas. En otras realizaciones más preferidas, se usan 30 o más columnas. Por lo general, no hay más de 50 columnas, preferentemente no más de 40.

5 Cada zona por lo general consta de una proporción aproximadamente igual del número total de columnas. Así, en el caso de un aparato configurado con dos zonas, cada zona por lo general consta aproximadamente de la mitad del número total de columnas cromatográficas en el sistema. Así, la primera zona por lo general comprende 4 o superior, preferentemente 8 o superior, más preferentemente 8 columnas aproximadamente. La segunda zona por lo general comprende 4 o superior, preferentemente 7 o superior, más preferentemente 7 u 8 columnas.

10 Las dimensiones de las columnas usadas en el aparato no están limitadas en particular, y dependerán del volumen de la mezcla de alimentación a purificar. El experto en la materia será capaz de determinar fácilmente el tamaño adecuado de las columnas a utilizar. El diámetro de cada columna por lo general está entre 10 y 500 mm, preferentemente entre 25 y 250 mm, más preferentemente entre 50 y 100 mm, y lo más preferentemente entre 70 y 80 mm. La longitud de cada columna por lo general está entre 10 y 200 cm, preferentemente entre 25 y 150 cm, más preferentemente entre 70 y 110 cm, y lo más preferentemente entre 80 y 100 cm.

Las columnas en cada zona por lo general tienen dimensiones idénticas pero, para ciertas aplicaciones, pueden tener dimensiones diferentes.

20 Los caudales de la columna están limitados por presiones máximas a lo largo de la serie de columnas y dependerán de las dimensiones de la columna y del tamaño de partícula de las fases sólidas. El experto en la materia será capaz de establecer fácilmente el caudal necesario para las dimensiones de cada columna con el fin de garantizar una desorción eficiente. Columnas con un diámetro más grande por lo general requerirán caudales superiores para mantener un flujo lineal a lo largo de las columnas.

25 Para los tamaños de columna típicos apuntados anteriormente, y para un aparato que tiene dos zonas, por lo general el caudal del eluyente en la primera zona es de 1 a 4,5 l/min, preferentemente de 1,5 a 2,5 l/min. Por lo general, el caudal del extracto procedente de la primera zona es de 0,1 a 2,5 l/min, preferentemente de 0,5 a 2,25 l/min. En realizaciones en las que parte del extracto procedente de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona, el caudal de reticulación por lo general es de 0,7 a 1,4 l/min, preferentemente de 1 l/min aproximadamente. Por lo general, el caudal del refinado procedente de la primera zona es de 0,2 a 2,5 l/min, preferentemente de 0,3 a 2,0 l/min. En realizaciones en las que parte del refinado procedente de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona, el caudal de reticulación por lo general es de 0,3 a 1,0 l/min, preferentemente de 0,5 l/min aproximadamente. Por lo general, el caudal de introducción de la mezcla de alimentación en la primera zona es de 5 a 150 ml/min, preferentemente de 10 a 100 ml/min, más preferentemente de 20 a 60 ml/min.

40 Para los tamaños de columna típicos apuntados anteriormente, y para un aparato que tiene dos zonas, por lo general el caudal del eluyente en la segunda zona es de 1 a 4 l/min, preferentemente de 1,5 a 3,5 l/min. Por lo general, el caudal del extracto procedente de la segunda zona es de 0,5 a 2 l/min, preferentemente de 0,7 a 1,9 l/min. En realizaciones en las que parte del extracto procedente de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona, el caudal de recirculación por lo general es de 0,6 a 1,4 l/min, preferentemente de 0,7 a 1,1 l/min, más preferentemente de 0,9 l/min aproximadamente. Por lo general, el caudal del refinado procedente de la segunda zona es de 0,5 a 2,5 l/min, preferentemente de 0,7 a 1,8 l/min, más preferentemente de 1,4 l/min aproximadamente.

45 Como apreciará el experto en la materia, las referencias a los caudales a los que se recoge o se elimina el líquido a través de las diversas corrientes de extracto y de refinado se refieren a volúmenes del líquido retirado en una cantidad de tiempo, por lo general l/minuto. De forma similar, las referencias a caudales a los que el líquido se vuelve a recircular hacia la misma zona, por lo general a una columna adyacente en la misma zona, se refiere a volúmenes de líquido recirculado en una cantidad de tiempo, por lo general l/minuto.

50 Por lo general parte de una o más de la corriente de extracto procedente de la primera zona, la corriente de refinado procedente de la primera zona, la corriente de extracto procedente de la segunda zona, y la corriente de refinado procedente de la segunda zona se vuelven a recircular hacia la misma zona, por lo general en una columna adyacente de la misma zona.

Esta recirculación es diferente de la alimentación de una corriente de extracto o de refinado en una columna no adyacente en otra zona. Más bien, la recirculación supone introducir parte de la corriente de extracto o de refinado que sale de una zona de vuelta hacia la misma zona, por lo general en una columna adyacente en la misma zona.

60 El caudal al que se vuelve a recircular el líquido recogido procedente de la corriente de extracto o de refinado procedente de la primera o segunda zonas hacia la misma zona es el caudal al que el líquido recogido mediante esa corriente se vuelve a introducir en la misma zona, por lo general en una columna adyacente en la misma zona. Esto se puede observar con referencia a la Figura 9. El caudal de recirculación del extracto en la primera zona es el caudal al cual se introduce el extracto recogido de la parte inferior de la columna 2 en la parte superior de la columna 3, es decir, el caudal de líquido en la parte superior de la columna 3. El caudal de recirculación del extracto en la

segunda zona es el caudal al cual se introduce el extracto recogido en la parte inferior de la columna 10 en la parte superior de la columna 11, es decir, el caudal de líquido en la parte superior de la columna 11.

La recirculación de las corrientes de extracto y/o de refinado por lo general se realiza introduciendo el líquido recogido de esa corriente en un contenedor, y a continuación bombeando una cantidad de ese líquido procedente del contenedor de vuelta hacia la misma zona. En este caso, el caudal de recirculación del líquido recogido de una corriente de extracto o de refinado particular, por lo general de vuelta hacia una columna adyacente en la misma zona, es el caudal al cual se bombea el líquido fuera del contenedor de vuelta hacia la misma zona, por lo general hacia una columna adyacente.

Como apreciará el experto en la materia, la cantidad de líquido que se introduce en una zona mediante las corrientes de eluyente y alimentación está equilibrada con la cantidad de líquido eliminado de una zona, y vuelto a recircular hacia la misma zona. Así, con referencia a la Figura 9, para la corriente de extracto, el caudal de eluyente (desorbente) en la primera y segunda zona (D) es igual al caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de esa zona se acumula en un contenedor (E1/E2) añadido al caudal al cual el extracto se vuelve a recircular hacia la misma zona (D-E1/D-E2). Para la corriente de refinado en una zona, el caudal al cual el extracto se vuelve a recircular hacia una zona (D-E1/D-E2) añadido al caudal al cual la alimentación se introduce en una zona (F/R1) es igual al caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de refinado procedente de esa zona se acumula en un contenedor (R1/R2) añadido al caudal al cual el refinado se vuelve a recircular hacia la misma zona (D+F-E1-R1/D+R1-R2-E2).

El caudal al cual el líquido recogido de una corriente particular de extracto o de refinado procedente de una zona se acumula en un contenedor también se puede considerar como el caudal neto de eliminación de esa corriente de extracto o de refinado de esa zona.

Por lo general, el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto fuera de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona difiere del caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto fuera de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona, y/o el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de refinado fuera de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona difiere del caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de refinado fuera de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona.

La variación del caudal al cual el líquido recogido mediante las corrientes de extracto y/o de refinado en cada zona se vuelve a recircular hacia la misma zona tiene el efecto de variar la cantidad de componentes más polares y menos polares presentes en las otras corrientes de extracto de refinado. Así, por ejemplo, un menor caudal de recirculación de extracto produce el transporte de una menor cantidad de componentes menos polares en esa zona hacia la corriente de refinado en esa zona. Un mayor caudal de recirculación de extracto produce el transporte de mayor cantidad de componentes menos polares en esa zona hacia la corriente de refinado en esa zona. Esto se puede observar, por ejemplo, en la realización específica de la invención mostrada en la Figura 6. El caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto en la primera zona se vuelve a recircular hacia la misma zona (D-E1) afectará en qué medida es transportado cualquiera del componente A hacia la corriente de refinado en la primera zona (R1).

Por lo general, el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona es más rápido que el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona. Preferentemente, la corriente de refinado que contiene el producto de AGPI junto con componentes más polares se recoge de una columna en la primera zona y se introduce a una columna no adyacente en la segunda zona, y el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona es más rápido que el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona.

De manera alternativa, el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona es más lento que el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona.

Por lo general, el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de refinado procedente de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona es más rápido que el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de refinado procedente de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona. Preferentemente, se recoge una corriente de extracto que contiene el producto de AGPI junto con componentes menos polares procedente de una columna en una segunda zona y se introduce a una columna no adyacente en la primera zona, y el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de refinado procedente de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona es más rápido que el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de refinado procedente de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona.

De manera alternativa, el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de refinado procedente de la

segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona es más lento que el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de refinado procedente de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona.

5 El tiempo de paso, es decir, el tiempo entre el desplazamiento de los puntos de inyección de la mezcla de alimentación y el eluyente, y los diversos puntos de extracción de las fracciones recogidas, no está limitado en particular, y dependerá del número y las dimensiones de las columnas usadas, y del caudal a través del aparato. El experto en la materia será capaz de determinar fácilmente los tiempos de paso adecuados para su uso en el proceso de la presente invención. El tiempo de paso por lo general es de 100 a 1000 segundos, preferentemente de 200 a 800 segundos, más preferentemente de 250 aproximadamente a 750 segundos aproximadamente. En algunas realizaciones, es adecuado un tiempo de paso de 100 a 400 segundos, preferentemente de 200 a 300 segundos, más preferentemente de 250 segundos aproximadamente. En otras realizaciones, es adecuado un tiempo de paso de 600 a 900 segundos, preferentemente de 700 a 800 segundos, más preferentemente de 750 segundos aproximadamente.

15 En el proceso de la presente invención, se prefiere la cromatografía de lecho móvil real.

Se pueden usar adsorbentes convencionales conocidos en la técnica para los sistemas de lecho móvil real y simulado. Cada columna cromatográfica puede tener el mismo adsorbente o un adsorbente diferente. Por lo general, cada columna contiene el mismo adsorbente. Los ejemplos de dichos materiales usados habitualmente son cuentas poliméricas, preferentemente poliestireno reticulado con DVB (divinilbenceno); y gel de sílice, preferentemente de fase inversa unido a gel de sílice con alcanos  $C_8$  o  $C_{18}$ , en particular  $C_{18}$ . Se prefiere el gel de sílice de fase inversa unido a  $C_{18}$ . El adsorbente usado en el proceso de la presente invención preferentemente es no polar.

25 La forma del material adsorbente de fase estacionaria puede ser, por ejemplo, de cuentas esféricas o no esféricas, preferentemente cuentas sustancialmente esféricas. Dichas cuentas por lo general tienen un diámetro de 40 a 500  $\mu\text{m}$ , preferentemente de 100 a 500  $\mu\text{m}$ , más preferentemente de 250 a 500  $\mu\text{m}$ , incluso más preferentemente de 250 a 400  $\mu\text{m}$ , lo más preferentemente de 250 a 350  $\mu\text{m}$ . Estos tamaños de partícula preferidos son algo más grandes que los tamaños de partícula de cuentas usadas en el pasado en procesos del lecho móvil simulado y real. El uso de partículas más grandes permite el uso de una menor presión de eluyente en el sistema. Esto, a su vez, tiene ventajas en términos de ahorro de costes, eficiencia y vida útil del aparato. De forma sorprendente se ha comprobado que en el proceso de la presente invención se pueden usar cuentas de adsorbente de un tamaño de partícula grande (con sus ventajas correspondientes) sin ninguna pérdida en la resolución.

35 El adsorbente por lo general tiene un tamaño de poro de 10 a 50 nm, preferentemente de 15 a 45 nm, más preferentemente de 20 a 40 nm, lo más preferentemente de 25 a 35 nm.

El eluyente usado en el proceso de la presente invención es un alcohol acuoso. El alcohol acuoso por lo general comprende agua y uno o más alcoholes de cadena corta. El alcohol de cadena corta por lo general tiene entre 1 y 6 átomos de carbono. Los ejemplos de alcoholes adecuados incluyen metanol, etanol, n-propanol, i-propanol, n-butanol, i-butanol, s-butanol y t-butanol. Se prefieren el metanol y el etanol. El metanol es más preferido.

Por lo general, el eluyente no está en estado supercrítico. Por lo general, el eluyente es un líquido.

45 Por lo general, la relación media de agua:alcohol del eluyente en todo el aparato es de 0,1:99,9 a 9:91 partes en volumen, preferentemente de 0,25:99,75 a 7:93 partes en volumen, más preferentemente de 0,5:99,5 a 6:94 partes en volumen.

50 El poder de elución del eluyente en cada una de las zonas por lo general es diferente. Preferentemente, el poder de elución del eluyente en la primera zona es superior al del eluyente en la segunda zona y zonas posteriores. En la práctica esto se consigue variando las cantidades relativas de agua y alcohol en cada zona. Por lo general los alcoholes son desorbentes más poderosos que el agua. Así, la cantidad de alcohol en el eluyente en la primera zona por lo general es superior a la cantidad de alcohol en el eluyente en la segunda zona y zonas posteriores.

55 En realizaciones en las que el alcohol acuoso presente en cada zona tiene un contenido de alcohol en agua diferente, la relación de agua:alcohol del eluyente en la primera zona por lo general es de 0:100 a 5:95 partes en volumen, preferentemente de 0,1:99,9 a 2,5:97,5 partes en volumen, más preferentemente de 0,25:99,75 a 2:98 partes en volumen, y lo más preferentemente de 0,5:99,5 a 1,5:98,5 partes en volumen. En estas realizaciones, la relación de agua:alcohol del eluyente en la segunda zona por lo general es de 3:97 a 7:93 partes en volumen, preferentemente de 4:96 a 6:94 partes en volumen, más preferentemente de 4,5:95,5 a 5,5:94,5 partes en volumen.

60 En una realización preferida en particular en la que el alcohol acuoso presente en cada zona tiene un contenido de alcohol en agua diferente, la relación de agua:alcohol del eluyente en la primera zona es de 0,5:99,5 a 1,5:98,5 partes en volumen, y la relación de agua:alcohol del eluyente en la segunda zona es de 4,5:95,5 a 5,5:94,5 partes en volumen.

65 En realizaciones en las que el caudal al cual el líquido recogido mediante las corrientes de extracto y de refinado en

5 cada zona se vuelve a recircular hacia la misma zona, se ajusta de manera que el producto de AGPI se pueda separar de los diferentes componentes de la mezcla de alimentación en cada zona, y la relación de agua:alcohol de los eluyentes en cada zona puede ser igual o diferente. Por lo general, la relación de agua:alcohol del eluyente en cada zona es de 0,5:99,5 a 5,5:94,5 partes en volumen. En una realización, la relación de agua:alcohol del eluyente en la primera zona es inferior a la relación de agua:alcohol del eluyente en la segunda zona. En otra realización, la relación de agua:alcohol del eluyente en la primera zona es superior a la relación de agua:alcohol del eluyente en la segunda zona. En una realización adicional, la relación de agua:alcohol del eluyente en la primera zona es la misma que la relación de agua:alcohol del eluyente en la segunda zona.

10 Se apreciará que las relaciones de agua y alcohol en cada zona a las que se hace referencia más arriba son las relaciones medias dentro de toda la zona.

15 Por lo general, la relación de agua:alcohol del eluyente en cada zona se controla introduciendo agua y/o alcohol en una o más columnas en las zonas. Así, por ejemplo, para conseguir una menor relación de agua:alcohol en la primera zona que en la segunda zona, por lo general se introduce agua más lentamente en la primera zona que en la segunda zona. En algunas realizaciones, se puede introducir alcohol esencialmente puro y agua esencialmente pura en puntos diferentes de cada zona. Los caudales relativos de estas dos corrientes determinarán el perfil global del disolvente a lo largo de la zona. En otras realizaciones, se pueden introducir mezclas de alcohol/agua diferentes en diferentes puntos de cada zona. Eso supondrá la introducción de dos o más mezclas diferentes de alcohol/agua en la zona cada mezcla de alcohol/agua que tiene una relación de alcohol:agua diferente. Los caudales relativos y las concentraciones relativas de las mezclas de alcohol/agua en esta realización determinarán el perfil global del disolvente a lo largo de la zona. En otras realizaciones en las que la relación de agua:alcohol del eluyente en cada zona es idéntica, se introduce la misma mezcla de alcohol/agua en cada zona.

25 Por lo general, el proceso de la presente invención se lleva a cabo de 15 a 55 °C, preferentemente de 20 a 40 °C, más preferentemente a 30 °C aproximadamente. Así, por lo general el proceso se lleva a cabo a temperatura ambiente, pero se puede realizar a temperaturas elevadas.

30 El proceso de la presente invención supone la introducción de una corriente de alimentación en una zona (por ejemplo, la primera zona), la recolección de una primera corriente intermedia enriquecida con el producto de AGPI y la introducción de la primera corriente intermedia en otra zona (por ejemplo, la segunda zona). Así, cuando el aparato tenga dos zonas, el proceso supone (a) la recolección de una primera corriente intermedia procedente de la primera zona y su introducción en la segunda zona, o (b) la recolección de una primera corriente intermedia procedente de la segunda zona y su introducción en la primera zona. De esta forma, el producto de AGPI se puede separar tanto de componentes más polares como de componentes menos polares en un único proceso.

35 Se recoge cualquiera de (a) una corriente de refinado que contiene el producto de AGPI junto con componentes más polares procedente de una columna en la primera zona y se introduce en una columna no adyacente en la segunda zona, o se recoge (b) una corriente de extracto que contiene el producto de AGPI junto con componentes menos polares procedente de una columna en la segunda zona y se introduce en una columna no adyacente en la primera zona.

40 En una realización preferida en particular, el aparato tiene dos zonas, y el proceso de la presente invención comprende:

- 45
- (i) la introducción de la mezcla de alimentación en la primera zona, y la eliminación de una primera corriente de refinado enriquecida con el producto de AGPI y una primera corriente de extracto empobrecida del producto de AGPI, y
  - 50 (ii) la introducción de la primera corriente de refinado en la segunda zona, la eliminación de una segunda corriente de refinado empobrecida del producto de AGPI, y la recolección de una segunda corriente de extracto para obtener el producto de AGPI.

55 Esta realización preferida en particular es adecuada para la purificación de EPA a partir de una mezcla de alimentación.

60 Esta realización preferida en particular se ilustra en la Figura 2. Una mezcla de alimentación F que comprende el producto de AGPI (B) y componentes más polares (C) y menos polares (A) se introduce en la primera zona. En la primera zona, los componentes menos polares (A) se eliminan en forma de corriente de extracto E1. El producto de AGPI (B) y los componentes más polares (C) se eliminan en forma de corriente de refinado R1. La corriente de refinado R1 se introduce a continuación en la segunda zona. En la segunda zona, los componentes más polares (C) se eliminan en forma de corriente de refinado R2. El producto de AGPI (B) se recoge en forma de corriente de extracto E2.

65 Esta realización se ilustra con mayor detalle en la Figura 4. La Figura 4 es idéntica a la Figura 2, excepto por que se muestran los puntos de introducción del desorbente alcohol (D) y agua (W) en cada zona. El desorbente alcohol (D) y el agua (W) juntos forman el eluyente. La fase (D) por lo general es alcohol esencialmente puro, pero en ciertas

realizaciones puede ser una mezcla de alcohol/agua que comprende principalmente alcohol. La fase (W) por lo general es agua esencialmente pura, pero en ciertas realizaciones puede ser una mezcla de alcohol/agua que comprende principalmente agua, por ejemplo una mezcla del 98 % de agua/2 % de metanol.

- 5 Una ilustración adicional de esta realización preferida en particular se muestra en la Figura 6. Aquí no hay un punto de inyección de agua aparte, y en su lugar se inyecta un desorbente alcohol acuoso en (D).

10 La separación en la corriente de refinado y de extracto se puede propiciar variando el poder de desorción del eluyente dentro de cada zona. Esto se puede conseguir introduciendo el componente alcohol (o rico en alcohol) del eluyente y el componente agua (o rico en agua) en puntos diferentes en cada zona. Así, por lo general, el alcohol se introduce aguas arriba del punto de extracción del extracto y el agua se introduce entre el punto de extracción del extracto y el punto de introducción de la alimentación en la zona, con respecto al flujo del eluyente en el sistema. Esto se muestra en la Figura 4.

- 15 De manera alternativa, la separación se puede propiciar variando los caudales a los que el líquido recogido mediante las corrientes de extracto y de refinado procedente de las dos zonas se vuelve a recircular hacia la misma zona.

20 Por lo general, en esta realización preferida en particular, el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona es más rápido que el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona; o la relación de agua:alcohol del eluyente en la primera zona es inferior a la de la segunda zona.

25 En esta realización preferida en particular, la primera corriente de refinado en la primera zona por lo general se elimina aguas abajo del punto de introducción de la mezcla de alimentación en la primera zona, con respecto al flujo de eluyente en la primera zona.

30 En esta realización preferida en particular, la primera corriente de extracto en la primera zona por lo general se elimina aguas arriba del punto de introducción de la mezcla de alimentación en la primera zona, con respecto al flujo de eluyente en la primera zona.

35 En esta realización preferida en particular, la segunda corriente de refinado en la segunda zona por lo general se elimina aguas abajo del punto de introducción de la primera corriente de refinado en la segunda zona, con respecto al flujo de eluyente en la segunda zona.

40 En esta realización preferida en particular, la segunda corriente de extracto en la segunda zona por lo general se recoge aguas arriba del punto de introducción de la primera corriente de refinado en la segunda zona, con respecto al flujo de eluyente en la segunda zona.

45 Por lo general, en esta realización preferida en particular, el alcohol o alcohol acuoso se introduce en la primera zona aguas arriba del punto de eliminación de la primera corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la primera zona.

50 Por lo general, en esta realización preferida en particular, cuando el agua se introduce en la primera zona, el agua se introduce en la primera zona aguas arriba del punto de introducción de la mezcla de alimentación pero aguas abajo del punto de eliminación de la primera corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la primera zona.

55 Por lo general, en esta realización preferida en particular, el alcohol o alcohol acuoso se introduce en la segunda zona aguas arriba del punto de eliminación de la segunda corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la segunda zona.

60 Por lo general, en esta realización preferida en particular, cuando el agua se introduce en la segunda zona, el agua se introduce en la segunda zona aguas arriba del punto de introducción de la primera corriente de refinado pero aguas abajo del punto de eliminación de la segunda corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la segunda zona.

En otra realización preferida en particular, el aparato tiene dos zonas, y el proceso comprende:

- 65 (i) la introducción de la mezcla de alimentación en la segunda zona, y la eliminación de una primera corriente de refinado empobrecida del producto de AGPI y una primera corriente de extracto enriquecida en el producto de AGPI, y  
 (ii) la introducción de la primera corriente de extracto en la primera zona, la eliminación de una segunda corriente de extracto empobrecida del producto de AGPI, y la recolección de una segunda corriente de refinado para obtener el producto de AGPI.

Esta realización preferida en particular es adecuada para la purificación de DHA a partir de una mezcla de alimentación.

Esta realización se ilustra en la Figura 3. Una mezcla de alimentación F que comprende el producto de AGPI (B) y los componentes más polares (C) y menos polares (A) se introduce en la segunda zona. En la segunda zona los componentes más polares (C) se eliminan en forma de corriente de refinado R1. El producto de AGPI (B) y los componentes menos polares (A) se recogen en forma de corriente de extracto E1. La corriente de extracto E1 a continuación se introduce en la primera zona. En la primera zona, los componentes menos polares (A) se eliminan en forma de corriente de extracto E2. El producto de AGPI (B) se recoge en forma de corriente de refinado R2.

Esta realización se ilustra con mayor detalle en la Figura 5. La Figura 5 es idéntica a la Figura 3, excepto por que se muestran los puntos de introducción de un desorbente alcohol de cadena corta (D) y agua (W) en cada zona. Como anteriormente, la fase (D) por lo general es alcohol esencialmente puro, pero en ciertas realizaciones puede ser una mezcla de alcohol/agua que comprende principalmente alcohol. La fase (W) por lo general es agua esencialmente pura, pero en ciertas realizaciones puede ser una mezcla de alcohol/agua que comprende principalmente agua, por ejemplo una mezcla del 98 % de agua/2 % de metanol.

Una ilustración adicional de esta realización preferida en particular se muestra en la Figura 7. Aquí no hay un punto de inyección de agua aparte, y en su lugar se inyecta un desorbente alcohol acuoso en (D).

Por lo general en esta realización, el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de refinado procedente de la segunda zona se reintroduce en la segunda zona es más rápido que el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de refinado procedente de la primera zona se reintroduce en la primera zona; o la relación de agua:alcohol del eluyente en la primera zona es inferior a la de la segunda zona.

En esta segunda realización preferida en particular, la primera corriente de refinado en la segunda zona por lo general se elimina aguas abajo del punto de introducción de la mezcla de alimentación en la segunda zona, con respecto al flujo de eluyente en la segunda zona.

En esta segunda realización preferida en particular, la primera corriente de extracto de la segunda zona por lo general se recoge aguas arriba del punto de introducción de la mezcla de alimentación en la segunda zona, con respecto al flujo de eluyente en la segunda zona.

En esta segunda realización preferida en particular, la segunda corriente de refinado en la primera zona por lo general se recoge aguas abajo del punto de introducción de la primera corriente de extracto en la primera zona, con respecto al flujo de eluyente en la primera zona.

En esta segunda realización preferida en particular, la segunda corriente de extracto en la primera zona por lo general se elimina aguas arriba del punto de introducción de la primera corriente de extracto en la primera zona, con respecto al flujo de eluyente en la primera zona.

Por lo general en esta segunda realización preferida en particular, el alcohol o alcohol acuoso se introduce en la segunda zona aguas arriba del punto de eliminación de la primera corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la segunda zona.

Por lo general en esta segunda realización preferida en particular, cuando se introduce agua en la segunda zona, el agua se introduce en la segunda zona aguas arriba del punto de introducción de la mezcla de alimentación pero aguas abajo del punto de eliminación de la primera corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la segunda zona.

Por lo general en esta segunda realización preferida en particular, el alcohol o alcohol acuoso se introduce en la primera zona aguas arriba del punto de eliminación de la segunda corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la primera zona.

Por lo general en esta segunda realización preferida en particular, cuando se introduce agua en la primera zona, el agua se introduce en la primera zona aguas arriba del punto de introducción de la primera corriente de refinado pero aguas abajo del punto de eliminación de la segunda corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente de la primera zona.

En una realización preferida de la invención, el aparato de cromatografía de lecho móvil simulado o real consta de quince columnas cromatográficas. Se hace referencia a ellas como columnas 1 a 15. Las quince columnas están dispuestas en serie de forma que la parte inferior de la columna 1 está unida a la parte superior de la columna 2, la parte inferior de la columna 2 está unida a la parte superior de la columna 3, etc. Esto se puede realizar opcionalmente mediante un contenedor de retención, con una corriente de recirculación hacia la siguiente columna. El flujo de eluyente a través del sistema es desde la columna 1 a la columna 2 a la columna 3, etc. El flujo de adsorbente a través del sistema es desde la columna 15 a la columna 14 a la columna 13, etc.

5 En una realización más preferida, la primera zona por lo general consta de ocho columnas adyacentes, las columnas 1 a 8, que están conectadas como se ha descrito anteriormente. En esta realización más preferida, la segunda zona por lo general consta de siete columnas, las columnas 9 a 15, que están conectadas como se ha descrito anteriormente. Para evitar dudas, la parte inferior de la columna 8 en la primera zona está unida a la parte superior de la columna 9 en la segunda zona.

10 Una realización más preferida se ilustra en la Figura 8. Una mezcla de alimentación F que comprende el producto de AGPI (B) y componentes más polares (C) y menos polares (A) se introduce en la parte superior de la columna 5 en la primera zona. El desorbente alcohol se introduce en la parte superior de la columna 1 en la primera zona. Se introduce agua en la parte superior de la columna 4 en la primera zona. En la primera zona, los componentes menos polares (A) se eliminan en forma de corriente de extracto E1 en la parte inferior de la columna 2. El producto de AGPI (B) y los componentes más polares (C) se eliminan en forma de corriente de refinado R1 en la parte inferior de la columna 7. La corriente de refinado R1 a continuación se introduce en la segunda zona en la parte superior de la columna 13. El desorbente alcohol se introduce en la parte superior de la columna 9 en la segunda zona. Se introduce agua en la parte superior de la columna 12 en la segunda zona. En la segunda zona, los componentes más polares (C) se eliminan en forma de corriente de refinado R2 en la parte inferior de la columna 15. El producto de AGPI (B) se recoge en forma de corriente de extracto E2 en la parte inferior de la columna 10.

20 En esta realización más preferida, el alcohol por lo general se introduce en la parte superior de la columna 1 en la primera zona.

25 En esta realización más preferida, el agua por lo general se introduce en la parte superior de la columna 4 en la primera zona.

En esta realización más preferida, el alcohol por lo general se introduce en la parte superior de la columna 9 en la segunda zona.

30 En esta realización más preferida, el agua por lo general se introduce en la parte superior de la columna 12 en la segunda zona.

En esta realización más preferida, la corriente de alimentación por lo general se introduce en la parte superior de la columna 5 en la primera zona.

35 En esta realización más preferida, por lo general se recoge una primera corriente de refinado en la parte inferior de la columna 7 en la primera zona y se introduce en la parte superior de la columna 13 en la segunda zona. La primera corriente de refinado opcionalmente se puede recoger en un contenedor antes de introducirse en la columna 13.

40 En esta realización más preferida, una primera corriente de extracto por lo general se elimina de la parte inferior de la columna 2 en la primera zona. La primera corriente de extracto opcionalmente se puede recoger en un contenedor y reintroducirse en la parte superior de la columna 3 en la primera zona.

45 En esta realización más preferida, una segunda corriente de refinado por lo general se elimina de la parte inferior de la columna 15 en la segunda zona.

50 En esta realización más preferida, una segunda corriente de extracto por lo general se recoge de la parte inferior de la columna 10 en la segunda zona. La segunda corriente de extracto por lo general contiene el producto de AGPI purificado. La segunda corriente de extracto opcionalmente se puede recoger en un contenedor y reintroducirse en la parte superior de la columna 1 en la segunda zona.

Por lo general, en esta realización más preferida, la relación de agua:alcohol en la primera zona es inferior a la relación de agua:alcohol en la segunda zona.

55 Una realización más preferida adicional se ilustra en la Figura 9. Una mezcla de alimentación F que comprende el producto de AGPI (B) y los componentes más polares (C) y menos polares (A) se introduce en la parte superior de la columna 5 en la primera zona. El desorbente alcohol acuoso se introduce en la parte superior de la columna 1 en la primera zona. En la primera zona, los componentes menos polares (A) se eliminan en forma de corriente de extracto E1 procedentes de la parte inferior de la columna 2. El producto de AGPI (B) y los componentes más polares (C) se eliminan en forma de corriente de refinado R1 procedente de la parte inferior de la columna 7. La corriente de refinado R1 a continuación se introduce en la segunda zona en la parte superior de la columna 12. El desorbente alcohol acuoso se introduce en la parte superior de la columna 9 en la segunda zona. En la segunda zona, los componentes más polares (C) se eliminan en forma de corriente de refinado R2 en la parte inferior de la columna 14. El producto de AGPI (B) se recoge en forma de corriente de extracto E2 en la parte inferior de la columna 10.

65 En esta realización más preferida, el alcohol acuoso por lo general se introduce en la parte superior de la columna 1 en la primera zona.

En esta realización más preferida, el alcohol acuoso por lo general se introduce en la parte superior de la columna 9 en la segunda zona.

5 En esta realización más preferida, la corriente de alimentación por lo general se introduce en la parte superior de la columna 5 en la primera zona.

10 En esta realización más preferida, una primera corriente de refinado por lo general se recoge de la parte inferior de la columna 7 en la primera zona y se introduce en la parte superior de la columna 12 en la segunda zona. La primera corriente de refinado opcionalmente se puede recoger en un contenedor antes de introducirse en la columna 12.

15 En esta realización más preferida, una primera corriente de extracto por lo general se elimina de la parte inferior de la columna 2 en la primera zona. La primera corriente de extracto opcionalmente se puede recoger en un contenedor y una fracción se puede introducir en la parte superior de la columna 3 en la primera zona. El caudal de recirculación del líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la primera zona de vuelta a la primera zona es el caudal al cual el líquido se bombea desde este contenedor hacia la parte superior de la columna 3.

20 En esta realización más preferida, una segunda corriente de refinado por lo general se elimina de la parte inferior de la columna 14 en la segunda zona.

25 En esta realización más preferida, una segunda corriente de extracto por lo general se recoge de la parte inferior de la columna 10 en la segunda zona. Esta segunda corriente de extracto por lo general contiene el producto de AGPI purificado. La segunda corriente de extracto opcionalmente se puede recoger en un contenedor y una fracción se puede reintroducir en la parte superior de la columna 11 en la segunda zona. El caudal de recirculación del líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la segunda zona de vuelta hacia la segunda zona es el caudal al cual el líquido se bombea desde este contenedor hacia la parte superior de la columna 11.

30 En esta realización más preferida, el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona por lo general es más rápido que el caudal al cual el líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona.

En esta realización más preferida, el eluyente de alcohol acuoso es sustancialmente el mismo en cada zona.

35 En una realización preferida adicional de la invención, el aparato de cromatografía de lecho móvil simulado o real consta de diecinueve columnas cromatográficas. Se hace referencia a ellas como columnas 1 a 19. Las diecinueve columnas están dispuestas en serie de forma que la parte inferior de la columna 1 está unida a la parte superior de la columna 2, la parte inferior de la columna 2 está unida a la parte superior de la columna 3, etc. El flujo de eluyente a través del sistema es desde la columna 1 a la columna 2 a la columna 3, etc. El flujo de adsorbente a través del sistema es desde la columna 19 a la columna 18 a la columna 17, etc.

45 En esta realización, la primera zona por lo general consta de diez columnas adyacentes, las columnas 1 a 10, que están conectadas como se ha descrito anteriormente. La segunda zona por lo general consta de ocho columnas, las columnas 11 a 19, que están conectadas como se ha descrito anteriormente.

50 Esta realización preferida adicional se ilustra en la Figura 10. Una mezcla de alimentación F que comprende el producto de AGPI (B) y los componentes más polares (C) y menos polares (A y A') se introduce en la parte superior de la columna 7 en la primera zona. Un primer desorbente (D1) que comprende el 100 % de alcohol se introduce en la parte superior de la columna 1 en la primera zona. Un segundo desorbente (D2) que comprende una mezcla de agua/alcohol (preferentemente el 2 % de metanol y el 98 % de agua) se introduce en la parte superior de la columna 5 en la primera zona. En la primera zona, los componentes menos polares (A') y (A) se eliminan en forma de corrientes de extracto E1' y E1 procedentes de la parte inferior de las columnas 1 y 4, respectivamente. El producto de AGPI (B) y los componentes más polares (C) se eliminan en forma de corriente de refinado R1 procedente de la parte inferior de la columna 10. La corriente de refinado R1 a continuación se introduce en la segunda zona en la parte superior de la columna 17. Un segundo desorbente (D2) que comprende una mezcla de agua/alcohol (preferentemente el 2 % de metanol y el 98 % de agua) se introduce en la parte superior de la columna 11 en la segunda zona. En la segunda zona, los componentes más polares (C) se eliminan en forma de corriente de refinado R2 en la parte inferior de la columna 19. El producto de AGPI (B) se recoge en forma de corriente de extracto E2 en la parte inferior de la columna 14.

60 En esta realización preferida, el alcohol por lo general se introduce en la parte superior de la columna 1 en la primera zona.

65 En esta realización preferida, por lo general se introduce una mezcla del 2 % de MeOH/98 % de agua en la parte superior de la columna 5 en la primera zona.

## ES 2 459 951 T3

En esta realización preferida, por lo general se introduce una mezcla del 2 % de MeOH/98 % de agua en la parte superior de la columna 11 en la segunda zona.

5 En esta realización preferida, la corriente de alimentación por lo general se introduce en la parte superior de la columna 7 en la primera zona.

10 En esta realización preferida, una primera corriente de refinado por lo general se recoge procedente de la parte inferior de la columna 10 en la primera zona y se introduce en la parte superior de la columna 17 en la segunda zona. La primera corriente de refinado opcionalmente se puede recoger en un contenedor antes de introducirse en la columna 17.

15 En esta realización preferida, las corrientes de extracto por lo general se eliminan de la parte inferior de las columnas 1 y 4 en la primera zona. La corriente de extracto recogida procedente de la parte inferior de la columna 4 opcionalmente se puede recoger en un contenedor y se puede reintroducir en la parte superior de la columna 5 en la primera zona.

En esta realización preferida, una segunda corriente de refinado por lo general se elimina de la parte inferior de la columna 19 en la segunda zona.

20 En esta realización preferida, una segunda corriente de extracto por lo general se recoge de la parte inferior de la columna 14 en la segunda zona. Esta segunda corriente de extracto por lo general contiene el producto de AGPI purificado. La segunda corriente de extracto opcionalmente se puede recoger en un contenedor y se puede reintroducir en la parte superior de la columna 15 en la segunda zona.

25 Por lo general, en esta realización más preferida, la relación de agua:alcohol en la primera zona es inferior a la relación de agua:alcohol en la segunda zona.

30 El proceso de la invención permite que se consigan purezas del producto de AGPI muy superiores de las que han sido posibles con las técnicas cromatográficas convencionales. Los productos de AGPI producidos mediante el proceso de la invención también tienen perfiles de impurezas particularmente ventajosos, que son bastante diferentes de los observados en aceites preparados mediante técnicas conocidas. En el presente documento también se describen composiciones que comprenden un producto de AGPI, por ejemplo, uno que se puede obtener mediante el proceso de la presente invención.

35 Así, en una realización se describe una composición que comprende un producto de AGPI, en la que el producto de AGPI es EPA, el producto de AGPI está presente en una cantidad superior al 93 % en peso, y el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -6 es de hasta el 0,40 % en peso.

40 Como se usa en el presente documento, el porcentaje en peso de un componente lo es con respecto al peso total de la composición.

El producto de AGPI y los AGPI  $\omega$ -6 opcionalmente están en forma de sus alquilesteres, por lo general etil ésteres. Preferentemente, el producto de AGPI EPA está en forma de su éster etílico.

45 Por lo general, en esta realización, el producto de AGPI EPA está presente en una cantidad superior al 94 % en peso, preferentemente superior al 95 % en peso, más preferentemente superior al 96 % en peso, incluso más preferentemente superior al 97 % en peso, y lo más preferentemente superior al 98 % en peso.

50 El contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -6 en esta realización es de hasta el 0,40 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -6 de hasta esta cantidad. Por lo general, el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -6 es de hasta el 0,35 % en peso, preferentemente de hasta el 0,3 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,25 % en peso, y lo más preferentemente de hasta el 0,22 % en peso. Por lo general, el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -6 es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.

55 Por lo general, en esta realización, el contenido de ácido araquidónico es de hasta el 0,25 % en peso, preferentemente de hasta el 0,24 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,23 % en peso, y lo más preferentemente de hasta el 0,22 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido araquidónico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido araquidónico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.

60 Por lo general, en esta realización el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -3 es superior al 97 % en peso, preferentemente superior al 97,5 % en peso, más preferentemente superior al 97,9 % en peso. En ciertas realizaciones, el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -3 es superior al 99 % en peso.

65 Por lo general, en esta realización el contenido total de DHA es de hasta el 1 % en peso, preferentemente de hasta

el 0,6 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,3 % en peso, lo más preferentemente de hasta el 0,2 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de DHA de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de DHA es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.

- 5 Por lo general, en esta realización el contenido total de DHA es de hasta el 0,2 % en peso, preferentemente de hasta el 0,175 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,16 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de DHA de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de DHA es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.
- 10 Por lo general, en esta realización el contenido total de ácido  $\alpha$ -linolénico es de hasta el 1 % en peso, preferentemente de hasta el 0,6 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,3 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido  $\alpha$ -linolénico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido  $\alpha$ -linolénico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.
- 15 Por lo general, en esta realización el contenido total de ácido  $\alpha$ -linolénico es de hasta el 0,35 % en peso, preferentemente hasta el 0,3 % en peso, más preferentemente hasta el 0,29 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido  $\alpha$ -linolénico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido  $\alpha$ -linolénico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.
- 20 Por lo general, en esta realización el contenido total de ácido estearidónico es de hasta el 1 % en peso, preferentemente de hasta el 0,6 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,3 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido estearidónico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido estearidónico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.
- 25 Por lo general, en esta realización el contenido total de ácido estearidónico es de hasta el 0,4 % en peso, preferentemente de hasta el 0,35 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,34 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido estearidónico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido estearidónico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.
- 30 Por lo general, en esta realización el contenido total de ácido eicosatetraenoico es de hasta el 1 % en peso, preferentemente de hasta el 0,75 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,5 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido eicosatetraenoico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido de ácido eicosatetraenoico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.
- 35 Por lo general, en esta realización el contenido total de ácido eicosatetraenoico es de hasta el 0,5 % en peso, preferentemente de hasta el 0,475 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,46 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido eicosatetraenoico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido eicosatetraenoico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.
- 40 Por lo general, en esta realización el contenido total de ácido docosapentaenoico es de hasta el 1 % en peso, preferentemente de hasta el 0,6 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,3 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido docosapentaenoico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido docosapentaenoico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.
- 45 Por lo general, en esta realización el contenido total de ácido docosapentaenoico es de hasta el 0,4 % en peso, preferentemente de hasta el 0,35 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,33 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido docosapentaenoico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido de ácido docosapentaenoico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.
- 50 En esta realización, la composición preferentemente comprende más del 96,5 % en peso de EPA, hasta el 1 % en peso de DHA, hasta el 1 % en peso de ácido  $\alpha$ -linolénico, hasta el 1 % en peso de ácido estearidónico, hasta el 1 % en peso de ácido eicosatetraenoico, hasta el 1 % en peso de ácido docosapentaenoico, y hasta el 0,25 % en peso de ácido araquidónico.
- 55 En esta realización, la composición preferentemente comprende más del 96,5 % en peso de EPA, hasta el 0,2 % en peso de DHA, hasta el 0,3 % en peso de ácido  $\alpha$ -linolénico, hasta el 0,4 % en peso de ácido estearidónico, hasta el 0,5 % en peso de ácido eicosatetraenoico, hasta el 0,35 % en peso de ácido docosapentaenoico, y hasta el 0,25 % en peso de ácido araquidónico.
- 60 En esta realización, la composición más preferentemente comprende del 96,5 al 99 % en peso de EPA, hasta el 0,6 % en peso de DHA, hasta el 0,6 % en peso de ácido  $\alpha$ -linolénico, del 0,15 al 0,6 % en peso de ácido estearidónico,
- 65

del 0,1 al 0,75 % en peso de ácido eicosatetraenoico, hasta el 0,6 % en peso de ácido docosapentaenoico, y hasta el 0,6 % en peso de ácido araquidónico.

5 En esta realización, la composición más preferentemente comprende del 96,5 al 99 % en peso de EPA, hasta el 0,2 % en peso de DHA, hasta el 0,3 % en peso de ácido  $\alpha$ -linolénico, del 0,15 al 0,4 % en peso de ácido estearidónico, del 0,1 al 0,5 % en peso de ácido eicosatetraenoico, hasta el 0,35 % en peso de ácido docosapentaenoico, y hasta el 0,25 % en peso de ácido araquidónico.

10 En esta realización, la composición lo más preferentemente comprende del 98 al 99 % en peso de EPA, del 0,1 al 0,3 % en peso de DHA, del 0,3 al 0,35 % en peso de ácido estearidónico, del 0,1 al 0,3 % en peso de ácido eicosatetraenoico, y del 0,3 al 0,35 % en peso de ácido docosapentaenoico.

15 En esta realización, la composición lo más preferentemente comprende del 96,5 al 99 % en peso de EPA, del 0,1 al 0,5 % en peso de DHA, del 0,1 al 0,5 % en peso de ácido estearidónico, del 0,1 al 0,5 % en peso de ácido eicosatetraenoico, del 0,1 al 0,5 % en peso de ácido docosapentaenoico y del 0,1 al 0,3 % en peso de ácido araquidónico.

20 En esta realización, la composición lo más preferentemente comprende del 98 al 99 % en peso de EPA, del 0,1 al 0,2 % en peso de DHA, del 0,3 al 0,35 % en peso de ácido estearidónico, del 0,1 al 0,2 % en peso de ácido eicosatetraenoico, y del 0,3 al 0,35 % en peso de ácido docosapentaenoico.

25 En esta realización, la composición lo más preferentemente comprende del 96,5 al 97,5 % en peso de EPA, del 0,25 al 0,35 % en peso de ácido  $\alpha$ -linolénico, del 0,18 al 0,24 % en peso de ácido estearidónico, del 0,4 al 0,46 % en peso de ácido eicosatetraenoico, y del 0,15 al 0,25 % en peso de ácido araquidónico.

30 Por lo general, en esta realización, el contenido de impurezas isoméricas es de hasta el 1,5 % en peso. Por lo general, el contenido de impurezas isoméricas es de hasta el 1 % en peso, preferentemente de hasta el 0,5 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,25 % en peso, incluso más preferentemente de hasta el 0,25 % en peso, y lo más preferentemente de hasta el 0,1 % en peso.

35 En una realización adicional se describe una composición que comprende un producto de AGPI, en la que el producto de AGPI es una mezcla de EPA y DHA, en la que (i) el contenido total de EPA y DHA es del 80 % en peso o superior, (ii) el contenido de EPA es del 41 al 60 % en peso y el contenido de DHA es del 16 al 48 % en peso, y (iii) el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -3 es del 94 % en peso o superior y/o el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -6 es de hasta el 4 % en peso.

El producto de AGPI, los AGPI  $\omega$ -3 y  $\omega$ -6 opcionalmente están en forma de sus alquilésteres, por lo general etil ésteres. Preferentemente, el producto de AGPI EPA/DHA está en forma de sus ésteres etílicos.

40 Así, en esta realización adicional la composición por lo general es una composición que comprende un producto de AGPI, en la que el producto de AGPI es una mezcla de EPA y DHA, en la que (i) el contenido total de EPA y DHA es del 80 % en peso o superior, (ii) el contenido de EPA es del 41 al 60 % en peso y el contenido de DHA es del 16 al 48 % en peso, y (iii) el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -3 es del 94 % en peso o superior.

45 De manera alternativa, en esta realización adicional la composición es una composición que comprende un producto de AGPI, en la que el producto de AGPI es una mezcla de EPA y DHA, en la que (i) el contenido total de EPA y DHA es del 80 % en peso o superior, (ii) el contenido de EPA es del 41 al 60 % en peso y el contenido de DHA es del 16 al 48 % en peso, y (iii) el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -6 es de hasta el 4 % en peso.

50 Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de EPA y DHA es del 82 % en peso o superior, preferentemente del 83 % en peso o superior, más preferentemente del 84 % en peso o superior, incluso más preferentemente del 85 % en peso o superior, y lo más preferentemente del 86 % en peso o superior.

55 Por lo general, en esta realización adicional el contenido de EPA es del 41 al 60 % en peso, preferentemente del 45 al 60 % en peso, más preferentemente del 47 al 60 % en peso, incluso más preferentemente del 47 al 57 % en peso, y lo más preferentemente del 50 al 55 % en peso.

60 Por lo general, en esta realización adicional el contenido de DHA es del 16 al 48 % en peso, preferentemente del 20 al 45 % en peso, más preferentemente del 25 al 42 % en peso, incluso más preferentemente del 28 al 38 % en peso, y lo más preferentemente del 30 al 35 % en peso.

65 Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -3 es del 94 % en peso o superior, preferentemente del 95 % en peso o superior, más preferentemente del 96 % en peso o superior, y lo más preferentemente del 97 % en peso o superior.

Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de ácido  $\alpha$ -linolénico es de hasta el 0,4 % en peso,

preferentemente de hasta el 0,35 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,31 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido  $\alpha$ -linolénico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido  $\alpha$ -linolénico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior, más preferentemente del 0,2 % en peso o superior, e incluso preferentemente del 0,2 al 0,4 % en peso.

5 Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de ácido estearidónico es de hasta el 1,9 % en peso, preferentemente de hasta el 1,5 % en peso, más preferentemente de hasta el 1,25 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido estearidónico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido estearidónico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.

10 Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de ácido eicosatetraenoico es de hasta el 2,0 % en peso, preferentemente de hasta el 1,9 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido eicosatetraenoico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido eicosatetraenoico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior, más preferentemente del 1,0 % en peso o superior, incluso más preferentemente del 1,0 % al 1,9 % en peso.

15 Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de ácido eicosapentaenoico es de hasta el 3,0 % en peso, preferentemente de hasta el 2,75 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido eicosapentaenoico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido eicosapentaenoico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior, más preferentemente del 2 % en peso o superior, e incluso más preferentemente del 2 al 2,75 % en peso.

20 Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de ácido docosapentaenoico es de hasta el 6 % en peso, preferentemente de hasta el 5,5 % en peso, más preferentemente de hasta el 5,25 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido docosapentaenoico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido de ácido docosapentaenoico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior, más preferentemente del 4 % en peso o superior, e incluso más preferentemente del 4 al 5,25 % en peso.

25 El contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -6 en esta realización adicional por lo general es de hasta el 4 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -6 de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -6 es de hasta el 3,75 % en peso, preferentemente de hasta el 3,5 % en peso, más preferentemente de hasta el 3,25 % en peso, incluso más preferentemente de hasta el 3 % en peso, lo más preferentemente de hasta el 2,85 % en peso. Por lo general, el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$ -6 es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.

30 Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de ácido linoleico es de hasta el 0,5 % en peso, preferentemente de hasta el 0,4 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,25 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido linoleico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido linoleico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior, más preferentemente del 0,15 % en peso o superior, e incluso más preferentemente del 0,15 al 0,25 % en peso.

35 Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de ácido gamma-linoleico es de hasta el 0,19 % en peso, preferentemente de hasta el 0,15 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,1 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido gamma-linoleico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido gamma-linoleico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.

40 Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de ácido dihomo-gamma-linoleico es de hasta el 0,1 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido dihomo-gamma-linoleico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido dihomo-gamma-linoleico es del 0,05 % en peso o superior.

45 Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de ácido araquidónico es de hasta el 2,5 % en peso, preferentemente de hasta el 2,25 % en peso, más preferentemente de hasta el 2,1 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido araquidónico de hasta estas cantidades. Por lo general, el contenido total de ácido araquidónico es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.

50 Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de ácido adrénico es de hasta el 0,1 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido adrénico de hasta esta cantidad. Por lo general, el contenido total de ácido adrénico es del 0,05 % en peso o superior.

55 Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de ácido docosapentaenoico ( $\omega$ -6) es de hasta el 0,9 % en peso, preferentemente de hasta el 0,75 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,65 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido docosapentaenoico ( $\omega$ -6) de hasta estas cantidades.

60 Por lo general, en esta realización adicional el contenido total de ácido docosapentaenoico ( $\omega$ -6) es de hasta el 0,9 % en peso, preferentemente de hasta el 0,75 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,65 % en peso. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de ácido docosapentaenoico ( $\omega$ -6) de hasta estas cantidades.

Por lo general, el contenido total de ácido docosapentaenoico ( $\omega$ -6) es del 0,05 % en peso o superior, preferentemente del 0,1 % en peso o superior.

5 En esta realización adicional, la composición preferentemente comprende del 50 al 55 % en peso de EPA, del 30 al 35 % en peso de DHA, hasta el 0,4 % en peso de ácido  $\alpha$ -linolénico, hasta el 1,25 % en peso de ácido estearidónico, hasta el 1,9 % en peso de ácido eicosatetraenoico, hasta el 2,75 % en peso de ácido eicosapentaenoico, hasta el 5,25 % en peso de ácido docosapentaenoico, hasta el 0,25 % en peso de ácido linoleico, hasta el 0,1 % en peso de ácido gamma-linolénico, hasta el 0,1 % en peso de ácido dihomo-gamma-linolénico, hasta el 2,1 % en peso de ácido araquidónico, hasta el 0,1 % en peso de ácido adrenico, y hasta el 0,75 % en peso de ácido docosapentaenoico ( $\omega$ -6).

15 En esta realización adicional, la composición más preferentemente comprende del 50 al 55 % en peso de EPA, del 30 al 35 % en peso de DHA, del 0,2 al 0,4 % en peso de ácido  $\alpha$ -linolénico, hasta el 1,25 % en peso de ácido estearidónico, del 1,0 al 1,9 % en peso de ácido eicosatetraenoico, del 2 al 2,75 % en peso de ácido eicosapentaenoico, del 4 al 5,25 % en peso de ácido docosapentaenoico, del 0,15 al 0,25 % en peso de ácido linoleico, hasta el 0,1 % en peso de ácido gamma-linolénico, hasta el 0,1 % en peso de ácido dihomo-gamma-linolénico, hasta el 2,1 % en peso de ácido araquidónico, hasta el 0,1 % en peso de ácido adrenico, y hasta el 0,75 % en peso de ácido docosapentaenoico ( $\omega$ -6).

20 Por lo general, en esta realización adicional, el contenido de impurezas isoméricas es de hasta el 1,5 % en peso. Por lo general, el contenido de impurezas isoméricas es de hasta el 1 % en peso, preferentemente de hasta el 0,5 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,25 % en peso, incluso más preferentemente de hasta el 0,25 % en peso, y lo más preferentemente de hasta el 0,1 % en peso.

25 Los inventores también han comprobado de forma sorprendente que se pueden producir aceites con una cantidad reducida de contaminantes medioambientales, en comparación con aceites conocidos. Así, en otra realización adicional se describe una composición que comprende un producto de AGPI, como se define en el presente documento, en la que (a) la cantidad total de hidrocarburos poliaromáticos en la composición es de hasta 0,89  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , (b) la cantidad total de dioxinas, furanos, benzo-para-dioxinas y dibenzofuranos policlorados es de hasta 0,35  $\text{pg}/\text{g}$ , (c) la cantidad total de bifenilos policlorados es de hasta 0,0035  $\text{mg}/\text{kg}$ , y/o (d) la cantidad total de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas, dibenzofuranos policlorados y bifenilos policlorados similares a las dioxinas es de hasta 1  $\text{pg}/\text{g}$ .

35 Por lo general, la composición en esta otra realización adicional es una composición que comprende un producto de AGPI, como se define en el presente documento, en la que (a) la cantidad total de hidrocarburos poliaromáticos en la composición es de hasta 0,89  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , (b) la cantidad total de dioxinas, furanos, benzo-para-dioxinas y dibenzofuranos policlorados es de hasta 0,35  $\text{pg}/\text{g}$ , y/o (d) la cantidad total de dioxinas, furanos, y bifenilos policlorados similares a las dioxinas es de hasta 1  $\text{pg}/\text{g}$ .

40 La cantidad total de hidrocarburos poliaromáticos en esta otra realización adicional en la composición es de hasta 0,89  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de hidrocarburos poliaromáticos de hasta esta cantidad. Por lo general, la cantidad total de hidrocarburos poliaromáticos en la composición es de hasta 0,85  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , preferentemente de hasta 0,8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , más preferentemente de hasta 0,7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , incluso más preferentemente de hasta 0,6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , aún más preferentemente de hasta 0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , todavía más preferentemente de hasta 0,4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , más preferentemente de hasta 0,3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , más preferentemente de hasta 0,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , más preferentemente de hasta 0,1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , y lo más preferentemente de hasta 0,05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

50 Los hidrocarburos poliaromáticos típicos son muy conocidos por el experto en la materia e incluyen acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, benzo[e]pireno, benzo[b]fluoranteno, benzo[ghi]perileno, benzo[j]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, criseno, dibenzo(ah)antraceno, fluoranteno, fluoreno, indeno(1,2,3-cd)pireno, fenantreno, pireno, coroneno, corannuleno, tetraceno, naftaleno, pentaceno, trifenileno, y ovaleno. Por lo general, las cantidades mencionadas anteriormente se refieren al contenido de benzo[a]pireno.

55 La cantidad total de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas y dibenzofuranos policlorados en esta otra realización adicional es de hasta 0,35  $\text{pg}/\text{g}$ . Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas y dibenzofuranos policlorados en hasta esta cantidad. Por lo general, la cantidad total de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas y dibenzofuranos policlorados es de hasta 0,325  $\text{pg}/\text{g}$ , preferentemente de hasta 0,3  $\text{pg}/\text{g}$ , más preferentemente de hasta 0,275  $\text{pg}/\text{g}$ , incluso más preferentemente de hasta 0,25  $\text{pg}/\text{g}$ , aún más preferentemente de hasta 0,225  $\text{pg}/\text{g}$ , todavía más preferentemente de hasta 0,2  $\text{pg}/\text{g}$ , y lo más preferentemente de hasta 0,185  $\text{pg}/\text{g}$ . Estas cantidades se expresan en equivalentes tóxicos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) usando factores de equivalencia tóxica (FET) de la OMS. Los factores de equivalencia tóxica de la OMS son muy conocidos por el experto en la materia.

65 Las dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas (PCDD) y dibenzofuranos policlorados (PCDF) son muy conocidos por el experto en la materia. Por lo general, estos son como se define en las normativas comunitarias (CE) n° 1881/2006 y 1883/2006.

Los PCDD, PCDF y PCB similares a las dioxinas definidos en las normativas comunitarias (CE) nº 1881/2006 y 1883/2006, junto con sus valores de FET son los siguientes.

Congénere	Valor de FET	Congénere	Valor de FET
<b>Dibenzo-p-dioxinas (PCDDs)</b>		<b>PCB similares a las dioxinas:</b>	
2,3,7,8-TCDD	1	<b>PCB No orto + PCB Mono orto</b>	
1,2,3,7,8-PeCDD	1	<b>PCB No orto</b>	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0001
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 126	0,1
OCDD	0,0001	PCB 169	0,01
<b>Dibenzofuranos (PCDFs)</b>		<b>PCB Mono orto</b>	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 114	0,0005
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5		
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 118	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,0001
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 156	0,0005
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01		
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01	PCB 167	0,00001
OCDF	0,0001	PCB 189	0,0001

Abreviaturas utilizadas: T = tetra; Pe = penta; 'Hx' = hexa; 'Hp' = hepta; 'O' = octa; 'CDD' = clorodibenzodioxina; 'CDF' = clorodibenzofurano; 'CB' = clorobifenilo.

- 5 Por lo general, la cantidad de PCDD, PCDF y PCB similares a las dioxinas se determina de acuerdo con el método establecido en la normativa comunitaria (CE) nº 1881/2006 y 1883/2006.
- 10 La cantidad total de bifenilos policlorados en esta otra realización adicional es de hasta 0,0035 mg/kg. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de bifenilos policlorados de hasta esta cantidad. Por lo general, la cantidad total de bifenilos policlorados es de hasta 0,003 mg/kg, preferentemente de hasta 0,0025 mg/kg, más preferentemente de hasta 0,002 mg/kg, incluso más preferentemente de hasta 0,0015 mg/kg, aún más preferentemente de hasta 0,001 mg/kg, todavía más preferentemente de hasta 0,00075 mg/kg, y lo más preferentemente de hasta 0,0007 mg/kg.
- 15 Los policlorobifenilos (PCB) son muy conocidos en la técnica e incluyen bifenilo, monoclorobifenilo, diclorobifenilo, triclorobifenilo, tetraclorobifenilo, pentaclorobifenilo, hexaclorobifenilo, heptaclorobifenilo, octaclorobifenilo, nonaclorobifenilo y decaclorobifenilo.
- 20 La cantidad total de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas, dibenzofuranos policlorados y bifenilos policlorados similares a las dioxinas en esta otra realización adicional es de hasta 1 pg/g. Así, por lo general, la composición comprende una cantidad de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas, dibenzofuranos policlorados y bifenilos policlorados similares a las dioxinas de hasta esa cantidad. Por lo general, la cantidad total de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas, dibenzofuranos policlorados y bifenilos policlorados similares a las dioxinas es de hasta 0,75 pg/g, preferentemente de hasta 0,5 pg/g, más preferentemente de hasta 0,45 pg/g, incluso más preferentemente de hasta 0,4 pg/g, aún más preferentemente de hasta 0,35 pg/g, y lo más preferentemente de hasta 0,3 pg/g.
- 25 0,75 pg/g, preferentemente de hasta 0,5 pg/g, más preferentemente de hasta 0,45 pg/g, incluso más preferentemente de hasta 0,4 pg/g, aún más preferentemente de hasta 0,35 pg/g, y lo más preferentemente de hasta 0,3 pg/g.
- 30 Las dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas (PCDD), dibenzofuranos policlorados (PCDF) y bifenilos policlorados similares a las dioxinas son muy conocidos por el experto en la materia. Por lo general, estos son como se define en la normativa comunitaria (CE) nº 1881/2006 y 1883/2006.
- Los PCDD, PCDF y PCB similares a las dioxinas definidos en la normativa comunitaria (CE) nº 1881/2006 y 1883/2006, junto con sus valores de FET se definen como antes.
- 35 En esta otra realización adicional, preferentemente (a) la cantidad total de hidrocarburos poliaromáticos en la composición es de hasta 0,05 µg/kg, (b), la cantidad total de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas y dibenzofuranos policlorados es de hasta 0,2 pg/g, (c) la cantidad total de los bifenilos policlorados es de hasta 0,0015 mg/kg, y/o (d) la cantidad total de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas y dibenzofuranos policlorados y bifenilos policlorados similares a las dioxinas es de hasta 0,3 pg/g.
- 40

En esta otra realización adicional, preferentemente (a) la cantidad total de hidrocarburos poliaromáticos en la composición es de hasta 0,05 µg/kg, (b), la cantidad total de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas y dibenzofuranos policlorados es de hasta 0,2 pg/g, y/o (d) la cantidad total de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas y dibenzofuranos policlorados y bifenilos policlorados similares a las dioxinas es de hasta 0,3 pg/g.

5 En esta otra realización adicional, más preferentemente (a) la cantidad total de hidrocarburos poliaromáticos en la composición es de hasta 0,05 µg/kg, (b), la cantidad total de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas y dibenzofuranos policlorados es de hasta 0,2 pg/g, (c) la cantidad total de los bifenilos policlorados es de hasta 0,0015 mg/kg, y (d) la cantidad total de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas y dibenzofuranos policlorados y bifenilos policlorados similares a las dioxinas es de hasta 0,3 pg/g.

10 En esta otra realización adicional, más preferentemente (a) la cantidad total de hidrocarburos poliaromáticos en la composición es de hasta 0,05 µg/kg, (b), la cantidad total de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas y dibenzofuranos policlorados es de hasta 0,2 pg/g, y (d) la cantidad total de dioxinas, furanos, dibenzo-para-dioxinas y dibenzofuranos policlorados y bifenilos policlorados similares a las dioxinas es de hasta 0,3 pg/g.

15 Por lo general, en esta otra realización adicional, el contenido de impurezas isoméricas es de hasta el 1,5 % en peso. Por lo general, el contenido de impurezas isoméricas es de hasta el 1 % en peso, preferentemente de hasta el 0,5 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,25 % en peso, incluso más preferentemente de hasta el 0,25 % en peso, y lo más preferentemente de hasta el 0,1 % en peso.

20 Los inventores también han comprobado que se pueden producir aceites de alta pureza que evitan los problemas de isomerización, peroxidación y oligomerización asociados a los aceites destilados. La cantidad de impurezas isoméricas presentes en un producto de AGPI producido de acuerdo con la presente invención dependerá de la cantidad de impurezas isoméricas presentes en la mezcla de alimentación. Sin embargo es crucial que la cantidad de impurezas isoméricas no se vea incrementada por el proceso de la presente invención, a diferencia de la destilación. Así, el límite del contenido de isómeros en el producto de AGPI es el contenido isomérico del material de partida. Si el material de partida no tiene isómeros presentes, entonces el producto de AGPI resultante también estará sustancialmente libre de isómeros. Esta ventaja no se observa en la destilación.

25 Así, en una realización, el proceso de separación cromatográfico de la presente invención no incrementa sustancialmente la cantidad de impurezas isoméricas en el producto de AGPI con respecto a la cantidad de impurezas isoméricas presentes en la mezcla de alimentación. "Incrementar sustancialmente" por lo general se entiende que significa que incrementa en un 10 % en peso o inferior, preferentemente un 5 % en peso o inferior, más preferentemente un 3 % en peso o inferior, incluso más preferentemente un 1 % en peso o inferior, aún más preferentemente un 0,5 % en peso o inferior, y lo más preferentemente un 0,1 % en peso o inferior.

30 Así, en otra realización más, también se describe una composición que comprende un producto de AGPI, en la que el contenido de impurezas isoméricas es de hasta el 1,5 % en peso. Por lo general, la composición contiene una cantidad de impurezas isoméricas de hasta esta cantidad. Por lo general, el contenido de impurezas isoméricas es de hasta el 1 % en peso, preferentemente de hasta el 0,5 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,25 % en peso, y lo más preferentemente de hasta el 0,1 % en peso. La isomerización es particularmente problemática en la preparación de DHA de alta pureza por destilación, debido a las mayores temperaturas necesarias para la separación. Por lo general, el producto de AGPI es DHA, opcionalmente en forma de su éster etílico. Por lo general, la composición comprende más del 85 % en peso del producto de AGPI, preferentemente más del 90 % en peso, más preferentemente más del 92,5 % en peso, lo más preferentemente más del 95 % en peso. Preferentemente, la composición comprende más del 85 % en peso de DHA, opcionalmente en forma de su éster etílico, preferentemente más del 90 % en peso, más preferentemente más del 92,5 % en peso, lo más preferentemente más del 95 % en peso. En esta realización, la composición por lo general comprende DHA como producto de AGPI, opcionalmente en forma de su éster etílico, en una cantidad superior al 95 % en peso, en la que el contenido de impurezas isoméricas es de hasta el 1 % en peso, preferentemente de hasta el 0,5 % en peso, más preferentemente de hasta el 0,25 % en peso, y lo más preferentemente de hasta el 0,1 % en peso.

35 El proceso mejorado de la invención permite que se consigan eficazmente purezas del producto de AGPI muy superiores, puesto que tanto las impurezas más polares como menos polares se pueden eliminar en un único proceso.

40 El producto de AGPI descrito en el presente documento por lo general tiene una pureza superior al 80 % en peso, preferentemente superior al 85 % en peso, más preferentemente superior al 90 % en peso, incluso más preferentemente superior al 95 % en peso, aún más preferentemente superior al 97 % en peso, y lo más preferentemente superior al 99 % en peso. Cuando el producto de AGPI es un solo AGPI o uno de sus derivados, las concentraciones anteriores se refieren a la concentración de ese AGPI o sus derivados. Cuando el producto de AGPI es una mezcla de dos o más AGPI o de sus derivados, por ejemplo dos, las concentraciones anteriores se refieren a la concentración combinada de los AGPI, o sus derivados.

45 El método de la presente invención también evita los problemas de isomerización, peroxidación y oligomerización

asociados a los aceites destilados. El producto de AGPI descrito de la presente invención por lo general tiene un contenido de impurezas isoméricas inferior al 5 % en peso, preferentemente inferior al 3 % en peso, y más preferentemente inferior al 1 % en peso. Como se ha mencionado anteriormente, las impurezas isoméricas incluyen los productos isómeros, de peroxidación y oligomerización de AGPI. Los isómeros de AGPI incluyen isómeros posicionales y/o geométricos. Los ejemplos de isómeros posicionales y/o geométricos de EPA incluyen 17E-EPA, 5E-EPA, 5E,8EEPA, 8E,11E-EPA, 5E,14E-EPA, y 5E,8E,11E,17E-EPA. Dichos isómeros se describen con mayor detalle en Wijesundera, R.C., y col., Journal of the American Oil Chemists Society, 1989, vol. 66, no. 12, 1822-1830.

En la práctica, el proceso de la presente invención generalmente estará controlado por ordenador. Por tanto la presente invención también proporciona un programa de ordenador para controlar un aparato cromatográfico como se define en el presente documento, el programa de ordenador que contiene medios de codificación que cuando ejecutan las instrucciones el aparato lleva a cabo el proceso de la invención.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

### Ejemplos

#### Ejemplo 1

Una fuente de alimentación derivada de aceite de pescado (55 % en peso de EE del EPA, 5 % en peso de EE del DHA) se fraccionó usando un sistema de cromatografía de lecho móvil real utilizando gel de sílice unido a C18 (tamaño de partícula 300 µm) como fase estacionaria y metanol acuoso como eluyente según el sistema ilustrado esquemáticamente en la Figura 8. 15 columnas (diámetro: 76,29 mm, longitud: 914,40 mm) están conectadas en serie como se muestra en la Figura 8.

Los parámetros de trabajo y los caudales son como sigue para ocho casos diferentes. Para las condiciones siguientes, se produjo EE del EPA con un alto nivel de pureza (85 a 98 % mediante GC FAMES). En las Figuras 11 y 12 se muestran las huellas de la GC FAMES en el extracto y refinado de la zona 1, y en el extracto y refinado de la zona 2, respectivamente.

#### Ejemplo 1a

Tiempo de paso: 750 segundos  
 Duración del ciclo: 200 minutos  
 Caudal de alimentación de la materia prima (F): 70 ml/min  
 Caudal de alimentación del desorbente (D): 850 ml/min  
 Caudal del extracto: 425 ml/min  
 Caudal del refinado: 495 ml/min

#### Ejemplo 1b

Tiempo de paso: 250 segundos  
 Duración del ciclo: 66,67 minutos  
 Caudal de alimentación de la materia prima (F): 210 ml/min  
 Caudal de alimentación del desorbente (D): 2550ml/min  
 Caudal del extracto: 1275 ml/min  
 Caudal del refinado: 1485 ml/min

#### Ejemplo 1c

Tiempo de paso: 500 segundos  
 Duración del ciclo: 133,33 minutos  
 Caudal de alimentación de la materia prima (F): 25 ml/min  
 Caudal de alimentación del desorbente (D1) en la primera zona: 2050 ml/min  
 Caudal de acumulación del extracto en el contenedor (E1) en la primera zona: 1125 ml/min  
 Caudal de recirculación del extracto (D1-E1) en la primera zona: 925 ml/min  
 Caudal del refinado (R1) en la primera zona: 950 ml/min  
 Caudal de alimentación del desorbente (D2) en la segunda zona: 1700 ml/min  
 Caudal de acumulación del extracto en el contenedor (E2) en la segunda zona: 900 ml/min  
 Caudal de recirculación del extracto (D2-E2) en la segunda zona: 800 ml/min  
 Caudal del refinado (R2) en la segunda zona: 800 ml/min

#### Ejemplo 1d

Tiempo de paso: 250 segundos  
 Duración del ciclo: 66,67 minutos

## ES 2 459 951 T3

Caudal de alimentación de la materia prima (F): 50 ml/min  
Caudal de alimentación del desorbente (D1) en la primera zona: 4125 ml/min  
Caudal de acumulación del extracto en el contenedor (E1) en la primera zona: 2250 ml/min  
Caudal de recirculación del extracto (D1-E1) en la primera zona: 1875 ml/min  
5 Caudal del refinado (R1) en la primera zona: 1925 ml/min  
Caudal de alimentación del desorbente (D2) en la segunda zona: 3375 ml/min  
Caudal de acumulación del extracto en el contenedor (E2) en la segunda zona: 1800 ml/min  
Caudal de recirculación del extracto (D2-E2) en la segunda zona: 1575 ml/min  
10 Caudal del refinado (R2) en la segunda zona: 1575 ml/min

### Ejemplo 1e

Tiempo de paso: 500 segundos  
Duración del ciclo: 133,33 minutos  
15 Caudal de alimentación de la materia prima (F): 50 ml/min  
Caudal de alimentación del desorbente (D1) en la primera zona: 4000 ml/min  
Caudal de acumulación del extracto en el contenedor (E1) en la primera zona: 2250 ml/min  
Caudal de recirculación del extracto (D1-E1) en la primera zona: 1750 ml/min  
20 Caudal del refinado (R1) en la primera zona: 1800 ml/min  
Caudal de alimentación del desorbente (D2) en la segunda zona: 3200 ml/min  
Caudal neto de acumulación del extracto (E2) en la segunda zona: 1750 ml/min  
Caudal de recirculación del extracto (D2-E2) en la segunda zona: 1450 ml/min  
Caudal del refinado (R2) en la segunda zona: 1450 ml/min

### 25 Ejemplo 1f

Tiempo de paso: 250 segundos  
Duración del ciclo: 66,67 minutos  
30 Caudal de alimentación de la materia prima (F): 100 ml/min  
Caudal de alimentación del desorbente (D1) en la primera zona: 4050 ml/min  
Caudal de acumulación del extracto en el contenedor (E1) en la primera zona: 2100 ml/min  
Caudal de recirculación del extracto (D1-E1) en la primera zona: 1950 ml/min  
Caudal del refinado (R1) en la primera zona: 2050 ml/min  
35 Caudal de alimentación del desorbente (D2) en la segunda zona: 3300 ml/min  
Caudal neto de acumulación del extracto (E2) en la segunda zona: 1700 ml/min  
Caudal de recirculación del extracto (D2-E2) en la segunda zona: 1600 ml/min  
Caudal del refinado (R2) en la segunda zona: 1600 ml/min

### 40 Ejemplo 1g

Tiempo de paso: 500 segundos  
Duración del ciclo: 133,33 minutos  
45 Caudal de alimentación de la materia prima (F): 25 ml/min  
Caudal de alimentación del desorbente (D1) en la primera zona: 1275 ml/min  
Caudal de acumulación del extracto en el contenedor (E1) en la primera zona: 750 ml/min  
Caudal de recirculación del extracto (D1-E1) en la primera zona: 550 ml/min  
Caudal del refinado (R1) en la primera zona: 575 ml/min  
Caudal de alimentación del desorbente (D2) en la segunda zona: 1275 ml/min  
Caudal neto de acumulación del extracto (E2) en la segunda zona: 950 ml/min  
50 Caudal de recirculación del extracto (D2-E2) en la segunda zona: 325 ml/min  
Caudal del refinado (R2) en la segunda zona: 325 ml/min

### Ejemplo 1h

55 Tiempo de paso: 250 segundos  
Duración del ciclo: 66,67 minutos  
Caudal de alimentación de la materia prima (F): 50 ml/min  
Caudal de alimentación del desorbente (D1) en la primera zona: 2550 ml/min  
Caudal de acumulación del extracto en el contenedor (E1) en la primera zona: 1500 ml/min  
60 Caudal de recirculación del extracto (D1-E1) en la primera zona: 950 ml/min  
Caudal del refinado (R1) en la primera zona: 1000 ml/min  
Caudal de alimentación del desorbente (D2) en la segunda zona: 2000 ml/min  
Caudal neto de acumulación del extracto (E2) en la segunda zona: 900 ml/min  
Caudal de recirculación del extracto (D2-E2) en la segunda zona: 600 ml/min  
65 Caudal del refinado (R2) en la segunda zona: 600 ml/min

Ejemplo 2

Una fuente de alimentación derivada de aceite de pescado que comprende éster etílico del ácido eicosatetraenoico (EE del ETA), EE del EPA, sus isómeros y EE del DHA se fraccionó usando un sistema de cromatografía de lecho móvil real utilizando gel de sílice unido a C18 (tamaño de partícula 40-60 µm) como fase estacionaria y metanol acuoso como eluyente según el sistema ilustrado esquemáticamente en la Figura 10. 19 columnas (diámetro: 10 mm, longitud: 250 mm) están conectadas en serie como se muestra en la Figura 10. Los parámetros de trabajo y los caudales son los siguientes.

- 10 Duración del ciclo: 600 segundos
- Caudal de alimentación de la materia prima (F): 0,5 ml/min
- Caudal de alimentación del desorbente (D1, 100 % de metanol) hacia la primera zona: 6 ml/min
- Caudal de alimentación del desorbente (D2, 99 % de metanol/1 % de agua) hacia la primera zona: 6 ml/min
- 15 Caudal del extracto (E1') procedente de la primera zona: 3 ml/min
- Caudal del extracto (E1) procedente de la primera zona: 1,9 ml/min
- Caudal del refinado (R1) procedente de la primera zona: 4,6 ml/min
- Caudal de alimentación del desorbente (D2, 97 % de metanol/3 % de agua) hacia la segunda zona: 6 ml/min
- Caudal del extracto (E2) procedente de la segunda zona: 2,4 ml/min
- 20 Caudal del refinado (R2) procedente de la segunda zona: 4,6 ml/min

De nuevo, se produjo EE del EPA con un alto nivel de pureza (superior al 90 % en peso, superior al 95 % en peso, superior al 98 % en peso).

Ejemplo 3

- 25 Una fuente de alimentación derivada de aceite de pescado (55 % en peso de EE del EPA, 5 % en peso de EE del DHA) se fraccionó usando un sistema de cromatografía de lecho móvil real utilizando gel de sílice unido a C18 (tamaño de partícula 300 µm, porosidad de partícula 150 Å) como fase estacionaria y metanol acuoso como eluyente según el sistema ilustrado esquemáticamente en la Figura 8. 15 columnas (diámetro: 10 mm, longitud: 250 mm) están conectadas en serie como se muestra en la Figura 8.

Los parámetros de trabajo y los caudales son los siguientes.

- 35 Duración del ciclo: 380 segundos
- Caudal de alimentación de la materia prima (F): 0,5 ml/min
- Caudal de alimentación del desorbente (D, 98,5 % de metanol/1,5 % de agua) hacia la primera zona: 9 ml/min
- Caudal de alimentación de la fase rica en agua (W, 85 % de metanol/15 % de agua) hacia la primera zona: 3,1 ml/min
- 40 Caudal del extracto (E1) procedente de la primera zona: 4 ml/min
- Caudal del refinado (R1) procedente de la primera zona: 8,6 ml/min
- Caudal de alimentación del desorbente (D, 97 % de metanol/3 % de agua) hacia la segunda zona: 10,8 ml/min
- Caudal de alimentación de la fase rica en agua (W, 85 % de metanol/15 % de agua) hacia la segunda zona: 3,1 ml/min
- 45 Caudal del extracto (E2) procedente de la segunda zona: 4,1 ml/min
- Caudal del refinado (R1) procedente de la segunda zona: 10,3 ml/min

Se produjo EE del EPA con un alto nivel de pureza (pureza superior al 95 % en peso). En la Figura 13 se muestran las huellas de GC del producto.

50 Ejemplo 4

- 55 Una fuente de alimentación derivada de aceite de pescado (70 % en peso de EE del DHA, 7 % en peso de EE del EPA) se fraccionó usando un sistema de cromatografía de lecho móvil real utilizando gel de sílice unido a C18 (tamaño de partícula 300 µm) como fase estacionaria y metanol acuoso como eluyente según el sistema ilustrado esquemáticamente en la Figura 8. 15 columnas (diámetro: 76,29 mm, longitud: 914,40 mm) están conectadas en serie como se muestra en la Figura 8.

Los parámetros de trabajo y los caudales son los siguientes.

- 60 Tiempo de paso: 600 segundos
- Duración del ciclo: 160 minutos
- Caudal de alimentación de la materia prima (F): 25 ml/min
- Caudal de alimentación del desorbente (D1) en la primera zona: 2062,5 ml/min
- Caudal del extracto (E1) en la primera zona: 900 ml/min
- 65 Caudal del refinado (R1) en la primera zona: 1187,5 ml/min
- Caudal de alimentación del desorbente (D2) en la segunda zona: 1500 ml/min

Caudal del extracto (E2) en la segunda zona: 450 ml/min  
 Caudal del refinado (R2) en la segunda zona: 1050 ml/min

5 El EE del DHA se produce con un alto nivel de pureza (superior a 97 % mediante GC FAMES). En la Figura 14 se muestran las huellas de GC FAMES del extracto de la zona 2.

Ejemplo 5

10 Una fuente de alimentación derivada de aceite de pescado (33 % en peso de EE del EPA, 22 % en peso de EE del DHA) se fraccionó usando un sistema de cromatografía de lecho móvil real utilizando gel de sílice unido a C18 (tamaño de partícula 300 µm) como fase estacionaria y metanol acuoso como eluyente según el sistema ilustrado esquemáticamente en la Figura 8. 15 columnas (diámetro: 76,29 mm, longitud: 914,40 mm) están conectadas en serie como se muestra en la Figura 8.

15 Los parámetros de trabajo y los caudales son los siguientes.

Tiempo de paso: 380 segundos  
 Duración del ciclo: 101,33 minutos  
 Caudal de alimentación de la materia prima (F): 40 ml/min  
 20 Caudal de alimentación del desorbente (D1) en la primera zona: 1950 ml/min  
 Caudal del extracto (E1) en la primera zona: 825 ml/min  
 Caudal del refinado (R1) en la primera zona: 1165 ml/min  
 Caudal de alimentación del desorbente (D2) en la segunda zona: 1425 ml/min  
 Caudal del extracto (E2) en la segunda zona: 787,5 ml/min  
 25 Caudal del refinado (R2) en la segunda zona: 637,5 ml/min

Se produjo una mezcla de EE del EPA y EE del DHA con un alto nivel de pureza (superior al 80 % total de EE del EPA y EE del DHA).

30 Ejemplo 6

Se llevó a cabo un experimento para comparar la cantidad de contaminantes medioambientales presentes en los productos de AGPI de acuerdo con la presente invención con aceites similares preparados por destilación. Los perfiles contaminantes de los aceites se muestran en la Tabla 1 siguiente.

35

Tabla 1

Parámetro	Especificación de liberación	Aceite destilado [1]	Aceite destilado [2]	Producto de AGPI de acuerdo con la invención [1]	Producto de AGPI de acuerdo con la invención [2]
Hidrocarburos poliaromáticos (PAH) (µg/kg)	NMT 2.0	0,90	0,90	<0,05	<0,05
Benzo(a)pireno					
Impurezas	NMT 2.0	0,46	0,37	0,2	0,184
Dioxinas y Furanos PCDDs y PCDFs <sup>1</sup> (pg WHO-PCDD/F-TEQ/g)	NMT 0.09	0,0037	0,0103	0,0007	0,0012
PCBs (mg/kg)	NMT 10.0	1,03	0,466	0,30	0,298
Suma de Dioxinas y Furanos y PCBs similares a Dioxinas <sup>2</sup> (pg WHO- PCDD/F-PCB-TEQ/g)					

1) Los límites de dioxina incluyen la suma de dibenzeno-para-dioxinas policloradas (PCDD) y dibenzofuranos policlorados (PCDF) y se expresan en equivalentes tóxicos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) usando factores de equivalencia tóxica (FET) de la OMS. Esto significa que los resultados analíticos relativos a 17 congéneres de dioxinas individuales de importancia toxicológica se expresan en una unidad cuantificable única: concentración de equivalentes tóxicos TCDD o TEQ

2) El máximo para dioxinas y furanos se mantiene en 2 pg/g

**Ejemplo 7**

5 Se llevó a cabo un experimento para determinar la cantidad de impurezas isoméricas presentes en un aceite preparado de acuerdo con la presente invención en comparación con un aceite equivalente preparado por destilación.

En la Figura 14 se muestran las huellas de GC del aceite rico en DHA preparado de acuerdo con la invención. No hay evidencias de impurezas isoméricas en las huellas de GC.

10 En la Figura 15 se muestran las huellas de GC del aceite preparado por destilación. Los cuatro picos con tiempos de elución más prolongados que el pico de DHA corresponde a los isómeros de DHA. A partir de las huellas de GC se puede observar que el aceite preparado por destilación contiene el 1,5 % en peso aproximadamente de impurezas isoméricas.

15 **Ejemplo 8**

Los dos productos ricos en EPA del proceso de la presente invención se compararon con los aceites ricos en EPA producidos por destilación. El análisis del porcentaje del peso de sus AGPI componentes se muestra a continuación.

Acido graso	Producto de AGPI de acuerdo con la invención [1]	Producto de AGPI de acuerdo con la invención [2]	Aceite destilado [1]	Aceite destilado [2]
EPA (C20:5n-3)	98,33	97,04	98,09	98,14
DHA (C22:6n-3)	0,15	< LdD	0,34	< LdD
C18:3 n-3	< LdD	0,28	0,24	< LdD
C18:4 n-3	0,33	0,20	0,14	0,26
C20:4 n-3	0,14	0,45	0,18	0,46
C21:5 n-3	< LdD	< LdD	< LdD	< LdD
C22:5 n-3	0,32	< LdD	< LdD	< LdD
Total Omega-3	99,27	97,97	98,94	98,86
C18:3n-6	< LdD	< LdD	0,05	< LdD
C20:3 n-6	< LdD	< LdD	0,13	0,11
C20:4 n-6	< LdD	0,21	0,26	0,37
Total Omega-6	< LdD	0,21	0,44	0,48

20 **Ejemplo 9**

25 Un producto rico en EPA/DHA del proceso de la presente invención se comparó con un aceite rico en EPA/DHA producido por destilación. El análisis del porcentaje del peso de sus AGPI componentes se muestra a continuación.

Ácido graso	Éster de etilo Maxomega (90 ésteres de etilo Omega-3)	Éster de etilo destilado (90 ésteres de etilo <sup>1</sup> Omega-3)
	Área en %	Área en %
EPA (C20:5n-3)	53,3	46,6
DHA (C22:6n-3)	32,9	38,2
TOTAL EPA + DHA	86,2	84,8
C18:3 n-3	0,3	0,1
C18:4 n-3	1,2	2,0
C20:4 n-3	1,8	0,6
C21:5 n-3	2,7	1,8
C22:5 n-3	5,0	3,8
Total Omega-3	97,2	93,1
C18:2 n-6	0,2	0,1
C18:3n-6	<0,1	0,2
C20:3 n-6	<0,1	0,1
C20:4 n-6	2,0	2,6
C22:4 n-6	<0,1	0,1
C22:5 n-6	0,6	1,0
Total Omega-6	2,8	4,1

## REIVINDICACIONES

1. Un proceso de separación cromatográfica para la recuperación de un producto de ácido graso poliinsaturado (AGPI), a partir de una mezcla de alimentación, proceso que comprende la introducción de la mezcla de alimentación a un aparato de cromatografía de lecho móvil simulado o real que tiene una pluralidad de columnas cromatográficas unidas que contienen, como eluyente, un alcohol acuoso, en el que el aparato tiene una pluralidad de zonas que comprenden al menos una primera zona y una segunda zona, cada zona que tiene una corriente de extracto y una corriente de refinado de las cuales se puede recoger el líquido procedente de dicha pluralidad de columnas cromatográficas unidas, y en el que (a) una corriente de refinado que contiene el producto de AGPI junto con los componentes más polares se recoge de una columna en la primera zona y se introduce en una columna no adyacente en la segunda zona, y/o (b) una corriente de extracto que contiene el producto de AGPI junto con los componentes menos polares se recoge de una columna en la segunda zona y se introduce en una columna no adyacente en la primera zona, dicho producto de AGPI que se separa de los diferentes componentes de la mezcla de alimentación en cada zona.
2. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que parte de una o más de la corriente de extracto procedente de la primera zona, la corriente de refinado procedente de la primera zona, la corriente de extracto procedente de la segunda zona, y la corriente de refinado procedente de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la misma zona, por lo general en una columna adyacente en la misma zona.
3. Un proceso de separación cromatográfico de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que (a) el eluyente alcohol acuoso presente en cada zona tiene una relación de agua:alcohol diferente; y/o
- (b) el caudal al que el líquido recogido mediante las corrientes de extracto y de refinado en cada zona que se vuelve a recircular hacia la misma zona se ajusta de modo que el producto de AGPI se puede separar de los diferentes componentes de la mezcla de alimentación en cada zona.
4. Un proceso de separación cromatográfica de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el caudal al que el líquido recogido mediante la corriente de extracto fuera de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona difiere del caudal al que el líquido recogido mediante la corriente de extracto fuera de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona, y/o el caudal al que el líquido recogido mediante la corriente de refinado de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera zona difiere del caudal al que el líquido recogido mediante la corriente de refinado de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona.
5. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el aparato tiene una primera zona y una segunda zona, dicho producto de AGPI que se separa de los componentes menos polares de la mezcla de alimentación en la primera zona, y dicho producto de AGPI que se separa de los componentes más polares de la mezcla de alimentación en la segunda zona.
6. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el producto de AGPI comprende al menos un AGPI  $\omega$ -3, y en el que el producto de AGPI preferentemente comprende ácido eicosapentaenoico (EPA) y/o ácido docosahexaenoico (DHA).
7. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que además de dicho producto de AGPI, se recupera un producto de AGPI secundario adicional en el proceso de separación cromatográfica, y en el que el producto de AGPI es preferentemente EPA y el producto de AGPI secundario adicional es preferentemente DHA.
8. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las columnas de cromatografía contienen, como adsorbente, perlas sustancialmente esféricas, en el que las perlas está formadas preferentemente de gel de sílice unido a C18; y/o en el que las perlas sustancialmente esféricas preferentemente tienen un diámetro de 250 a 500  $\mu\text{m}$ .
9. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el eluyente es una mezcla de agua y un alcohol C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, en el que el alcohol C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> es preferentemente metanol o etanol.
10. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el eluyente en la primera zona contiene más alcohol que el eluyente en la segunda zona, y en el que la segunda zona está aguas abajo de la primera zona, con respecto al flujo de eluyente en el sistema; y/o en el que la relación agua:alcohol del eluyente en la primera zona es de 0,5:99,5 a 1,5:98,5 partes en volumen, y la relación agua:alcohol del eluyente en la segunda zona es de 4,5:95,5 a 5,5:94,5 partes en volumen; y/o en el que la relación agua:alcohol del eluyente en las primera y segunda zonas se controla mediante la introducción de agua y/o alcohol en una o más columnas en las primera y segunda zonas.
11. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10 en el que el caudal al que el líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la primera zona se vuelve a recircular hacia la primera

zona es más rápido que el caudal al que el líquido recogido mediante la corriente de extracto procedente de la segunda zona se vuelve a recircular hacia la segunda zona.

12. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11, que comprende:

- 5 (i) la introducción de la mezcla de alimentación en la primera zona, y la eliminación de una primera corriente de refinado enriquecida con el producto de AGPI y una primera corriente de extracto empobrecida del producto de AGPI, y
- 10 (ii) la introducción de la primera corriente de refinado en la segunda zona, la eliminación de una segunda corriente de refinado empobrecida del producto de AGPI, y la recolección de una segunda corriente de extracto para obtener el producto de AGPI.

13. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11, que comprende:

- 15 (i) la introducción de la mezcla de alimentación en la segunda zona, y la eliminación de una primera corriente de refinado empobrecida del producto de AGPI y una primera corriente de extracto enriquecida en el producto de AGPI, y
- 20 (ii) la introducción de la primera corriente de extracto en la primera zona, la eliminación de una segunda corriente de extracto empobrecida del producto de AGPI y la recolección de una segunda corriente de refinado para obtener el producto de AGPI.

14. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el aparato tiene una primera zona, una segunda zona y una tercera zona y en el que (a) el eluyente en la primera zona contiene más alcohol que el eluyente en la segunda y tercera zona y la primera zona está aguas arriba de la segunda y tercera zona con respecto al flujo de eluyente en el sistema y (b) el eluyente en la segunda zona contiene más alcohol que el eluyente en la tercera zona y la segunda zona está aguas arriba de la tercera zona con respecto al flujo de eluyente en el sistema,

- 25 dicho producto de AGPI que se separa en la primera zona de los componentes de la mezcla de alimentación que son menos polares que el producto de AGPI, dicho producto de AGPI que se separa en la segunda zona de los componentes de la mezcla de alimentación que son menos polares que el producto de AGPI pero más polares que
- 30 los componentes separados en la primera zona, y dicho producto de AGPI que se separa en la tercera zona de los componentes de la mezcla de alimentación que son más polares que el producto de AGPI.

15. Un programa de ordenador para controlar un aparato de cromatografía como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, programa de ordenador que contiene medios de codificación que, cuando se ejecutan, dan instrucciones al aparato para llevar a cabo un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14.

- 35

Figura 1

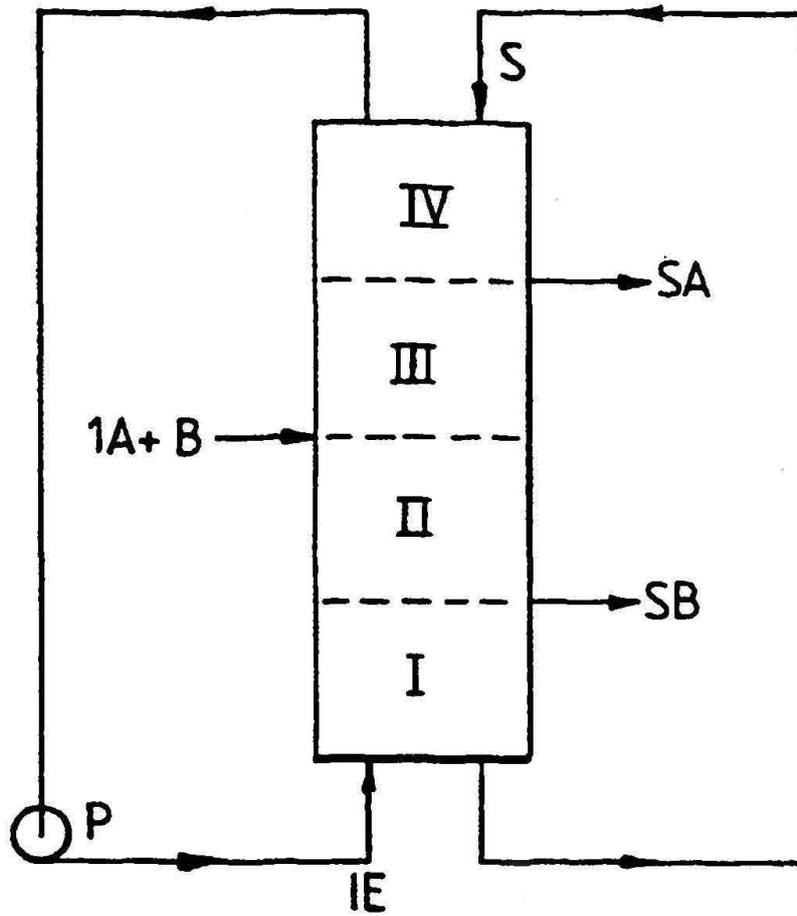
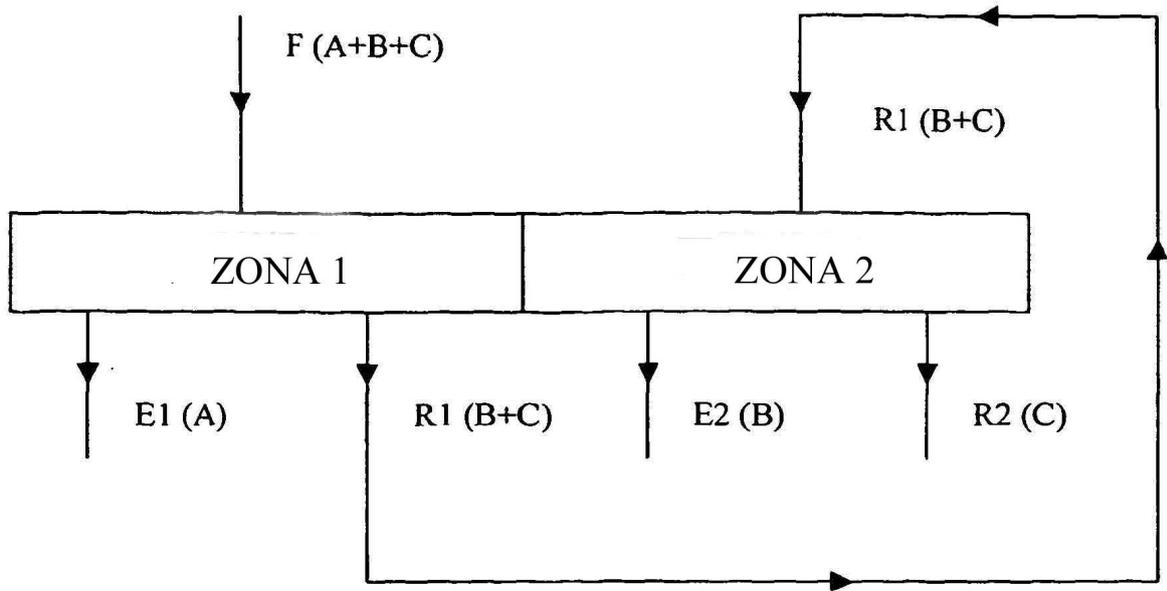


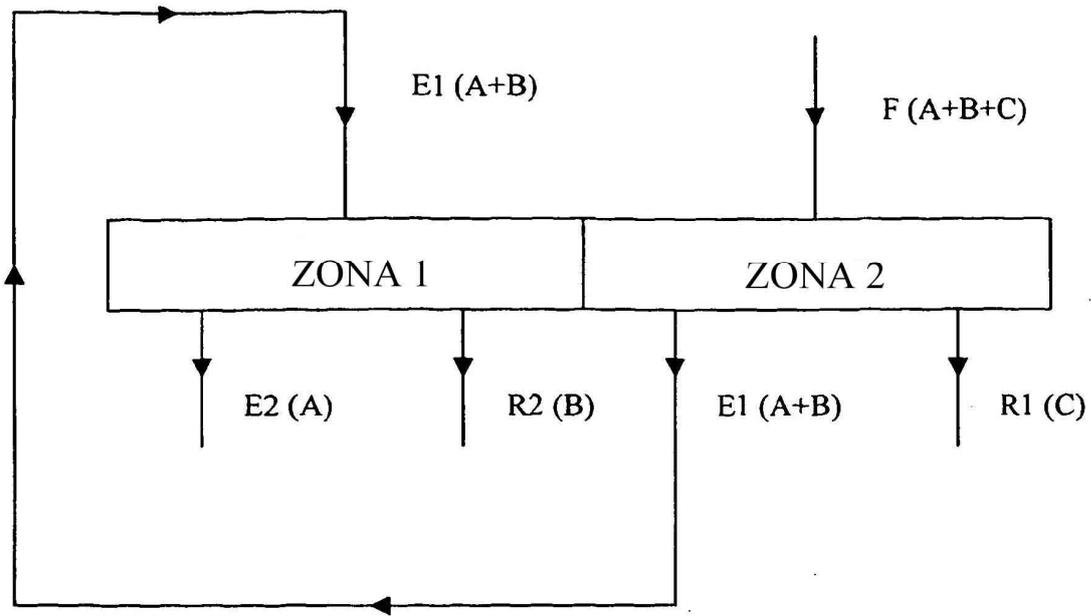
Figura 2



FLUJO DE ELUYENTE

FLUJO DE ADSORBENTE

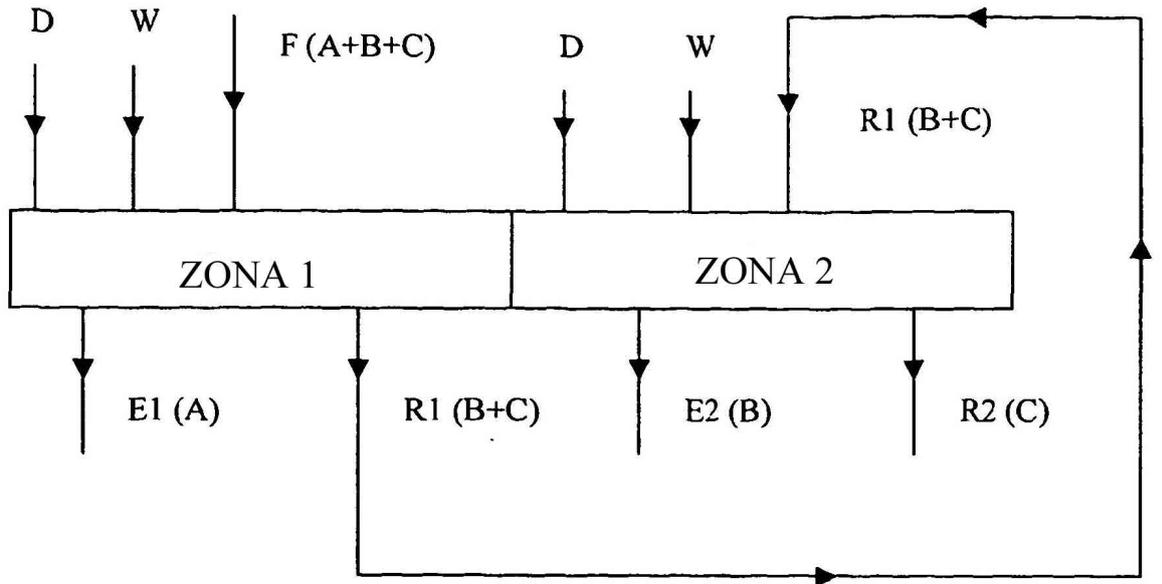
Figura 3



—————→ FLUJO DE ELUYENTE

←———— FLUJO DE ADSORBENTE

Figura 4



→ FLUJO DE ELUYENTE

← FLUJO DE ADSORBENTE

Figura 5

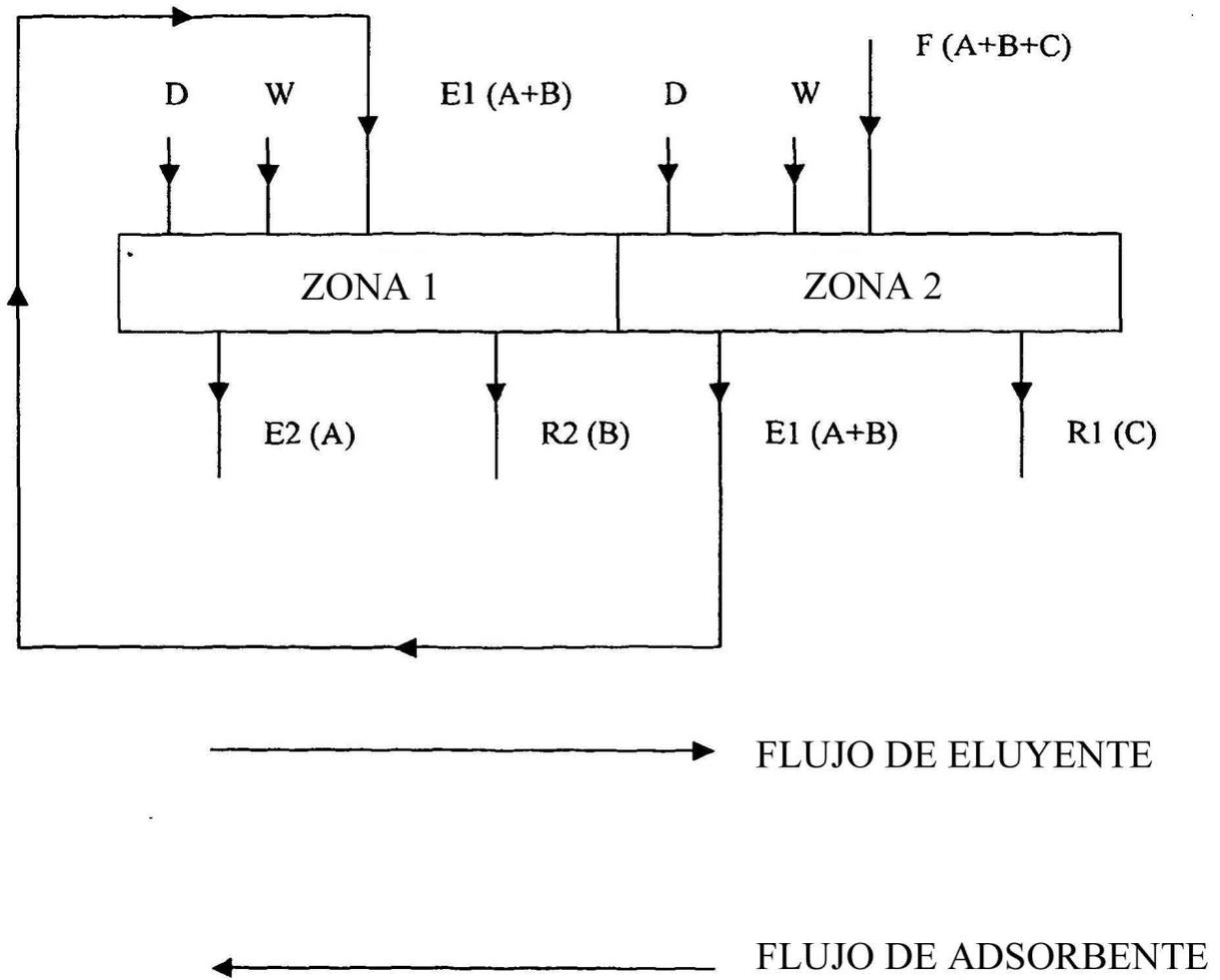


Figura 6

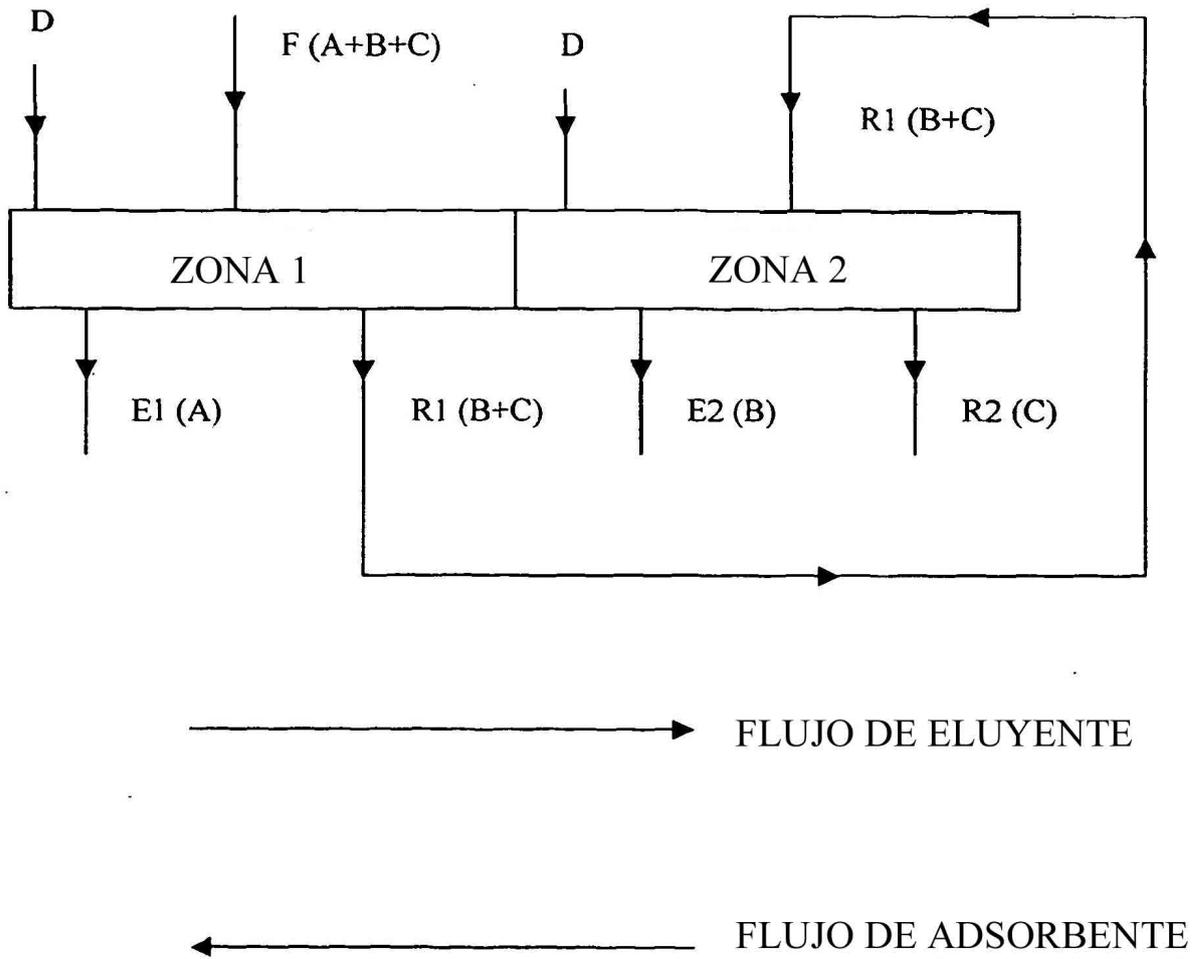


Figura 7

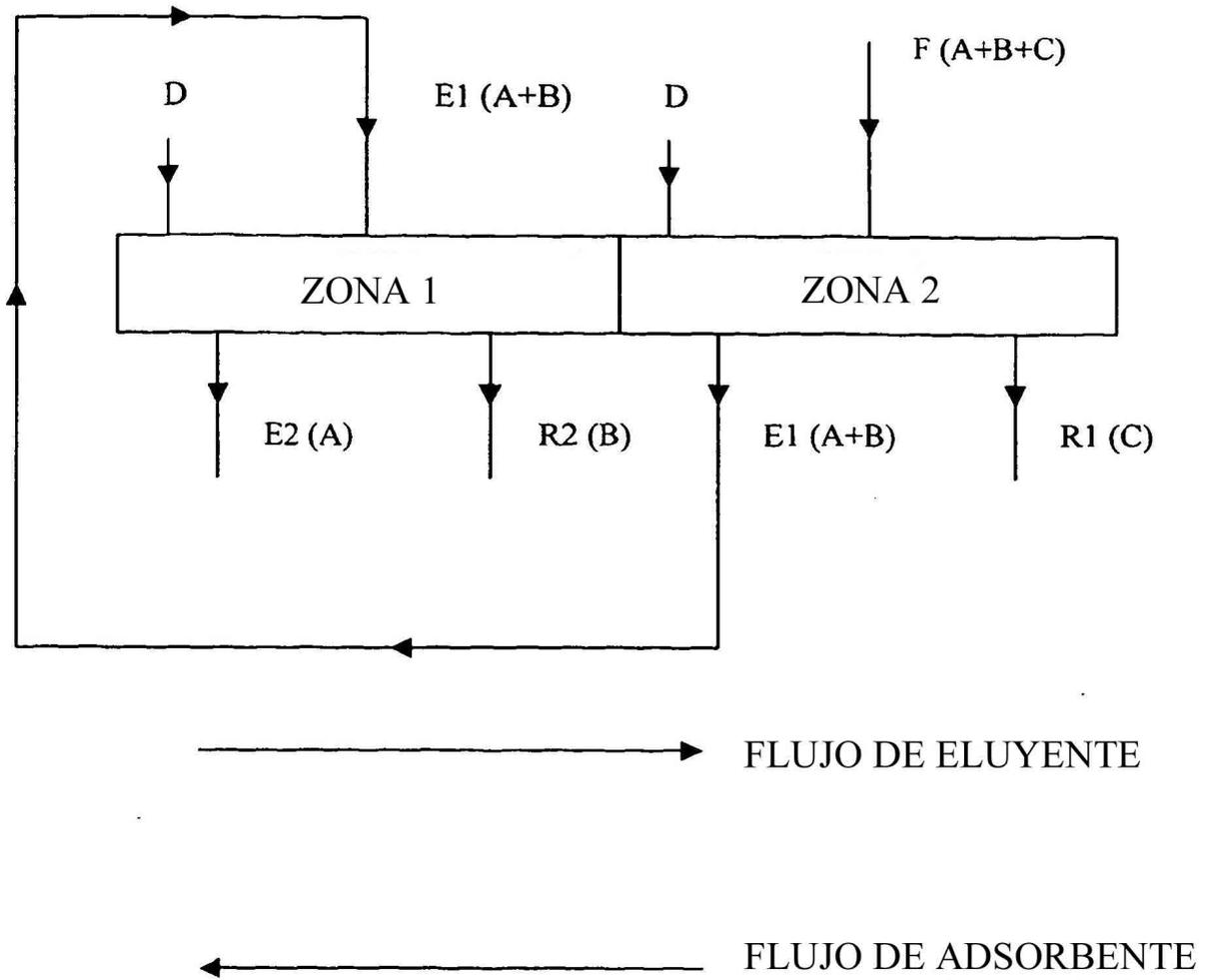


Figura 8

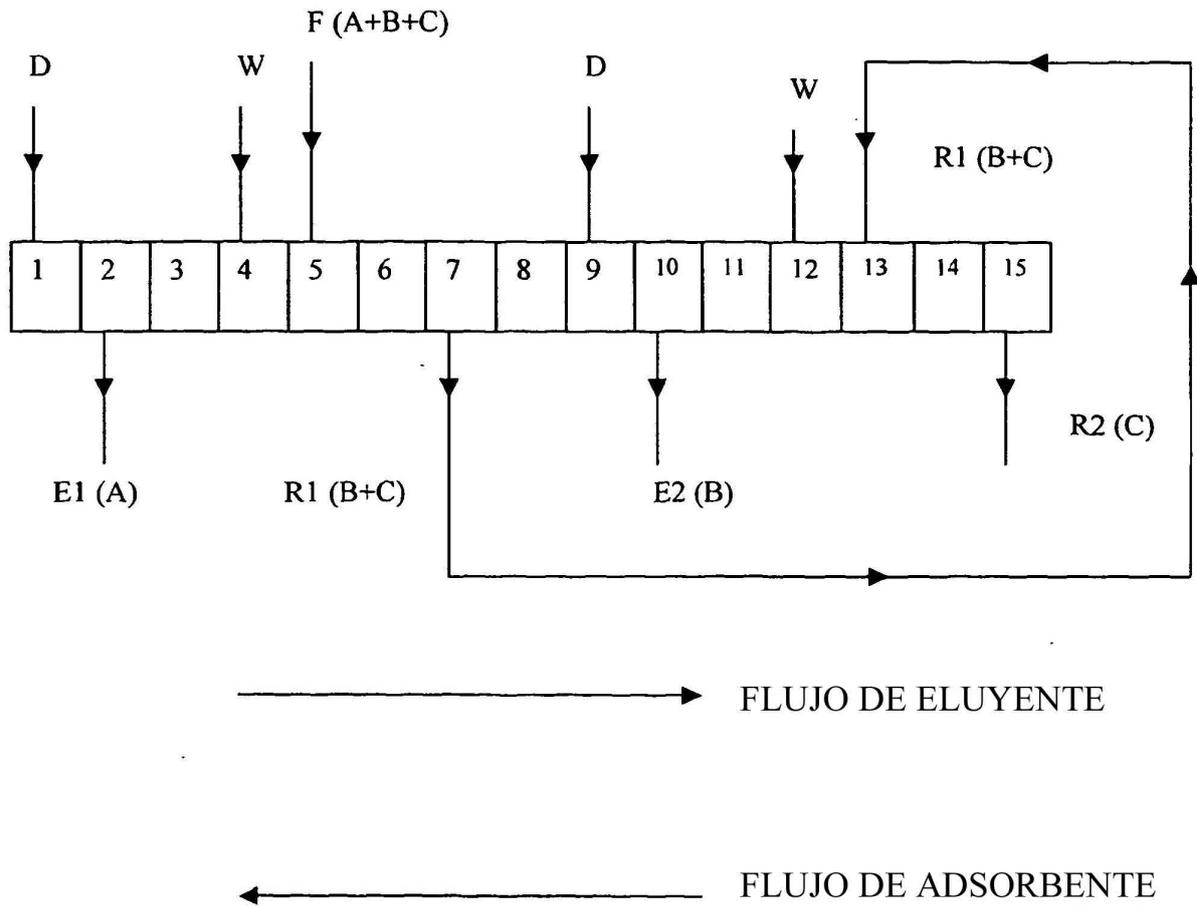


Figura 9

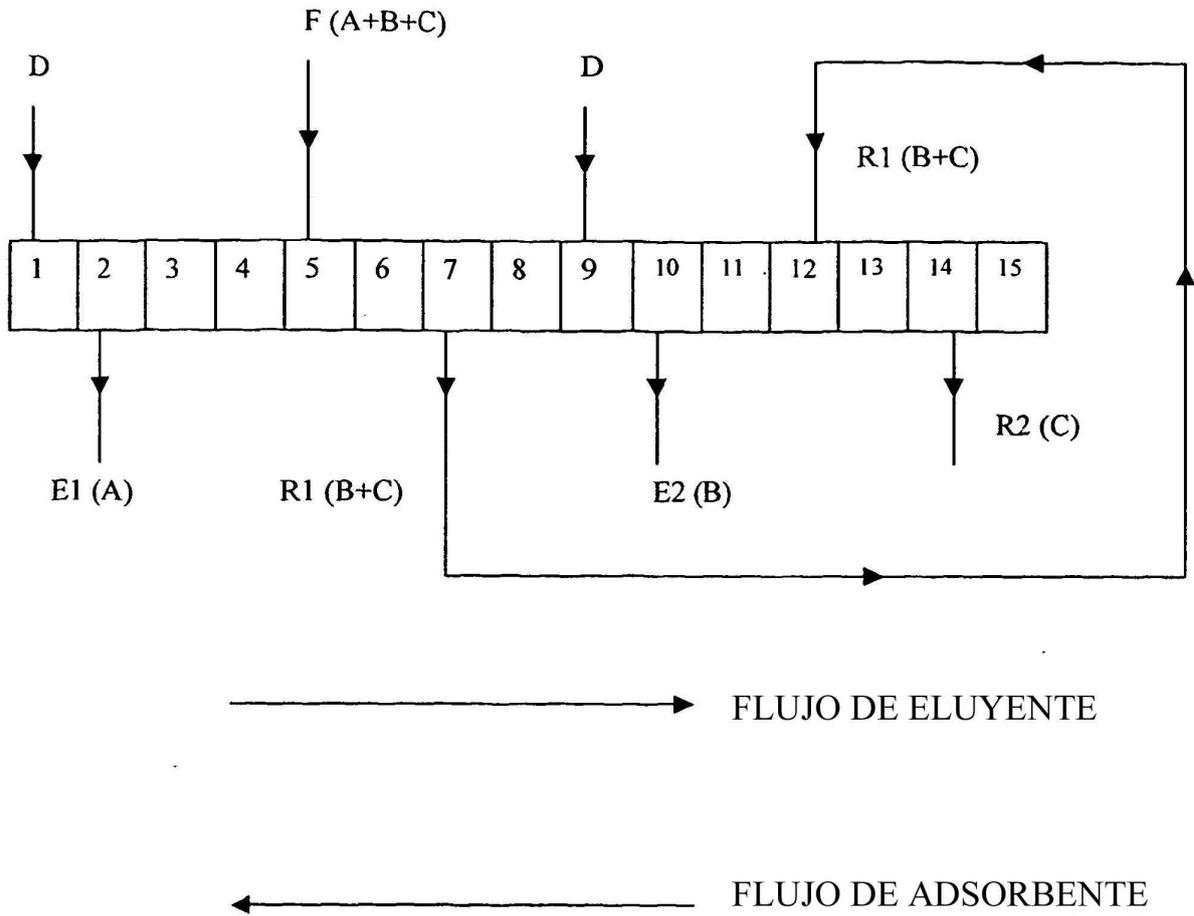
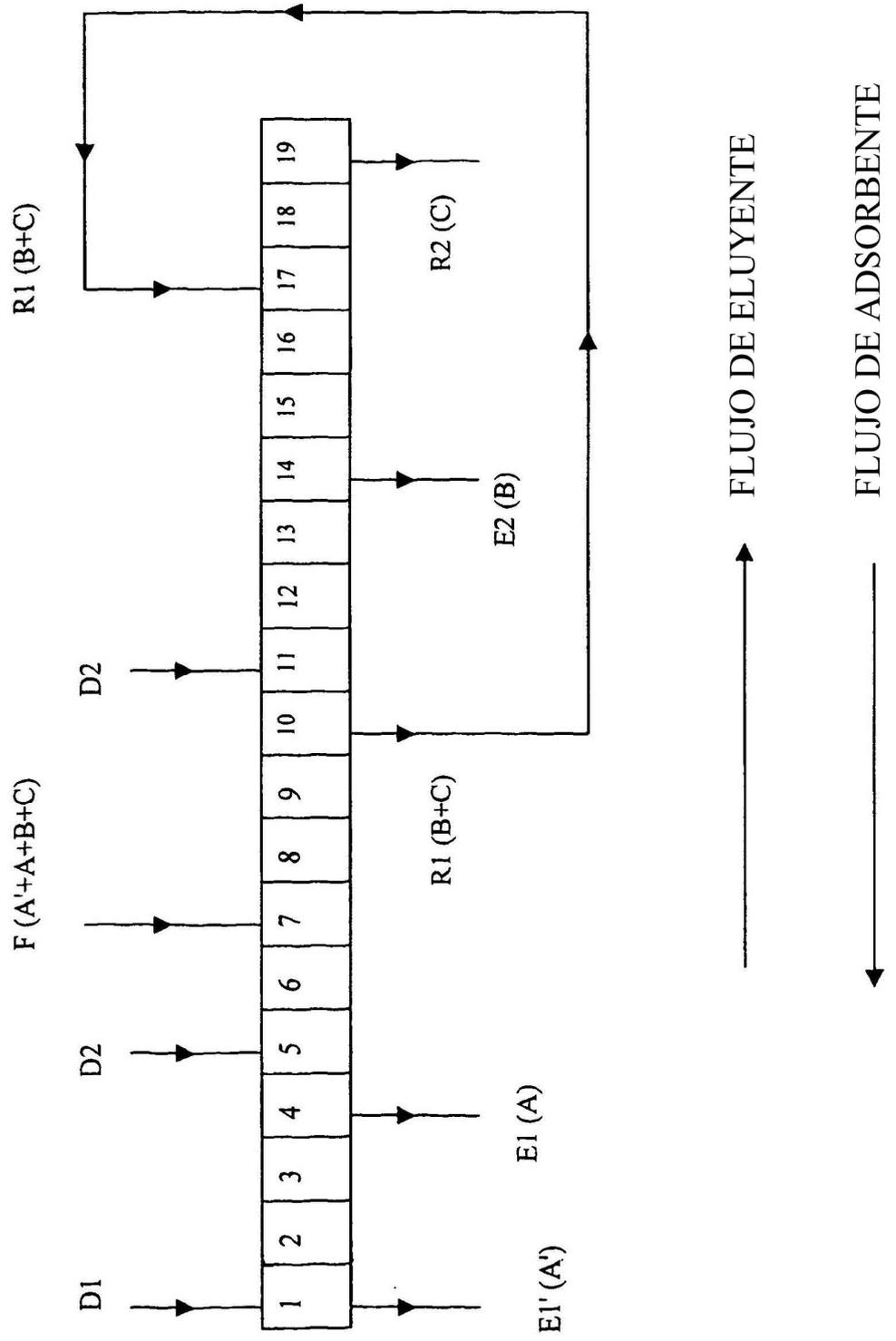
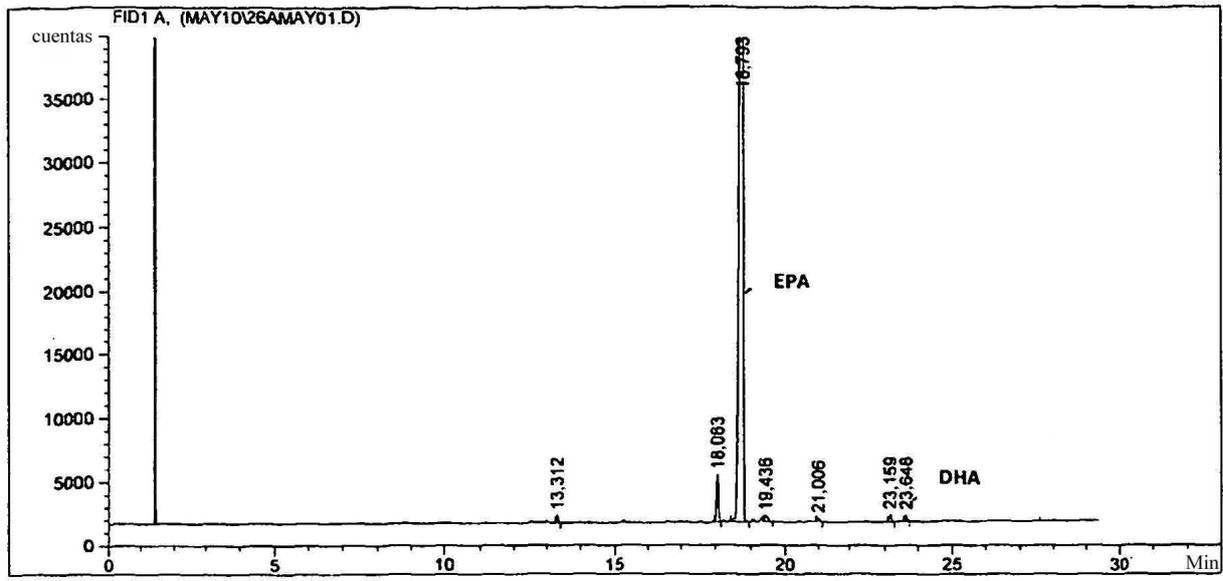


Figura 10



# Figura 11

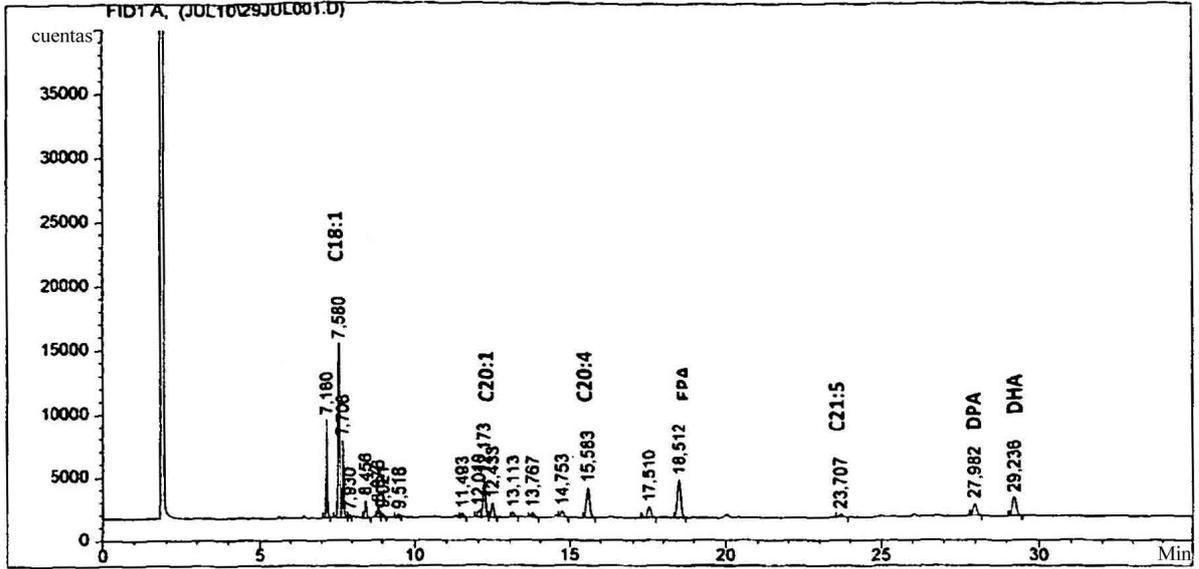
Extracto de la zona 2 - 95 % de EE del EPA



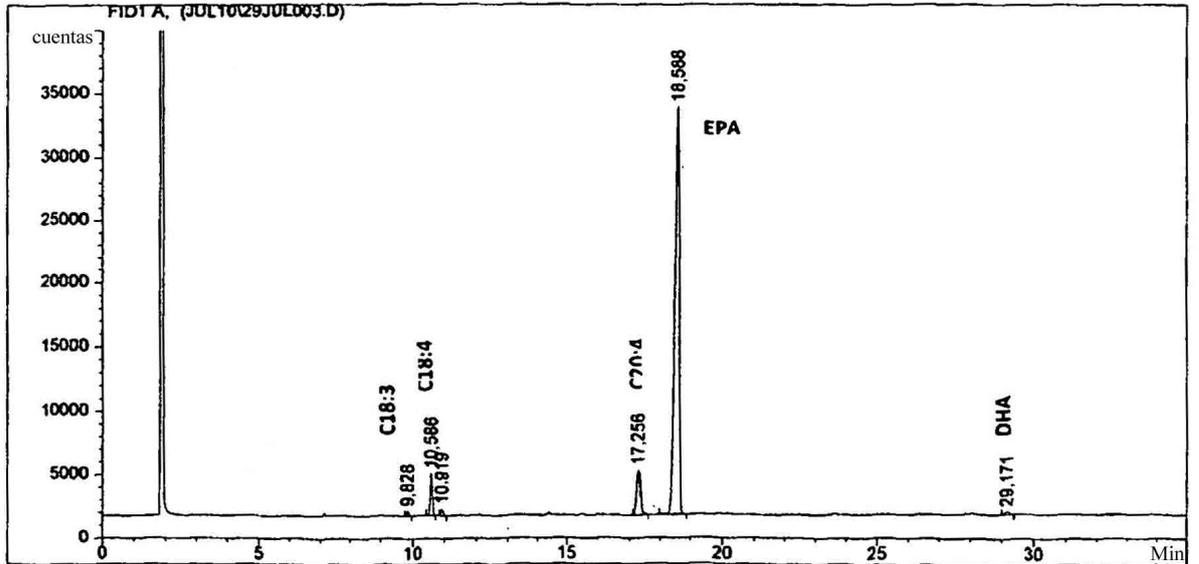
5

# Figura 12

Extracto de la zona 1 - Componentes “menos polares”

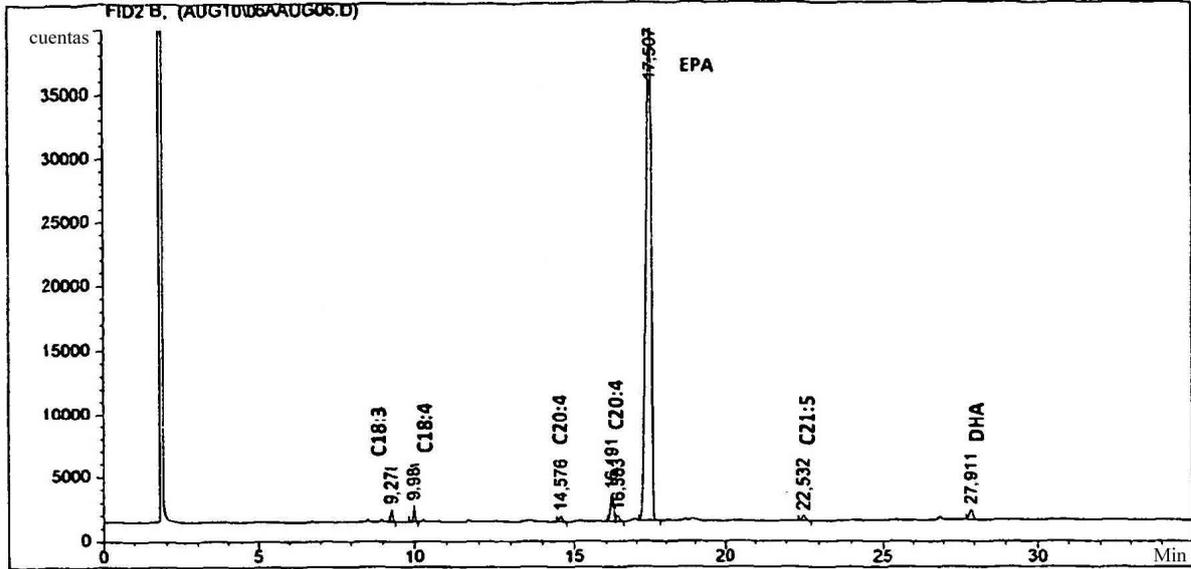


Refinado de la zona 1 - EPA + Componentes “más polares”

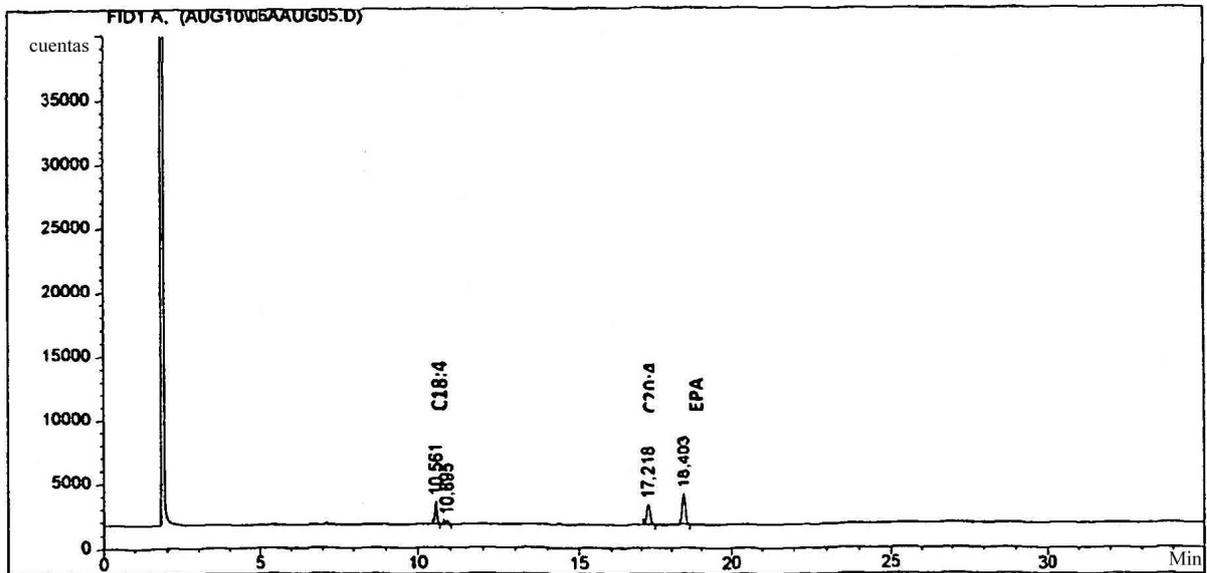


# Figura 13

Extracto de la zona 2 - EE del EPA

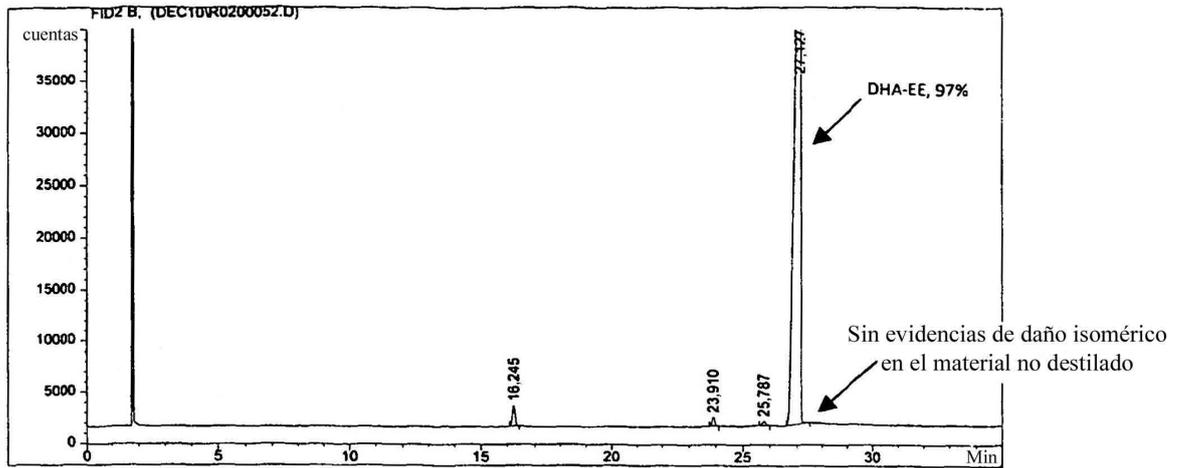


Refinado de la zona 2 - Componentes "más polares"



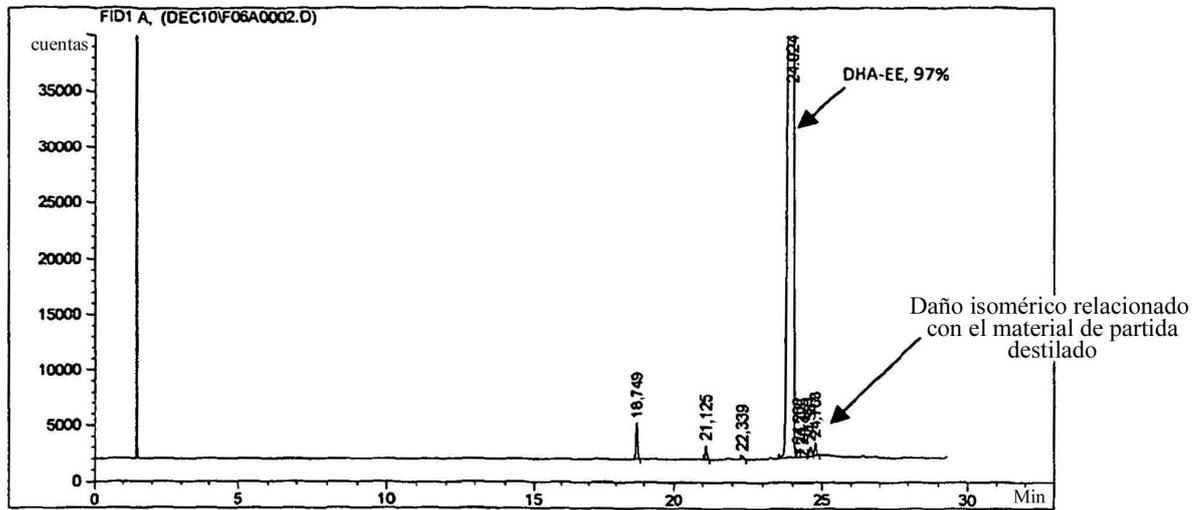
# Figura 14

Extracto de la zona 2 - 97 % de DHA



DHA de alta pureza producido a partir de material no destilado. Sin evidencias de daño isomérico

Figura 15



Producto de DHA de alta pureza producido a partir de material de partida destilado que contiene el 1,5 % de impurezas isoméricas (un total de 4 picos por GC FAMES)