(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 536 911**

(51) Int. Cl.:

B01D 15/18 (2006.01)
C11B 3/10 (2006.01)
C11C 1/00 (2006.01)
C11C 1/08 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.07.2012 E 12735932 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2015 EP 2613858**

(54) Título: **Proceso SMB para la recuperación de un producto de ácido graso poliinsaturado**

(30) Prioridad:

06.07.2011 GB 201111601

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.05.2015

(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:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 536 911 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 SMB para la recuperación de un producto de ácido graso poliinsaturado

La presente invención se refiere a un proceso de fraccionamiento cromatográfico mejorado para purificar ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y derivados de los mismos. En particular, la presente invención se refiere a un proceso de separación cromatográfica en lecho móvil simulado o real mejorado para purificar PUFA y derivados de los mismos.

Los ácidos grasos, en particular PUFA, y sus derivados son precursores para moléculas biológicamente importantes, que desempeñan una función importante en la regulación de funciones biológicas tales como la agregación de plaquetas, inflamación y respuestas inmunológicas. Así, los PUFA y sus derivados pueden ser terapéuticamente útiles en el tratamiento de una amplia variedad de afecciones patológicas que incluyen afecciones del SNC; neuropatías, que incluyen neuropatía diabética; enfermedades cardiovasculares; afecciones del sistema inmunitario general e inflamatorias, que incluyen enfermedades inflamatorias de la piel.

Los PUFA se encuentran en materiales de partida naturales, tales como aceites vegetales y aceites marinos. Sin embargo, tales PUFA están frecuentemente presentes en tales aceites en mezcla con ácidos grasos saturados y numerosas otras impurezas. Por tanto, los PUFA deben purificarse deseablemente antes de usos nutricionales o farmacéuticos.

Desafortunadamente, los PUFA son extremadamente frágiles. Así, cuando se calientan en presencia de oxígeno, tienen tendencia a isomerización, peroxidación y oligomerización. Por tanto, el fraccionamiento y purificación de productos de PUFA para preparar ácidos grasos puros es difícil. La destilación, incluso a vacío, puede conducir a degradación de productos no aceptable.

La cromatografía en lecho móvil simulado o real son técnicas conocidas, comunes para aquellos expertos en la materia. El principio de operación implica el movimiento en contracorriente de una fase de eluyente líquido y una fase de adsorbente sólido. Esta operación permite el uso mínimo de disolvente, haciendo el proceso económicamente viable. Tal tecnología de separación ha encontrado varias aplicaciones en diversas áreas, que incluyen hidrocarburos, productos químicos industriales, aceites, azúcares y API. Tal tecnología de separación también se ha aplicado para purificar PUFA y sus derivados.

Como es muy sabido, en un sistema cromatográfico de lecho estacionario convencional, una mezcla cuyos componentes van a separarse percola a través de un recipiente. El recipiente es generalmente cilíndrico, y normalmente se denomina columna. La columna contiene un relleno de un material poroso (generalmente llamado la 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 sucesivamente y selectivamente. Así, algunos de los componentes tienden a fijarse fuertemente a la fase estacionaria y así percolarán lentamente, mientras que otros tienden a fijarse débilmente y salir de la columna más rápidamente. Se han propuesto muchos sistemas cromatográficos de lecho estacionario diferentes y se usan para tanto fines analíticos como de producción industrial.

A diferencia, un sistema de lecho móvil simulado consiste en varias columnas individuales que contienen adsorbente que están conectadas juntas en serie. Se pasa eluyente a través de las columnas en una primera dirección. Los puntos de inyección de la materia prima y el eluyente, y los puntos de recogida 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 única 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 pasa el eluyente, pero en un sistema de lecho móvil simulado la operación es tal que se simula un lecho móvil en contracorriente continuo.

Los procesos y equipo para la cromatografía en lecho móvil simulado se describen en varias patentes, que incluyen los documentos 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 tópico también se trata en detalle en “Preparative and Production Scale Chromatography”, editado por Ganetsos y Barker, Marcel Dekker Inc, New York, 1993.

El documento WO-A-2007/075499 describe un método de preparación de composiciones enriquecidas en compuestos que contienen cadenas de carbono de grados variables de insaturación usando cromatografía de argentación.

El documento WO-A-98/32514 describe un proceso que comprende una pluralidad de operaciones de separación cromatográfica.

Un sistema de lecho móvil real es similar en operación a un sistema de lecho móvil simulado. Sin embargo, en vez de desplazar los puntos de inyección de la mezcla de alimentación y el eluyente, y los puntos de recogida de los

componentes separados por medio de un sistema de válvulas, en su lugar se mueven físicamente una serie de unidades de adsorción (es decir, columnas) con respecto a los puntos de alimentación y descarga. De nuevo, la operación es tal que se simula un lecho móvil en contracorriente continuo.

Los procesos y equipo para la cromatografía en lecho móvil real se describen en varias patentes, que incluyen los documentos US 6.979.402, US 5.069.883 y US 4.764.276.

La tecnología en lecho móvil simulado y real es generalmente solo adecuada para separar mezclas binarias. Así, un componente más polar se moverá con el eluyente, y se recogerá como una corriente de refinado, y un componente menos polar se moverá con el adsorbente, y se recogerá como una corriente de extracto. Por tanto, es difícil usar la tecnología en lecho móvil simulado o real para separar un producto deseado de una mezcla en bruto que contiene tanto impurezas polares como apolares. Esto limita la aplicabilidad de tales técnicas en la purificación de productos de PUFA de, por ejemplo, aceites de pescado.

Por consiguiente, cuando en el pasado se ha usado tecnología en lecho móvil simulado o real para separar PUFA de aceites naturales, generalmente es necesario someter primero el aceite natural a una etapa de separación preliminar (por ejemplo, cromatografía en columna fija) antes de purificar el producto intermedio obtenido usando tecnología en lecho móvil simulado o real (véase, por ejemplo, el documento EP-A-0697034). Normalmente, la etapa de purificación inicial extrae componentes polares o apolares, creando así una mezcla esencialmente binaria que entonces se somete a cromatografía en 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 cromatográfica en contracorriente continuo simulado o real se explica considerando una columna cromatográfica vertical que contiene la fase estacionaria S dividida en secciones, más precisamente en cuatro sub-zonas superpuestas I, II, III y IV desde el fondo hasta la cabeza de la columna. El eluyente se introduce en el fondo en IE por medio de una bomba P. La mezcla de los componentes A y B que van a separarse se introduce en IA + B entre la sub-zona II y la sub-zona III. Un extracto que contiene principalmente B se recoge en SB entre la sub-zona I y la sub-zona II, y un refinado que contiene principalmente A se recoge en SA entre la sub-zona III y la sub-zona IV.

En el caso de un sistema de lecho móvil simulado, se produce un movimiento descendente simulado de la fase estacionaria S por movimiento de los puntos de introducción y recogida con respecto a la fase sólida. En el caso de un sistema de lecho móvil real, el movimiento descendente de la fase estacionaria S se produce por movimiento de las diversas columnas cromatográficas con respecto a los puntos de introducción y recogida. En la Figura 1, el eluyente circula hacia arriba y la mezcla A + B se inyecta entre la sub-zona II y la sub-zona III. Los componentes se moverán según sus interacciones cromatográficas con la fase estacionaria, por ejemplo, adsorción sobre un medio poroso. El componente B que presenta afinidad más fuerte con la fase estacionaria (el componente que eluye más lento) será más lentamente arrastrado por el eluyente y lo seguirá con retraso. El componente A que presenta afinidad más débil con la fase estacionaria (el componente que eluye más rápido) será más fácilmente arrastrado por el eluyente. Si el conjunto adecuado de parámetros, especialmente la velocidad de flujo en cada zona, están correctamente estimados y controlados, el componente A que presenta la afinidad más débil con la fase estacionaria se recogerá entre la sub-zona III y la sub-zona IV como un refinado y el componente B que presenta la afinidad más fuerte con la fase estacionaria se recogerá entre la sub-zona I y la sub-zona II como un extracto.

Por tanto, se apreciará que el sistema de lecho móvil convencional ilustrado esquemáticamente en la Fig. 1 se limita al fraccionamiento binario.

Por consiguiente, existe la necesidad de un único proceso de separación cromatográfica en lecho móvil simulado o real que pueda separar PUFA o sus derivados de tanto los componentes que eluyen más rápido como más lento (es decir, impurezas más polares y menos polares), para producir un PUFA esencialmente puro o derivado del mismo. Es adicionalmente deseable que el proceso deba implicar eluyentes baratos que operen bajo condiciones de temperatura y presión estándar.

Se ha encontrado ahora sorprendentemente que un producto de PUFA puede purificarse eficazmente con un único aparato de lecho móvil simulado o real usando un eluyente de disolvente orgánico acuoso. Por tanto, la presente invención proporciona un proceso de separación cromatográfica para recuperar un producto de ácido graso poliinsaturado (PUFA), de una mezcla de alimentación, proceso que comprende introducir la mezcla de alimentación a un aparato de cromatografía en lecho simulado o real que tiene una pluralidad de columnas de cromatografía conectadas que contienen, como eluyente, un disolvente orgánico acuoso, en el que el aparato tiene una pluralidad de zonas que comprenden al menos una primera zona y segunda zona, teniendo cada zona una corriente de extracto y una corriente de refinado de las que puede recogerse líquido de dicha pluralidad de columnas de cromatografía conectadas, y en el que (a) una corriente de refinado que contiene el producto de PUFA 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/o (b) una corriente de extracto que contiene el producto de PUFA junto con componentes menos polares se recoge de una columna en la segunda zona y se introduce a una columna no adyacente en la primera zona, separándose dicho producto de PUFA de diferentes componentes de la mezcla de alimentación en cada zona, y en el que el disolvente orgánico acuoso es distinto de alcohol acuoso.

También se describe un producto de PUFA obtenible por el proceso de la presente invención.

Los productos de PUFA producidos por el proceso de la presente invención se producen con alto rendimiento, y tienen alta pureza. Además, el contenido de las impurezas características que normalmente resultan de la destilación de PUFA es muy bajo. Como se usa en el presente documento, el término “impurezas isoméricas” se usa para indicar aquellas impurezas normalmente producidas durante la destilación de aceites naturales que contienen PUFA. Éstas incluyen isómeros de PUFA, productos de peroxidación y de oligomerización.

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

La Figura 2 ilustra una primera realización preferida de la invención que es adecuada para separar EPA de componentes que eluyen más rápido y más lento (es decir, impurezas más polares y menos polares).

La Figura 3 ilustra una segunda realización preferida de la invención que es adecuada para separar DHA de componentes que eluyen más rápido y más lento (es decir, impurezas más polares y menos polares).

La Figura 4 ilustra en más detalle la primera realización preferida de la invención que es adecuada para separar EPA de componentes que eluyen más rápido y más lento (es decir, impurezas más polares y menos polares).

La Figura 5 ilustra en más detalle la segunda realización preferida de la invención que es adecuada para separar DHA de componentes que eluyen más rápido y más lento (es decir, impurezas más polares y menos polares).

La Figura 6 ilustra en más detalle un método alternativo para la primera realización preferida de la invención que es adecuado para separar EPA de componentes que eluyen más rápido y más lento (es decir, impurezas más polares y menos polares).

La Figura 7 ilustra en más detalle un método alternativo para la segunda realización preferida de la invención que es adecuado para separar DHA de componentes que eluyen más rápido y más lento (es decir, impurezas más polares y menos polares).

La Figura 8 ilustra una realización particularmente preferida de la invención para purificar EPA de componentes que eluyen más rápido y más lento (es decir, impurezas más polares y menos polares).

La Figura 9 ilustra un método alternativo para una realización particularmente preferida de la invención para purificar EPA de componentes que eluyen más rápido y más lento (es decir, impurezas más polares y menos polares).

La Figura 10 ilustra una realización particularmente preferida de la invención para purificar EPA de componentes que eluyen más rápido y más lento (es decir, impurezas más polares y menos polares).

La Figura 11 muestra un análisis de CG de un producto de EPA producido por SMB.

La Figura 12 muestra perfiles de FAMES por CG de las primeras corrientes de extracto y de refinado obtenidas en un proceso SMB.

La Figura 13 muestra perfiles de FAMES por CG de las segundas corrientes de extracto y de refinado obtenidas en un proceso SMB.

La Figura 14 muestra un perfil de FAMES por CG de un producto de DHA producido por SMB.

La Figura 15 muestra un perfil de FAMES por CG de un producto de DHA producido por destilación.

La Figura 16 muestra un perfil de CG de un producto de EPA producido usando una técnica cromatográfica en la que el eluyente era acetonitrilo acuoso.

El término “ácido graso poliinsaturado” (PUFA) se refiere a ácidos grasos que contienen más de un doble enlace. Tales PUFA son muy conocidos para el experto en la materia. Como se usa en el presente documento, un derivado de PUFA es un PUFA en forma de un mono-, di- o triglicérido, éster, fosfolípido, amida, lactona, o sal. Se prefieren triglicéridos y ésteres. Los ésteres son más preferidos. Los ésteres normalmente son ésteres de alquilo, preferentemente ésteres de alquilo C_1-C_6, más preferentemente ésteres de alquilo C_1-C_4. Ejemplos de ésteres incluyen ésteres metílicos y etílicos. Los ésteres etílicos son los más preferidos.

Como se usa en el presente documento, el término “producto de PUFA” se refiere a un producto que comprende uno

o más ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), y/o derivados de los mismos, normalmente de importancia nutricional o farmacéutica. Normalmente, el producto de PUFA es un único PUFA o derivado del mismo. Alternativamente, el producto de PUFA es una mezcla de dos o más PUFA o derivados de los mismos, por ejemplo, dos.

Como se usa en el presente documento, el término “zona” se refiere a una pluralidad de columnas de cromatografía conectadas que contienen, como eluyente, un disolvente orgánico acuoso, y que tienen uno o más puntos de inyección para una corriente de mezcla de alimentación, uno o más puntos de inyección para agua y/o disolvente orgánico, una corriente de descarga de refinado de la que puede recogerse líquido de dicha pluralidad de columnas de cromatografía conectadas, y una corriente de descarga de extracto de la que puede recogerse líquido de dicha pluralidad de columnas de cromatografía conectadas. Normalmente, cada zona tiene solo un punto de inyección para una mezcla de alimentación. En una realización, cada zona tiene solo un punto de inyección para el eluyente de disolvente orgánico acuoso. En otra realización, cada zona tiene dos o más puntos de inyección para agua y/o disolvente orgánico.

El término “refinado” es muy conocido para el experto en la materia. En el contexto de la cromatografía en lecho móvil real y simulada se refiere a la corriente de componentes que se mueven más rápidamente con la fase de eluyente líquido en comparación con la fase de adsorbente sólido. Así, una corriente de refinado normalmente está enriquecida en componentes más polares, y agotada en componentes menos polares, en comparación con una corriente de alimentación.

El término “extracto” es muy conocido para el experto en la materia. En el contexto de la cromatografía en lecho móvil real y simulada se refiere a la corriente de componentes que se mueven más rápidamente con la fase de adsorbente sólido en comparación con la fase de eluyente líquido. Así, una corriente de extracto normalmente está enriquecida en componentes menos polares, y agotada en 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 aproximadamente 5 columnas.

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

Normalmente, el producto de PUFA comprende al menos un PUFA ω-3 o ω-6, preferentemente al menos un PUFA ω-3. Ejemplos de PUFA ω-3 incluyen ácido alfa-linolénico (ALA), ácido estearidónico (SDA), ácido eicosatrienoico (ETE), ácido eicosatetraenoico (ETA), ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosapentaenoico (DPA) y ácido docosahexaenoico (DHA). Se prefieren SDA, EPA, DPA y DHA. EPA y DHA son los más preferidos. Ejemplos de PUFA ω-6 incluyen ácido linoleico (LA), ácido gamma-linolénico (GLA), ácido eicosadienoico, ácido dihomo-gamma-linolénico (DGLA), ácido araquidónico (ARA), ácido docosadienoico, ácido adrénico y ácido docosapentaenoico (ω-6). Se prefieren LA, ARA, GLA y DGLA.

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

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

En otra realización más, el producto de PUFA es una mezcla de EPA y DHA y/o EE EPA y EE DHA.

Pueden obtenerse mezclas de alimentación adecuadas para el fraccionamiento por el proceso de la presente invención de fuentes naturales que incluyen aceites y grasas vegetales y animales, y de fuentes sintéticas que incluyen aceites obtenidos de plantas, animales y microorganismos genéticamente modificados que incluyen levaduras. Ejemplos incluyen aceites de pescado, aceites de algas y de 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 PUFA deseado es EPA y/o DHA. El aceite de alazor genéticamente modificado es particularmente adecuado cuando el producto de PUFA deseado es GLA. La levadura genéticamente modificada es particularmente adecuada cuando el producto de PUFA deseado es EPA.

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

Las mezclas de alimentación normalmente contienen el producto de PUFA y al menos un componente más polar y al menos un componente menos polar. Los componentes menos polares tienen una adherencia más fuerte al adsorbente usado en el proceso de la presente invención que el producto de PUFA. Durante la operación, tales componentes menos polares normalmente se mueven con la fase de adsorbente sólido en preferencia a la fase de eluyente líquido. Los componentes más polares tienen una adherencia más débil al adsorbente usado en el proceso de la presente invención que el producto de PUFA. Durante la operación, tales componentes más polares normalmente se mueven con la fase de eluyente líquido en preferencia a la fase de adsorbente sólido. 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.

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

Ejemplos de (1) incluyen otros PUFA no deseados; ácidos grasos saturados; esteroles, por ejemplo, colesterol; vitaminas; y contaminantes medioambientales, tales como policlorobifenilo (PCB), hidrocarburo poliaromático (PAH) pesticidas, pesticidas clorados, dioxinas y metales pesados. PCB, PAH, dioxinas y pesticidas clorados son todos componentes altamente apolares.

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

Ejemplos de (3) incluyen urea que puede añadirse para extraer ácidos grasos saturados o mono-insaturados de la mezcla de alimentación.

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

Una mezcla de alimentación típica para preparar EPA concentrado por el proceso de la presente invención comprende 50-75 % de EPA, 0 al 10 % de DHA, y otros componentes que incluyen otros ácidos grasos ω-3 y ω-6 esenciales.

Una mezcla de alimentación preferida para preparar EPA concentrado por el proceso de la presente invención comprende 55 % de EPA, 5 % de DHA, y otros componentes que incluyen otros ácidos grasos ω-3 y ω-6 esenciales. DHA es menos polar que EPA.

Una mezcla de alimentación típica para preparar DHA concentrado por el proceso de la presente invención comprende 50-75 % de DHA, 0 al 10 % de EPA, y otros componentes que incluyen otros ácidos grasos ω-3 y ω-6 esenciales.

Una mezcla de alimentación preferida para preparar DHA concentrado por el proceso de la presente invención comprende 75 % de DHA, 7 % de EPA, y otros componentes que incluyen otros ácidos grasos ω-3 y ω-6 esenciales. EPA es más polar que DHA.

Una mezcla de alimentación típica para preparar una mezcla concentrada de EPA y DHA por 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 de cromatografía. Normalmente, se usan dos o más zonas. El número de zonas no está particularmente limitado, pero en general hay 2 a 5 zonas. Preferentemente, hay dos o tres zonas, más preferentemente hay dos zonas.

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

Normalmente,

a) el eluyente de disolvente orgánico acuoso presente en cada zona tiene una relación de agua:disolvente orgánico diferente; y/o
b) la tasa a la que el líquido recogido mediante las corrientes de extracto y de refinado en cada zona se recircula de nuevo a la misma zona se ajusta de forma que el producto de PUFA pueda separarse de 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 normalmente proporciona un proceso de separación cromatográfica para recuperar un producto de ácido graso poliinsaturado (PUFA), de una mezcla de alimentación, proceso que comprende introducir la mezcla de alimentación

a un aparato de cromatografía en lecho simulado o real que tiene una pluralidad de columnas de cromatografía conectadas que contienen, como eluyente, un disolvente orgánico acuoso, en el que el aparato tiene una primera zona y una segunda zona, teniendo cada zona una corriente de extracto y una corriente de refinado de las que puede recogerse líquido de dicha pluralidad de columnas de cromatografía conectadas, y en el que (a) una corriente de refinado que contiene el producto de PUFA 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/o (b) una corriente de extracto que contiene el producto de PUFA junto con componentes menos polares se recoge de una columna en la segunda zona y se introduce a una columna no adyacente en la primera zona, separándose dicho producto de PUFA de componentes menos polares de la mezcla de alimentación en la primera zona, y separándose dicho producto de PUFA de componentes más polares de la mezcla de alimentación en la segunda zona, y en el que el disolvente orgánico acuoso es distinto de alcohol acuoso

Normalmente, cuando el aparato usado en el proceso de la presente invención contiene dos zonas, el eluyente en la primera zona contiene más disolvente orgánico que el eluyente en la segunda zona, y la segunda zona está aguas abajo de la primera zona con respecto al flujo de eluyente en el sistema. Así, el eluyente en el sistema normalmente se mueve de la primera zona a la segunda zona. En cambio, la fase de adsorbente sólido normalmente se mueve de la segunda zona a la primera zona. Normalmente, las dos zonas no se solapan, es decir, no hay columnas cromatográficas que estén en ambas zonas.

En otra realización de la invención, el aparato tiene una primera zona, una segunda zona y una tercera zona. Las relaciones de agua:disolvente orgánico del eluyente de disolvente orgánico acuoso presente en la primera, segunda y tercera zonas normalmente son diferentes. Como será evidente para un experto en la materia, esto tiene la consecuencia de que las impurezas que tienen polaridades diferentes pueden extraerse en cada zona.

Preferentemente, cuando el aparato tiene tres zonas, el eluyente en la primera zona contiene más disolvente orgánico que el eluyente en la segunda zona y la tercera zona y la primera zona está aguas arriba de la segunda y tercera zonas con respecto al flujo de eluyente en el sistema. Normalmente, el eluyente en la segunda zona contiene más disolvente orgánico 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. Normalmente, en la primera zona, dicho producto de PUFA se separa de componentes de la mezcla de alimentación que son menos polares que el producto de PUFA. Normalmente, en la segunda zona, dicho producto de PUFA se separa de componentes de la mezcla de alimentación que son menos polares que el producto de PUFA, pero más polares que los componentes separados en la primera zona. Normalmente, en la tercera zona, dicho producto de PUFA se separa de componentes de la mezcla de alimentación que son más polares que el producto de PUFA.

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

Una configuración tal que tiene tres zonas sería adecuada para separar EPA y DHA de una mezcla que contiene impurezas que son menos polares que DHA y EPA y que también contiene impurezas que son más polares que EPA. En la primera zona, los componentes que son menos polares que DHA y EPA se extraen como una corriente de extracto y una corriente de refinado que comprende DHA, EPA y componentes que son más polares que EPA se recoge y se introduce en la segunda zona. En la segunda zona, se extrae DHA como una corriente de extracto y una corriente de refinado que comprende EPA y componentes que son más polares que EPA se recoge y se introduce en la tercera zona. En la tercera zona, los componentes que son más polares que EPA se extraen como una corriente de refinado y se recoge EPA purificado como una corriente de extracto. En esta realización, el EPA purificado es el producto de PUFA purificado. Una configuración tal tiene la ventaja de que también puede recuperarse un PUFA secundario. En este caso, el PUFA secundario es el DHA recogido como corriente de extracto de la segunda zona.

Normalmente, además de dicho producto de PUFA, se recoge un producto de PUFA secundario adicional en el proceso de separación cromatográfica de la invención. Preferentemente, el producto de PUFA es EPA y el producto de PUFA secundario adicional es DHA.

En otra realización de la invención, el aparato está configurado para recoger un producto de PUFA 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 EPA y DHA, y componentes que son menos polares que EPA y DHA. En la primera zona, se extrae material menos polar que EPA y DHA. En la segunda zona, se extrae material que es más polar que EPA y DHA, y se recoge una mezcla concentrada de EPA y DHA como producto de PUFA.

Puede utilizarse cualquier aparato de cromatografía en lecho simulado o real conocido para los fines del método de la presente invención, en tanto que el aparato esté configurado con las múltiples zonas, en particular dos, que caracterizan el proceso de la presente invención. Aquellos 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 pueden todos usarse si se configuran según el proceso de la presente invención.

El número de columnas usado en el aparato no está particularmente limitado. Un experto sería fácilmente capaz de determinar un número apropiado de columnas a usar. El número de columnas normalmente es 8 o más, preferentemente 15 o más. 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. Normalmente, no hay más de 50 columnas, preferentemente no más de 40.

Cada zona normalmente consiste en una parte aproximadamente igual del número total de columnas. Así, en el caso de un aparato configurado con dos zonas, cada zona normalmente consiste en aproximadamente la mitad del número total de columnas cromatográficas en el sistema. Así, la primera zona normalmente comprende 4 o más, preferentemente 8 o más, más preferentemente aproximadamente 8 columnas. La segunda zona normalmente comprende 4 o más, preferentemente 7 o más, más preferentemente 7 u 8 columnas.

Las dimensiones de las columnas usadas en el aparato no están particularmente limitadas, y dependerán del volumen de mezcla de alimentación que vaya a purificarse. Un experto sería fácilmente capaz de determinar las columnas apropiadamente dimensionadas a usar. El diámetro de cada columna normalmente está entre 10 y 500 mm, preferible entre 25 y 250 mm, más preferible entre 50 y 100 mm, y lo más preferentemente entre 70 y 80 mm. La longitud de cada columna normalmente 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 normalmente tienen dimensiones idénticas pero, para ciertas aplicaciones, pueden tener dimensiones diferentes.

Las velocidades de flujo para la columna están limitadas por las presiones máximas a través de la serie de columnas y dependerán de las dimensiones de la columna y el tamaño de partícula de las fases sólidas. Un experto en la materia será fácilmente capaz de establecer la velocidad de flujo requerida para cada dimensión de columna para garantizar la eficaz desorción. Columnas de diámetro mayor necesitarán en general mayores flujos para mantener el flujo lineal a través de las columnas.

Para los tamaños de columna típicos explicados resumidamente anteriormente, y para un aparato que tiene dos zonas, normalmente la velocidad de flujo de eluyente en la primera zona es de 1 a 4,5 l/min, preferentemente de 1,5 a 2,5 l/min. Normalmente, la velocidad de flujo del extracto 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 de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona, la velocidad de flujo de recirculación normalmente es de 0,7 a 1,4 l/min, preferentemente aproximadamente 1 l/min. Normalmente, la velocidad de flujo del refinado 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 de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona, la velocidad de flujo de recirculación normalmente es de 0,3 a 1,0 l/min, preferentemente aproximadamente 0,5 l/min. Normalmente, la velocidad de flujo 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.

Para los tamaños de columna típicos explicados resumidamente anteriormente, y para un aparato que tiene dos zonas, normalmente la velocidad de flujo de eluyente en la segunda zona es de 1 a 4 l/min, preferentemente de 1,5 a 3,5 l/min. Normalmente, la velocidad de flujo del extracto 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 de la segunda zona se recircula de nuevo a la segunda zona, la velocidad de flujo de recirculación normalmente es de 0,6 a 1,4 l/min, preferentemente de 0,7 a 1,1 l/min, más preferentemente aproximadamente 0,9 l/min. Normalmente, la velocidad de flujo del refinado de la segunda zona es de 0,5 a 2,5 l/min, preferentemente de 0,7 a 1,8 l/min, más preferentemente aproximadamente 1,4 l/min.

Como apreciará el experto, referencias a las tasas a las que el líquido se recoge o extrae mediante las diversas corrientes de extracto y de refinado se refieren a volúmenes de líquido extraídos en una cantidad de tiempo, normalmente l/minuto. Similarmente, referencias a las tasas a las que el líquido se recircula de nuevo a la misma zona, normalmente a una columna adyacente en la misma zona, se refieren a volúmenes de líquido recirculados en una cantidad de tiempo, normalmente l/minuto.

Normalmente, parte de una o más de la corriente de extracto de la primera zona, la corriente de refinado de la primera zona, la corriente de extracto de la segunda zona y la corriente de refinado de la segunda zona se recirculan de nuevo a la misma zona, normalmente a una columna adyacente en la misma zona.

Esta recirculación es diferente de la alimentación de una corriente de extracto o de refinado a una columna no adyacente en otra zona. Más bien, la recirculación implica alimentar parte de la corriente de extracto o de refinado fuera de una zona de nuevo a la misma zona, normalmente a una columna adyacente en la misma zona.

La tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto o de refinado de la primera o segunda zonas se

recircula de nuevo a la misma zona es la tasa a la que el líquido recogido mediante esa corriente se alimenta de nuevo a la misma zona, normalmente a una columna adyacente en la misma zona. Esto puede observarse con referencia a la Figura 9. La tasa de recirculación de extracto en la primera zona es la tasa a la que el extracto recogido del fondo de la columna 2 se alimenta a la cabeza de la columna 3, es decir, la velocidad de flujo del líquido en la cabeza de la columna 3. La tasa de recirculación de extracto en la segunda zona es la tasa a la que el extracto recogido en el fondo de la columna 10 se alimenta a la cabeza de la columna 11, es decir, la velocidad de flujo del líquido en la cabeza de la columna 11.

La recirculación de las corrientes de extracto y/o de refinado normalmente se efectúa alimentando el líquido recogido mediante esa corriente a un recipiente, y luego bombeando una cantidad de ese líquido del recipiente de nuevo a la misma zona. En este caso, la tasa de recirculación de líquido recogida mediante una corriente de extracto o de refinado particular, normalmente de nuevo a una columna adyacente en la misma zona, es la tasa a la que el líquido se bombea fuera del recipiente de nuevo a la misma zona, normalmente a una columna adyacente.

Como apreciará el experto, la cantidad de líquido que se introduce en una zona mediante las corrientes de eluyente y de materia prima se equilibra con la cantidad de líquido extraída de una zona, y se recircula de nuevo a la misma zona. Así, con referencia a la Figura 9, para la corriente de extracto, la velocidad de flujo de eluyente (desorbente) en la primera o segunda zona (D) es igual a la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto de esa zona se acumula en un recipiente (E1/E2) sumada a la tasa a la que el extracto se recircula de nuevo a la misma zona (D-E1/D-E2). Para la corriente de refinado en una zona, la tasa a la que el extracto se recircula de nuevo a una zona (D-E1/D-E2) sumada a la tasa a la que la materia prima se introduce en una zona (F/R1) es igual a la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de refinado de esa zona se acumula en un recipiente (R1/R2) añadida a la tasa a la que el refinado se recircula de nuevo a la misma zona (D+F-E1-R1/D+R1-E2-R2).

La tasa a la que el líquido recogido de una corriente de extracto o de refinado particular de una zona se acumula en un recipiente también puede considerarse como la tasa neta de extracción de esa corriente de extracto o de refinado de esa zona.

Normalmente, la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto fuera de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona se diferencia de la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto fuera de la segunda zona se recircula de nuevo a la segunda zona, y/o la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de refinado fuera de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona se diferencia de la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de refinado fuera de la segunda zona se recircula de nuevo a la segunda zona.

El variar la tasa a la que el líquido recogido mediante las corrientes de extracto y/o de refinado en cada zona se recircula de nuevo a la misma zona tiene el efecto de variar la cantidad de componentes más polares y menos polares presentes en las otras corrientes de extracto y de refinado. Así, por ejemplo, una menor tasa de recirculación de extracto produce menos de los componentes menos polares en esa zona que se llevan a la corriente de refinado en esa zona. Una mayor tasa de recirculación de extracto produce más de los componentes menos polares en esa zona que se llevan a la corriente de refinado en esa zona. Esto puede observarse, por ejemplo, en la realización específica de la invención mostrada en la Figura 6. La tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto en la primera zona se recircula de nuevo a la misma zona (D-E1) afectará a qué grado cualquiera del componente A se lleva a la corriente de refinado en la primera zona (R1).

Normalmente, la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona es más rápida que la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto de la segunda zona se recircula de nuevo a la segunda zona. Preferentemente, una corriente de refinado que contiene el producto de PUFA 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 la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona es más rápida que la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto de la segunda zona se recircula de nuevo a la segunda zona.

Alternativamente, la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona es más lenta que la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto de la segunda zona se recircula de nuevo a la segunda zona.

Normalmente, la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de refinado de la segunda zona se recircula de nuevo a la segunda zona es más rápida que la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de refinado de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona. Preferentemente, una corriente de extracto que contiene el producto de PUFA junto con componentes menos polares se recoge de una columna en la segunda zona y se introduce a una columna no adyacente en la primera zona, y la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de refinado de la segunda zona se recircula de nuevo a la segunda zona es más rápida que la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de refinado de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona.

Alternativamente, la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de refinado de la segunda zona se

recircula de nuevo a la segunda zona es más lenta que la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de refinado de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona.

El tiempo de etapa, 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 descarga de las fracciones recogidas, no está particularmente limitado, y dependerá del número y dimensiones de las columnas usadas, y la velocidad de flujo a través del aparato. Un experto sería fácilmente capaz de determinar tiempos de etapa apropiados para usar en el proceso de la presente invención. El tiempo de etapa normalmente es de 100 a 1000 segundos, preferentemente de 200 a 800 segundos, más preferentemente de aproximadamente 250 a aproximadamente 750 segundos. En algunas realizaciones es apropiado un tiempo de etapa de 100 a 400 segundos, preferentemente 200 a 300 segundos, más preferentemente aproximadamente 250 segundos. En otras realizaciones es apropiado un tiempo de etapa de 600 a 900 segundos, preferentemente 700 a 800 segundos, más preferentemente aproximadamente 750 segundos.

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

Pueden usarse adsorbentes convencionales conocidos en la técnica para los sistemas de lecho móvil real y simulado en el proceso de la presente invención. Cada columna cromatográfica puede contener el mismo adsorbente o un adsorbente diferente. Normalmente, cada columna contiene el mismo adsorbente. Ejemplos de tales materiales comúnmente usados son perlas poliméricas, preferentemente poliestireno reticulado con DVB (divinilbenceno); y gel de sílice, preferentemente gel de sílice unido a fase inversa con alcanos C8 o C18, especialmente C18. Se prefiere gel de sílice de fase inversa unida a C18. El adsorbente usado en el proceso de la presente invención es preferentemente apolar.

La forma del material de la fase estacionaria adsorbente puede ser, por ejemplo, perlas esféricas o no esféricas, preferentemente perlas sustancialmente esféricas. Tales perlas tienen normalmente un diámetro de 5 a 500 micrómetros, preferentemente 10 a 500 micrómetros, más preferentemente 15 a 500 micrómetros, más preferentemente 40 a 500 micrómetros, más preferentemente 100 a 500 micrómetros, más preferentemente 250 a 500 micrómetros, incluso más preferentemente 250 a 400 micrómetros, lo más preferentemente 250 a 350 micrómetros. En algunas realizaciones pueden usarse perlas con un diámetro de 5 a 35 micrómetros, normalmente 10 a 30 micrómetros, preferentemente 15 a 25 micrómetros. Algunos tamaños de partícula preferidos son algo mayores que los tamaños de partícula de perlas usados en el pasado en procesos de lecho móvil simulado y real. El uso de mayores partículas permite una menor presión del eluyente que van a usarse en el sistema. Esto, a su vez, tiene ventajas en términos de ahorros de costes, eficiencia y vida útil del aparato. Se ha descubierto de manera sorprendente que las perlas adsorbentes de gran tamaño de partícula pueden usarse en el proceso de la presente invención (con sus ventajas asociadas) sin ninguna pérdida en resolución.

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

El eluyente usado en el proceso de la presente invención es un disolvente orgánico acuoso distinto de alcohol acuoso.

El disolvente orgánico acuoso normalmente comprende agua y uno o más éteres, ésteres, cetonas o nitrilos, o mezclas de los mismos.

Los disolventes de éter son muy conocidos para el experto en la materia. Los éteres normalmente son éteres de cadena corta. Los éteres son normalmente de fórmula R-O-R' en la que R y R' son iguales o diferentes y representan un grupo alquilo C_1-C_6 lineal o ramificado. El grupo alquilo C_1-C_6 está preferentemente sin sustituir. Éteres preferidos incluyen éter dietílico, éter diisopropílico y metil t-butil éter (MTBE).

Los disolventes de éster son muy conocidos para el experto en la materia. Los ésteres normalmente son ésteres de cadena corta. Los ésteres son normalmente de fórmula R-(C=O)O-R' en la que R y R' son iguales o diferentes y representan un grupo alquilo C_1-C_6 lineal o ramificado. Ésteres preferidos incluyen acetato de metilo y acetato de etilo.

Los disolventes de cetona son muy conocidos para el experto en la materia. Las cetonas normalmente son cetonas de cadena corta. Las cetonas son normalmente de fórmula R-(C=O)-R' en la que R y R' son iguales o diferentes y representan un grupo alquilo C_1-C_6 lineal o ramificado. El grupo alquilo C_1-C_6 está preferentemente sin sustituir. Cetonas preferidas incluyen acetona, metiletilcetona y metilisobutilcetona (MIBK).

Los disolventes de nitrilo son muy conocidos para el experto en la materia. Los nitrilos normalmente son nitrilos de cadena corta. Los nitrilos normalmente son de fórmula R-CN en la que R representa un grupo alquilo C_1-C_6 lineal o ramificado. El grupo alquilo C_1-C_6 está preferentemente sin sustituir. Nitrilos preferidos incluyen acetonitrilo.

El disolvente orgánico acuoso es preferentemente acetonitrilo acuoso.

Cuando el disolvente orgánico acuoso es acetonitrilo acuoso, el eluyente normalmente contiene hasta el 30 % en peso de agua, el resto acetonitrilo. Preferentemente, el eluyente contiene del 5 al 25 % en peso de agua, el resto acetonitrilo. Más preferentemente, el eluyente contiene del 10 al 20 % en peso de agua, el resto acetonitrilo. Incluso más preferentemente, el eluyente contiene del 15 al 25 % en peso de agua, el resto acetonitrilo.

El alcohol acuoso normalmente comprende agua y uno o más alcoholes de cadena corta. El alcohol de cadena corta normalmente tiene de 1 a 6 átomos de carbono. Ejemplos de alcoholes incluyen metanol, etanol, n-propanol, i-propanol, n-butanol, i-butanol, s-butanol y t-butanol.

Normalmente, el eluyente no está en un estado supercrítico. Normalmente, el eluyente es un líquido.

Normalmente, la relación promedio de agua:disolvente orgánico del eluyente en el aparato entero es de 0,1:99,9 a 30:70 partes en volumen, preferentemente 0,1:99,9 a 9:91 partes en volumen, más preferentemente de 0,25:99,75 a 7:93 partes en volumen, incluso más preferentemente de 0,5:99,5 a 6:94 partes en volumen.

La potencia eluyente del eluyente en cada una de las zonas normalmente es diferente. Preferentemente, la potencia eluyente del eluyente en la primera zona es mayor que la del eluyente en la segunda zona y posteriores. En la práctica, esto se logra variando las cantidades relativas de agua y disolvente orgánico en cada zona. Dependiendo de la elección del disolvente orgánico, pueden ser desorbentes más poderosos que el agua. Alternativamente, pueden ser desorbentes menos poderosos que el agua. El acetonitrilo, por ejemplo, es un desorbente más poderoso que el agua. Así, cuando el disolvente orgánico acuoso es acetonitrilo, la cantidad de acetonitrilo en el eluyente en la primera zona normalmente es mayor que la cantidad de acetonitrilo en el eluyente de la segunda zona y posteriores.

En realizaciones en las que el disolvente orgánico acuoso presente en cada zona tiene un contenido de agua:disolvente orgánico diferente, la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en la primera zona normalmente es de 5:95 a 25:75 partes en volumen, preferentemente 10:90 a 15:85 partes en volumen. Alternativamente, la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en la primera zona puede ser 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:disolvente orgánico del eluyente en la segunda zona normalmente es de 10:90 a 30:70 partes en volumen, preferentemente 15:85 a 20:80 partes en volumen. Alternativamente, la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en la segunda zona puede ser 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.

En una realización particularmente preferida en la que el disolvente orgánico acuoso presente en cada zona tiene un contenido de agua:disolvente orgánico diferente, la relación de agua:disolvente orgánico 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:disolvente orgánico del eluyente en la segunda zona es de 4,5:95:5 a 5,5:94,5 partes en volumen.

En realizaciones en las que la tasa a la que el líquido recogido mediante las corrientes de extracto y de refinado en cada zona se recircula de nuevo a la misma zona se ajusta de forma que el producto de PUFA pueda separarse de diferentes componentes de la mezcla de alimentación en cada zona, la relación de agua:disolvente orgánico de los eluyentes en cada zona puede ser igual o diferente. Normalmente, la relación de agua:disolvente orgánico 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:disolvente orgánico del eluyente en la primera zona es inferior a la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en la segunda zona. En otra realización, la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en la primera zona es superior a la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en la segunda zona. En otra realización, la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en la primera zona es la misma que la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en la segunda zona.

Se apreciará que las relaciones de agua y disolvente orgánico en cada zona citada anteriormente son relaciones promedio dentro de la totalidad de la zona.

Normalmente, la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en cada zona se controla introduciendo agua y/o disolvente orgánico en una o más columnas en las zonas. Así, por ejemplo, para lograr una menor relación de agua:disolvente orgánico en la primera zona que en la segunda zona, normalmente se introduce agua más lentamente en la primera zona que en la segunda zona. En algunas realizaciones, pueden introducirse disolvente orgánico esencialmente puro y agua esencialmente pura en los diferentes puntos en cada zona. Las velocidades de flujo relativas de estas dos corrientes determinarán el perfil del disolvente global a través de la zona. En otras realizaciones, pueden introducirse diferentes mezclas de disolvente orgánico/agua en los diferentes puntos en cada zona. Esto implicará introducir dos o más mezclas de disolvente orgánico/agua diferentes en la zona, teniendo cada mezcla de disolvente orgánico/agua una relación de disolvente orgánico:agua diferente. Las velocidades de flujo relativas y las concentraciones relativas de las mezclas de disolvente orgánico/agua en esta realización determinarán el perfil del disolvente global a través de la zona. En otras realizaciones en las que la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en cada zona es la misma, se introduce la misma mezcla de disolvente

orgánico/agua a cada zona.

Normalmente, el proceso de la presente invención se realiza a de 15 a 55 ºC, preferentemente a de 20 a 40 ºC, más preferentemente a aproximadamente 30 ºC. Así, el proceso normalmente se lleva a cabo a temperatura ambiente, pero puede realizarse a temperaturas elevadas.

El proceso de la presente invención implica introducir una corriente de alimentación en una zona (por ejemplo, la primera zona), recoger una primera corriente intermedia enriquecida en el producto de PUFA e introducir la primera corriente intermedia a otra zona (por ejemplo, la segunda zona). Así, cuando el aparato tiene dos zonas, el proceso implica o bien (a) recoger una primera corriente intermedia de la primera zona e introducirla en la segunda zona, o bien (b) recoger una primera corriente intermedia de la segunda zona e introducirla en la primera zona. De esta forma, el producto de PUFA puede separarse de tanto los componentes más como menos polares en un único proceso.

O bien (a) una corriente de refinado que contiene el producto de PUFA 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, o bien (b) una corriente de extracto que contiene el producto de PUFA junto con componentes menos polares se recoge de una columna en la segunda zona y se introduce a una columna no adyacente en la primera zona.

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

(i) introducir la mezcla de alimentación en la primera zona, y extraer una primera corriente de refinado enriquecida en el producto de PUFA y una primera corriente de extracto agotada en el producto de PUFA, y
(ii) introducir la primera corriente de refinado en la segunda zona, extraer una segunda corriente de refinado agotada en el producto de PUFA, y recoger una segunda corriente de extracto para obtener el producto de PUFA.

Esta realización particularmente preferida es adecuada para purificar EPA de una mezcla de alimentación.

Esta realización particularmente preferida se ilustra en la Figura 2. Una mezcla de alimentación F que comprende el producto de PUFA (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 extraen como la corriente de extracto E1. El producto de PUFA (B) y los componentes más polares (C) se extraen como la corriente de refinado R1. A continuación, la corriente de refinado R1 se introduce en la segunda zona. En la segunda zona, los componentes más polares (C) se extraen como la corriente de refinado R2. El producto de PUFA (B) se recoge como la corriente de extracto E2.

Esta realización se ilustra en más detalle en la Figura 4. La Figura 4 es idéntica a la Figura 2, excepto que se muestran los puntos de introducción del desorbente de disolvente orgánico (D) y el agua (W) en cada zona. El desorbente de disolvente orgánico (D) y el agua (W) constituyen juntos el eluyente. La fase (D) normalmente es disolvente orgánico esencialmente puro, pero, en ciertas realizaciones, puede ser una mezcla de disolvente orgánico/agua que comprende principalmente disolvente orgánico. La fase (W) normalmente es agua esencialmente pura, pero, en ciertas realizaciones, puede ser una mezcla de disolvente orgánico/agua que comprende principalmente agua, por ejemplo, una mezcla de 98 % de agua/2 % de acetonitrilo.

Otra ilustración de esta realización particularmente preferida se muestra en la Figura 6. Aquí no hay punto de inyección de agua separado, y en su lugar se inyecta un desorbente de disolvente orgánico acuoso en (D).

La separación en corriente de refinado y de extracto puede ayudarse variando la potencia desorbente del eluyente dentro de cada zona. Esto puede lograrse introduciendo el componente de disolvente orgánico (o rico en disolvente orgánico) del eluyente y el componente de agua (o rico en agua) en los diferentes puntos en cada zona. Así, normalmente, el disolvente orgánico se introduce aguas arriba del punto de descarga del extracto y el agua se introduce entre el punto de descarga del extracto y el punto de introducción de la alimentación en la zona, con respecto al flujo de eluyente en el sistema. Esto se muestra en la Figura 4.

Alternativamente, la separación puede ayudarse variando las tasas a las que el líquido recogido mediante las corrientes de extracto y de refinado de las dos zonas se recircula de nuevo a la misma zona.

Normalmente, en esta realización particularmente preferida, la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona es más rápida que la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto de la segunda zona se recircula de nuevo a la segunda zona; o la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en la primera zona es inferior a aquella en la segunda zona.

En esta realización particularmente preferida, la primera corriente de refinado en la primera zona normalmente se extrae 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.

En esta realización particularmente preferida, la primera corriente de extracto en la primera zona normalmente se extrae 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.

En esta realización particularmente preferida, la segunda corriente de refinado en la segunda zona normalmente se extrae 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.

En esta realización particularmente preferida, la segunda corriente de extracto en la segunda zona se recoge normalmente 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.

Normalmente, en esta realización particularmente preferida, el disolvente orgánico o disolvente orgánico acuoso se introduce en la primera zona aguas arriba del punto de extracción de la primera corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la primera zona.

Normalmente, en esta realización particularmente preferida, cuando se introduce agua 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 extracción de la primera corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la primera zona.

Normalmente, en esta realización particularmente preferida, el disolvente orgánico o disolvente orgánico acuoso se introduce en la segunda zona aguas arriba del punto de extracción de la segunda corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la segunda zona.

Normalmente, en esta realización particularmente preferida, cuando se introduce agua 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 extracción de la segunda corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la segunda zona.

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

(i) introducir la mezcla de alimentación en la segunda zona, y extraer una primera corriente de refinado agotada en el producto de PUFA y una primera corriente de extracto enriquecida en el producto de PUFA, y
(ii) introducir la primera corriente de extracto en la primera zona, extraer una segunda corriente de extracto agotada en el producto de PUFA, y recoger una segunda corriente de refinado para obtener el producto de PUFA.

Esta realización particularmente preferida es adecuada para purificar DHA de una mezcla de alimentación.

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

Esta realización se ilustra en más detalle en la Figura 5. La Figura 5 es idéntica a la Figura 3, excepto que se muestran los puntos de introducción del desorbente de disolvente orgánico (D) y el agua (W) en cada zona. Como antes, la fase (D) normalmente es disolvente orgánico esencialmente puro, pero, en ciertas realizaciones, puede ser una mezcla de disolvente orgánico/agua que comprende principalmente disolvente orgánico. La fase (W) normalmente es agua esencialmente pura, pero, en ciertas realizaciones, puede ser una mezcla de disolvente orgánico/agua que comprende principalmente agua, por ejemplo una mezcla de 98 % de agua/2 % de acetonitrilo.

Otra ilustración de esta realización particularmente preferida se muestra en la Figura 7. Aquí no hay punto de inyección de agua separado, y en su lugar se inyecta un desorbente de disolvente orgánico acuoso en (D).

Normalmente, en esta realización, la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de refinado de la segunda zona se reintroduce en la segunda zona es más rápida que la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de refinado de la primera zona se reintroduce en la primera zona; o la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en la primera zona es inferior a aquella en la segunda zona.

En esta segunda realización particularmente preferida, la primera corriente de refinado en la segunda zona normalmente se extrae 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 particularmente preferida, la primera corriente de extracto en la segunda zona se recoge normalmente 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 particularmente preferida, la segunda corriente de refinado en la primera zona se recoge normalmente 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 particularmente preferida, la segunda corriente de extracto en la primera zona normalmente se extrae 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.

Normalmente, en esta segunda realización particularmente preferida, el disolvente orgánico o disolvente orgánico acuoso se introduce en la segunda zona aguas arriba del punto de extracción de la primera corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la segunda zona.

Normalmente, en esta segunda realización particularmente preferida, 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 extracción de la primera corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la segunda zona.

Normalmente, en esta segunda realización particularmente preferida, el disolvente orgánico o disolvente orgánico acuoso se introduce en la primera zona aguas arriba del punto de extracción de la segunda corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la primera zona.

Normalmente, en esta segunda realización particularmente preferida, 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 extracción de la segunda corriente de extracto, con respecto al flujo de eluyente en la primera zona.

En una realización preferida de la invención, el aparato de cromatografía en lecho simulado o real consiste en quince columnas cromatográficas. Éstas se denominan columnas 1 a 15. Las quince columnas están dispuestas en serie de manera que el fondo de la columna 1 está conectado a la cabeza de la columna 2, el fondo de la columna 2 está conectado a la cabeza de la columna 3, etc. Esto puede ser opcionalmente mediante un recipiente de almacenamiento, con una corriente de recirculación a la siguiente columna. El flujo de eluyente a través del sistema es de la columna 1 a la columna 2 a la columna 3, etc. El flujo de adsorbente a través del sistema es de la columna 15 a la columna 14 a la columna 13, etc.

En una realización más preferida, la primera zona normalmente consiste en ocho columnas adyacentes, columnas 1 a 8, que están conectadas como se ha tratado anteriormente. En esta realización más preferida, la segunda zona normalmente consiste en siete columnas, columnas 9 a 15, que están conectadas como se ha tratado anteriormente. Para evitar dudas, el fondo de la columna 8 en la primera zona está conectado a la cabeza de la columna 9 en la segunda zona.

Una realización más preferida se ilustra en la Figura 8. Una mezcla de alimentación F que comprende el producto de PUFA (B) y los componentes más polares (C) y menos polares (A) se introduce en la cabeza de la columna 5 en la primera zona. Se introduce desorbente de disolvente orgánico en la cabeza de la columna 1 en la primera zona. Se introduce agua en la cabeza de la columna 4 en la primera zona. En la primera zona, los componentes menos polares (A) se extraen como la corriente de extracto E1 del fondo de la columna 2. El producto de PUFA (B) y los componentes más polares (C) se extraen como la corriente de refinado R1 del fondo de la columna 7. A continuación, la corriente de refinado R1 se introduce en la segunda zona en la cabeza de la columna 13. Se introduce desorbente de disolvente orgánico en la cabeza de la columna 9 en la segunda zona. Se introduce agua en la cabeza de la columna 12 en la segunda zona. En la segunda zona, los componentes más polares (C) se extraen como la corriente de refinado R2 en el fondo de la columna 15. El producto de PUFA (B) se recoge como la corriente de extracto E2 en el fondo de la columna 10.

En esta realización más preferida, el disolvente orgánico normalmente se introduce en la cabeza de la columna 1 en la primera zona.

En esta realización más preferida, el agua se introduce normalmente en la cabeza de la columna 4 en la primera zona.

En esta realización más preferida, el disolvente orgánico se introduce normalmente en la cabeza de la columna 9 en la segunda zona.

En esta realización más preferida, el disolvente orgánico se introduce normalmente en la cabeza de la columna 12

en la segunda zona.

En esta realización más preferida, la corriente de alimentación se introduce normalmente en la cabeza de la columna 5 en la primera zona.

En esta realización más preferida, una primera corriente de refinado se recoge normalmente del fondo de la columna 7 en la primera zona y se introduce en la cabeza de la columna 13 en la segunda zona. La primera corriente de refinado puede recogerse opcionalmente en un recipiente antes de introducirse en la columna 13.

En esta realización más preferida, una primera corriente de extracto normalmente se extrae del fondo de la columna 2 en la primera zona. La primera corriente de extracto puede recogerse opcionalmente en un recipiente y reintroducirse en la cabeza de la columna 3 en la primera zona.

En esta realización más preferida, una segunda corriente de refinado normalmente se extrae del fondo de la columna 15 en la segunda zona.

En esta realización más preferida, una segunda corriente de extracto se recoge normalmente del fondo de la columna 10 en la segunda zona. Esta segunda corriente de extracto normalmente contiene el producto de PUFA purificado. La segunda corriente de extracto puede recogerse opcionalmente en un recipiente y reintroducirse en la cabeza de la columna 11 en la segunda zona.

Normalmente, en esta realización más preferida, la relación de agua:disolvente orgánico en la primera zona es inferior a la relación de agua:disolvente orgánico en la segunda zona.

Otra realización más preferida se ilustra en la Figura 9. Una mezcla de alimentación F que comprende el producto de PUFA (B) y los componentes más polares (C) y menos polares (A) se introduce en la cabeza de la columna 5 en la primera zona. Se introduce desorbente de disolvente orgánico acuoso en la cabeza de la columna 1 en la primera zona. En la primera zona, los componentes menos polares (A) se extraen como la corriente de extracto E1 del fondo de la columna 2. El producto de PUFA (B) y los componentes más polares (C) se extraen como la corriente de refinado R1 del fondo de la columna 7. A continuación, se introduce la corriente de refinado R1 en la segunda zona en la cabeza de la columna 12. Se introduce desorbente de disolvente orgánico acuoso en la cabeza de la columna 9 en la segunda zona. En la segunda zona, los componentes más polares (C) se extraen como la corriente de refinado R2 en el fondo de la columna 14. El producto de PUFA (B) se recoge como la corriente de extracto E2 en el fondo de la columna 10.

En esta realización más preferida, el disolvente orgánico acuoso se introduce normalmente en la cabeza de la columna 1 en la primera zona.

En esta realización más preferida, el disolvente orgánico acuoso se introduce normalmente en la cabeza de la columna 9 en la segunda zona.

En esta realización más preferida, la corriente de alimentación se introduce normalmente en la cabeza de la columna 5 en la primera zona.

En esta realización más preferida, una primera corriente de refinado se recoge normalmente del fondo de la columna 7 en la primera zona y se introduce en la cabeza de la columna 12 en la segunda zona. La primera corriente de refinado puede recogerse opcionalmente en un recipiente antes de introducirse en la columna 12.

En esta realización más preferida, una primera corriente de extracto normalmente se extrae del fondo de la columna 2 en la primera zona. La primera corriente de extracto puede recogerse opcionalmente en un recipiente y una porción se reintroduce en la cabeza de la columna 3 en la primera zona. La tasa de recirculación de líquido recogido mediante la corriente de extracto de la primera zona de nuevo a la primera zona es la tasa a la que el líquido se bombea de este recipiente a la cabeza de la columna 3.

En esta realización más preferida, una segunda corriente de refinado normalmente se extrae del fondo de la columna 14 en la segunda zona.

En esta realización más preferida, una segunda corriente de extracto se recoge normalmente del fondo de la columna 10 en la segunda zona. Esta segunda corriente de extracto normalmente contiene el producto de PUFA purificado. La segunda corriente de extracto puede recogerse opcionalmente en un recipiente y una porción se reintroduce en la cabeza de la columna 11 en la segunda zona. La tasa de recirculación de líquido recogido mediante la corriente de extracto de la segunda zona de nuevo a la segunda zona es la tasa a la que el líquido se bombea de este recipiente a la cabeza de la columna 11.

En esta realización más preferida, la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona es normalmente más rápida que la tasa a la que el líquido recogido

mediante la corriente de extracto de la segunda zona se recircula de nuevo a la segunda zona.

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

En otra realización preferida de la invención, el aparato de cromatografía en lecho simulado o real consiste en diecinueve columnas cromatográficas. Éstas se denominan las columnas 1 a 19. Las quince columnas están dispuestas en serie de manera que el fondo de la columna 1 está conectado a la cabeza de la columna 2, el fondo de la columna 2 está conectado a la cabeza de la columna 3, etc. El flujo de eluyente a través del sistema es de la columna 1 a la columna 2 a la columna 3, etc. El flujo de adsorbente a través del sistema es de la columna 19 a la columna 18 a la columna 17, etc.

En esta realización, la primera zona normalmente consiste en diez columnas adyacentes, columnas 1 a 10, que están conectadas como se ha tratado anteriormente. La segunda zona normalmente consiste en ocho columnas, columnas 11 a 19, que están conectadas como se ha tratado anteriormente.

Esta realización adicionalmente preferida se ilustra en la Figura 10. Una mezcla de alimentación F que comprende el producto de PUFA (B) y componentes más polares (C) y menos polares (A y A') se introduce en la cabeza de la columna 7 en la primera zona. Un primer desorbente (D1) que comprende 100 % de disolvente orgánico se introduce en la cabeza de la columna 1 en la primera zona. Un segundo desorbente (D2) que comprende una mezcla de agua/disolvente orgánico (preferentemente 2 % de acetonitrilo y 98 % de agua) se introduce en la cabeza de la columna 5 en la primera zona. En la primera zona, los componentes menos polares (A') y (A) se extraen como las corrientes de extracto E1' y E1 de los fondos las columnas 1 y 4, respectivamente. El producto de PUFA (B) y los componentes más polares (C) se extraen como la corriente de refinado R1 del fondo de la columna 10. A continuación, la corriente de refinado R1 se introduce en la segunda zona en la cabeza de la columna 17. Un segundo desorbente (D2) que comprende una mezcla de agua/disolvente orgánico (preferentemente 2 % de acetonitrilo y 98 % de agua) se introduce en la cabeza de la columna 11 en la segunda zona. En la segunda zona, los componentes más polares (C) se extraen como la corriente de refinado R2 en el fondo de la columna 19. El producto de PUFA (B) se recoge como la corriente de extracto E2 en el fondo de la columna 14.

En esta realización preferida, el disolvente orgánico se introduce normalmente en la cabeza de la columna 1 en la primera zona.

En esta realización preferida, normalmente se introduce una mezcla de 2 % de MeCN/98 % de agua en la cabeza de la columna 5 en la primera zona.

En esta realización preferida, normalmente se introduce una mezcla de 2 % de MeCN/98 % de agua en la cabeza de la columna 11 en la segunda zona.

En esta realización preferida, la corriente de alimentación se introduce normalmente en la cabeza de la columna 7 en la primera zona.

En esta realización preferida, una primera corriente de refinado se recoge normalmente del fondo de la columna 10 en la primera zona y se introduce en la cabeza de la columna 17 en la segunda zona. La primera corriente de refinado puede recogerse opcionalmente en un recipiente antes de introducirse en la columna 17.

En esta realización preferida, las corrientes de extracto se extraen normalmente de los fondos de las columnas 1 y 4 en la primera zona. La corriente de extracto recogida del fondo o columna 4 puede recogerse opcionalmente en un recipiente y reintroducirse en la cabeza de la columna 5 en la primera zona.

En esta realización preferida, una segunda corriente de refinado se extrae normalmente del fondo de la columna 19 en la segunda zona.

En esta realización preferida, una segunda corriente de extracto se recoge normalmente del fondo de la columna 14 en la segunda zona. Esta segunda corriente de extracto normalmente contiene el producto de PUFA purificado. La segunda corriente de extracto puede recogerse opcionalmente en un recipiente y reintroducirse en la cabeza de la columna 15 en la segunda zona. Normalmente, en esta realización más preferida, la relación de agua:disolvente orgánico en la primera zona es inferior a la relación de agua:disolvente orgánico en la segunda zona.

El proceso de la invención permite lograr purezas mucho mayores del producto de PUFA que las que han sido posibles con técnicas cromatográficas convencionales. Los productos de PUFA producidos por el proceso de la invención también tienen perfiles de impurezas particularmente ventajosos, que son bastante diferentes de aquellos observados en aceites preparados por técnicas conocidas. También se describen en el presente documento composiciones que comprenden un producto de PUFA, por ejemplo, uno obtenible por el proceso de la presente invención.

En la práctica, el proceso de la presente invención se controlará generalmente por un ordenador. Por tanto, la presente invención también proporciona un programa informático para controlar un aparato cromatográfico como se define en el presente documento, conteniendo el programa informático un medio de código que cuando se ejecuta instruye al aparato a llevar a cabo el proceso de la invención.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

Ejemplos

Ejemplo de referencia 1

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

Los parámetros de operación y las velocidades de flujo son los siguientes para ocho casos diferentes. Para las condiciones a continuación, EE EPA se produce con un alto nivel de pureza (85 al 98 % de FAMES por CG). Se muestran perfiles de FAMES por CG del extracto y refinado de la zona 1, y del extracto y refinado de la zona 2 como las Figuras 11 y 12, respectivamente.

Ejemplo de referencia 1a

Tiempo de etapa: 750 s
Tiempo de ciclo: 200 min
Tasa de alimentación de materia prima (F): 70 ml/min
Tasa de alimentación del desorbente (D): 850 ml/min
Tasa de extracto: 425 ml/min
Tasa de refinado: 495 ml/min

Ejemplo de referencia 1b

Tiempo de etapa: 250 s
Tiempo de ciclo: 66,67 min
Tasa de alimentación de materia prima (F): 210 ml/min
Tasa de alimentación del desorbente (D): 2550 ml/min
Tasa de extracto: 1275 ml/min
Tasa de refinado: 1485 ml/min

Ejemplo de referencia 1c

Tiempo de etapa: 500 s
Tiempo de ciclo: 133,33 min
Tasa de alimentación de materia prima (F): 25 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D1) en la primera zona: 2050 ml/min
Tasa de acumulación en el recipiente de extracto (E1) en la primera zona: 1125 ml/min
Tasa de recirculación de extracto (D1-E1) en la primera zona: 925 ml/min
Tasa de refinado (R1) en la primera zona: 950 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D2) en la segunda zona: 1700 ml/min
Tasa de acumulación en el recipiente de extracto (E2) en la segunda zona: 900 ml/min
Tasa de recirculación de extracto (D2-E2) en la segunda zona: 800 ml/min
Tasa de refinado (R2) en la segunda zona: 800 ml/min

Ejemplo de referencia 1d

Tiempo de etapa: 250 s
Tiempo de ciclo: 66,67 min
Tasa de alimentación de materia prima (F): 50 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D1) en la primera zona: 4125 ml/min
Tasa de acumulación en el recipiente de extracto (E1) en la primera zona: 2250 ml/min
Tasa de recirculación de extracto (D1-E1) en la primera zona: 1875 ml/min
Tasa de refinado (R1) en la primera zona: 1925 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D2) en la segunda zona: 3375 ml/min
Tasa de acumulación en el recipiente de extracto (E2) en la segunda zona: 1800 ml/min
Tasa de recirculación de extracto (D2-E2) en la segunda zona: 1575 ml/min

Tasa de refinado (R2) en la segunda zona: 1575 ml/min

Ejemplo de referencia 1e

Tiempo de etapa: 500 s
Tiempo de ciclo: 133,33 min
Tasa de alimentación de materia prima (F): 50 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D1) en la primera zona: 4000 ml/min
Tasa de acumulación en el recipiente de extracto (E1) en la primera zona: 2250 ml/min
Tasa de recirculación de extracto (D1-E1) en la primera zona: 1750 ml/min
Tasa de refinado (R1) en la primera zona: 1800 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D2) en la segunda zona: 3200 ml/min
Tasa de acumulación de extracto puro (E2) en la segunda zona: 1750 ml/min
Tasa de recirculación de extracto (D2-E2) en la segunda zona: 1450 ml/min
Tasa de refinado (R2) en la segunda zona: 1450 ml/min

Ejemplo de referencia 1f

Tiempo de etapa: 250 s
Tiempo de ciclo: 66,67 min
Tasa de alimentación de materia prima (F): 100 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D1) en la primera zona: 4050 ml/min
Tasa de acumulación en el recipiente de extracto (E1) en la primera zona: 2100 ml/min
Tasa de recirculación de extracto (D1-E1) en la primera zona: 1950 ml/min
Tasa de refinado (R1) en la primera zona: 2050 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D2) en la segunda zona: 3300 ml/min
Tasa de acumulación de extracto puro (E2) en la segunda zona: 1700 ml/min
Tasa de recirculación de extracto (D2-E2) en la segunda zona: 1600 ml/min
Tasa de refinado (R2) en la segunda zona: 1600 ml/min

Ejemplo de referencia 1g

Tiempo de etapa: 500 s
Tiempo de ciclo: 133,33 min
Tasa de alimentación de materia prima (F): 25 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D1) en la primera zona: 1275 ml/min
Tasa de acumulación en el recipiente de extracto (E1) en la primera zona: 750 ml/min
Tasa de recirculación de extracto (D1-E1) en la primera zona: 550 ml/min
Tasa de refinado (R1) en la primera zona: 575 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D2) en la segunda zona: 1275 ml/min
Tasa de acumulación de extracto puro (E2) en la segunda zona: 950 ml/min
Tasa de recirculación de extracto (D2-E2) en la segunda zona: 325 ml/min
Tasa de refinado (R2) en la segunda zona: 325 ml/min

Ejemplo de referencia 1h

Tiempo de etapa: 250 s
Tiempo de ciclo: 66,67 min
Tasa de alimentación de materia prima (F): 50 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D1) en la primera zona: 2550 ml/min
Tasa de acumulación en el recipiente de extracto (E1) en la primera zona: 1500 ml/min
Tasa de recirculación de extracto (D1-E1) en la primera zona: 950 ml/min
Tasa de refinado (R1) en la primera zona: 1000 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D2) en la segunda zona: 2000 ml/min
Tasa de acumulación de extracto puro (E2) en la segunda zona: 900 ml/min
Tasa de recirculación de extracto (D2-E2) en la segunda zona: 600 ml/min
Tasa de refinado (R2) en la segunda zona: 600 ml/min

Ejemplo de referencia 2

Se fraccionó una materia prima derivada de aceite de pescado que comprendía éster etílico del ácido eicosatetraenoico (EE ETA), EE EPA, isómeros de los mismos y EE DHA usando un sistema de cromatografía en lecho móvil real usando gel de sílice unido a C18 (tamaño de partícula 40-60 µm) como fase estacionaria y metanol acuoso como eluyente según el sistema esquemáticamente ilustrado en la Figura 10. Se conectan en serie 19 columnas (diámetro: 10 mm, longitud: 250 mm) como se muestra en la Figura 10.

Los parámetros de operación y las velocidades de flujo son los siguientes.

Tiempo de ciclo: 600 s
Tasa de alimentación de materia prima (F): 0,5 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D1, 100 % de metanol) en la primera zona: 6 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D2, 99 % de metanol/1 % de agua) en la primera zona: 6 ml/min
Tasa de extracto (E1') de la primera zona: 3 ml/min
Tasa de extracto (E1) de la primera zona: 1,9 ml/min
Tasa de refinado (R1) de la primera zona: 4,6 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D2, 97 % de metanol/3 % de agua) en la segunda zona: 6 ml/min
Tasa de extracto (E2) de la segunda zona: 2,4 ml/min
Tasa de refinado (R2) de la segunda zona: 4,6 ml/min

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

Ejemplo de referencia 3

Se fraccionó una materia prima derivada de aceite de pescado (55 % en peso de EE EPA, 5 % en peso de EE DHA) usando un sistema de cromatografía en lecho móvil real usando gel de sílice unido a C18 (tamaño de partícula 300 µm, porosidad de partícula 150 angstroms) como fase estacionaria y metanol acuoso como eluyente según el sistema esquemáticamente ilustrado en la Figura 8. Se conectan en serie 15 columnas (diámetro: 10 mm, longitud: 250 mm) como se muestra en la Figura 8.

Los parámetros de operación y las velocidades de flujo son los siguientes.

Tiempo de ciclo: 380 s
Tasa de alimentación de materia prima (F): 0,5 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D, 98,5 % de metanol/1,5 % de agua) en la primera zona: 9 ml/min
Tasa de alimentación de fase rica en agua (W, 85 % de metanol/15 % de agua) en la primera zona: 3,1 ml/min
Tasa de extracto (E1) de la primera zona: 4 ml/min
Tasa de refinado (R1) de la primera zona: 8,6 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D, 97 % de metanol/3 % de agua) en la segunda zona: 10,8 ml/min
Tasa de alimentación de fase rica en agua (W, 85 % de metanol/15 % de agua) en la segunda zona: 3,1 ml/min
Tasa de extracto (E2) de la segunda zona: 4,1 ml/min
Tasa de refinado (R2) de la segunda zona: 10,3 ml/min

Se produjo EE EPA con un alto nivel de pureza (>95 % de pureza). Un perfil de CG del producto se muestra como la Figura 13

Ejemplo de referencia 4

Se fracciona una materia prima derivada de aceite de pescado (70 % en peso de EE DHA, 7 % en peso de EE EPA) usando un sistema de cromatografía en lecho móvil real usando gel de sílice unido a C18 (tamaño de partícula 300 µm) como fase estacionaria y metanol acuoso como eluyente según el sistema esquemáticamente ilustrado en la Figura 8. Se conectan en serie 15 columnas (diámetro: 76,29 mm, longitud: 914,40 mm) como se muestra en la Figura 8.

Los parámetros de operación y las velocidades de flujo son los siguientes.

Tiempo de etapa: 600 s
Tiempo de ciclo: 160 min
Tasa de alimentación de materia prima (F): 25 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D1) en la primera zona: 2062,5 ml/min
Tasa de extracto (E1) en la primera zona: 900 ml/min
Tasa de refinado (R1) en la primera zona: 1187,5 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D2) en la segunda zona: 1500 ml/min
Tasa de extracto (E2) en la segunda zona: 450 ml/min
Tasa de refinado (R2) en la segunda zona: 1050 ml/min

Se produce EE DHA con un alto nivel de pureza (>97 % de FAMES por GC). Un perfil de FAMES por CG del extracto de la zona 2 se muestra como Figura 14.

Ejemplo de referencia 5

Se fracciona una materia prima derivada de aceite de pescado (33 % en peso de EE EPA, 22 % en peso de EE

DHA) usando un sistema de cromatografía en lecho móvil real usando gel de sílice unido a C18 (tamaño de partícula 300 µm) como fase estacionaria y metanol acuoso como eluyente según el sistema esquemáticamente ilustrado en la Figura 8. Se conectan en serie 15 columnas (diámetro: 76,29 mm, longitud: 914,40 mm) como se muestra en la Figura 8.

Los parámetros de operación y las velocidades de flujo son los siguientes.

Tiempo de etapa: 380 s
Tiempo de ciclo: 101,33 min
Tasa de alimentación de materia prima (F): 40 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D1) en la primera zona: 1950 ml/min
Tasa de extracto (E1) en la primera zona: 825 ml/min
Tasa de refinado (R1) en la primera zona: 1165 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D2) en la segunda zona: 1425 ml/min
Tasa de extracto (E2) en la segunda zona: 787,5 ml/min
Tasa de refinado (R2) en la segunda zona: 637,5 ml/min

Se produce una mezcla de EE EPA y EE DHA con un alto nivel de pureza (>80 % de EE EPA y EE DHA total).

Ejemplo de referencia 6

Se llevó a cabo un experimento para comparar la cantidad de contaminantes medioambientales presentes en dos productos de PUFA producidos por SMB con aceites similares preparados por destilación. Los perfiles de los contaminantes de los aceites se muestran en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1

Parámetro	**Especificación de liberación**	**Aceite destilado [1]**	**Aceite destilado [2]**	**Producto de PUFA producido por SMB [1]**	**Producto de PUFA producido por SMB [2]**
Hidrocarburos poliaromáticos (PAH) (µg/kg) Benzo(a)pireno	NMT 2.0	0,90	0,90	<0,05	<0,05
Impurezas Dioxinas y furanos PCDD y PCDF[1)] *(pg OMS-PCDD/F-TEQ/g)*	NMT 2.0	0,46	0,37	0,2	0,184
PCB *(mg/kg)*	NMT 0.09	0,0037	0,0103	0.0007	0,0012
Suma de dioxinas, furanos y PCB[2)] similares a dioxina *(pg OMS-PCDD/F-PCB-TEQ/g)*	NMT 10.0	1,03	0,466	0,30	0,298

1) Los límites de dioxina incluyen la suma de dibenceno-para-dioxinas policloradas (PCDD) y dibenzofuranos policlorados (PCDF) y expresados en equivalentes tóxicos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) usando factores equivalentes tóxicos (TEF) de la OMS. Esto significa que los resultados analíticos referentes a 17 congéneres de dioxina individuales de importancia toxicológica se expresan en una única unidad cuantificable: TCDD concentración equivalente tóxica o TEQ
2) El máximo para dioxina y furano permanece en 2 pg/g

Ejemplo de referencia 7

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

Un perfil de CG del aceite rico en DHA preparado por SMB se muestra como Figura 14. No hay pruebas de impurezas isoméricas en el perfil de CG.

Un perfil de CG del aceite preparado por destilación se muestra como Figura 15. Los cuatro picos con tiempos de elución más largos que el pico de DHA se corresponden con isómeros de DHA. Del perfil de CG puede observarse

que el aceite preparado por destilación contiene aproximadamente 1,5 % en peso de impurezas isoméricas.

Ejemplo de referencia 8

Se compararon dos productos ricos en EPA producidos por SMB con aceites ricos en EPA producidos por destilación. El análisis del % en peso de sus PUFA componentes se muestra a continuación.

Ácido graso	Producto de PUFA producido por SMB [1]	Producto de PUFA producido por SMB [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	<LOD	0,34	< LOD
C18:3 n-3	< LOD	0,28	0,24	< LOD
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	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
C22:5 n-3	0,32	<LOD	< LOD	< LOD
Omega-3 total	99,27	97,97	98,94	98,86
C18:3n-6	< LOD	< LOD	0,05	< LOD
C20:3 n-6	< LOD	< LOD	0,13	0,11
C20:4 n-6	< LOD	0,21	0,26	0,37
Omega-6 total	< LOD	0,21	0,44	0,48

Ejemplo de referencia 9

Se comparó un producto rico en EPA/DHA producido por SMB con un aceite rico en EPA/DHA producido por destilación. El análisis del % en peso de sus PUFA componentes se muestra a continuación.

Ácido graso	**Máx. éster etílico omega (90 ésteres etílicos omega-3) % de área**	**Éster etílico destilado (90 ésteres etílicos omega-3[1]) % de área**
EPA (C20:5n-3)	53,3	46,6
DHA (C22:6n-3)	32,9	38,2
EPA + DHA TOTAL	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
Omega-3 total	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
Omega-6 total	2,8	4,1

Ejemplo de referencia 10

Se fraccionó una materia prima derivada de aceite de pescado (55 % en peso de EE EPA, 5 % en peso de EE DHA) usando un sistema de cromatografía en lecho fijo sobre una única columna cromatográfica (diámetro 30 cm, longitud 60 cm) rellena con gel de sílice con C18 (tamaño de partícula 20 micrómetros, porosidad de partícula 60 angstroms) como fase estacionaria y acetonitrilo acuoso (19 % en peso de agua, 81 % en peso de acetonitrilo) como eluyente. Se purificaron 900 ml de materia prima usando 22 l de eluyente, que se pasó a través de la columna a una velocidad de flujo de 2200 ml/min.

Un perfil de FAMES por CG de la fracción de EPA recogida se muestra como Figura 16.

Ejemplo 1

Se fracciona una materia prima derivada de aceite de pescado (55 % en peso de EE EPA, 5 % en peso de EE DHA) usando un sistema de cromatografía en lecho móvil real usando gel de sílice unido a C18 (tamaño de partícula 300

micrómetros, porosidad de partícula 150 angstroms) como fase estacionaria y acetonitrilo acuoso como eluyente según el sistema esquemáticamente ilustrado en la Figura 8. Se conectan en serie 15 columnas (diámetro: 76,29 mm, longitud: 914,40 mm) como se muestra en la Figura 8.

Los parámetros de operación y velocidades de flujo son los siguientes:

Tiempo de etapa: 600 s
Tiempo de ciclo: 160 min
Tasa de alimentación de materia prima (F): 55 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D1) en la primera zona: 3000 ml/min
Tasa de extracto (E1) en la primera zona: 1800 ml/min
Tasa de refinado (R1) en la primera zona: 1455 ml/min
Tasa de alimentación de desorbente (D2) en la segunda zona: 1400 ml/min
Tasa de extracto (E2) en la segunda zona: 600 ml/min
Tasa de refinado (R2) en la segunda zona: 945 ml/min

REIVINDICACIONES

1. Un proceso de separación cromatográfica para recuperar un producto de ácido graso poliinsaturado (PUFA), de una mezcla de alimentación, proceso que comprende introducir la mezcla de alimentación a un aparato de cromatografía en lecho simulado o real que tiene una pluralidad de columnas de cromatografía conectadas que contienen, como eluyente, un disolvente orgánico acuoso, en el que el aparato tiene una pluralidad de zonas que comprenden al menos una primera zona y segunda zona, teniendo cada zona una corriente de extracto y una corriente de refinado de las que puede recogerse líquido de dicha pluralidad de columnas de cromatografía conectadas, y en el que (a) una corriente de refinado que contiene el producto de PUFA 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/o (b) una corriente de extracto que contiene el producto de PUFA junto con componentes menos polares se recoge de una columna en la segunda zona y se introduce a una columna no adyacente en la primera zona, separándose dicho producto de PUFA de diferentes componentes de la mezcla de alimentación en cada zona, y en el que el disolvente orgánico acuoso es distinto de alcohol acuoso.

2. Un proceso según la reivindicación 1, en el que parte de una o más de la corriente de extracto de la primera zona, la corriente de refinado de la primera zona, la corriente de extracto de la segunda zona y la corriente de refinado de la segunda zona se recirculan de nuevo a la misma zona, normalmente a una columna adyacente en la misma zona.

3. Un proceso de separación cromatográfica según la reivindicación 1 o 2, en el que (a) el eluyente de disolvente orgánico acuoso presente en cada zona tiene una relación de agua:disolvente orgánico diferente; y/o

(b) la tasa a la que el líquido recogido mediante las corrientes de extracto y de refinado en cada zona se recircula de nuevo a la misma se ajusta de forma que el producto de PUFA pueda separarse de diferentes componentes de la mezcla de alimentación en cada zona.

4. Un proceso de separación cromatográfica según la reivindicación 3, en el que la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto fuera de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona se diferencia de la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto fuera de la segunda zona se recircula de nuevo a la segunda zona, y/o la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de refinado fuera de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona se diferencia de la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de refinado fuera de la segunda zona se recircula de nuevo a la segunda zona.

5. Un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el aparato tiene una primera zona y una segunda zona, separándose dicho producto de PUFA de componentes menos polares de la mezcla de alimentación en la primera zona, y separándose dicho producto de PUFA de componentes más polares de la mezcla de alimentación en la segunda zona.

6. Un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el producto de PUFA comprende al menos un ω-3 PUFA, y
en el que el producto de PUFA comprende preferentemente EPA y/o DHA.

7. Un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que además de dicho producto de PUFA, un producto de PUFA secundario adicional se recupera en el proceso de separación cromatográfica, y
en el que el producto de PUFA es preferentemente EPA y el producto de PUFA secundario adicional es preferentemente DHA.

8. Un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que las columnas de cromatografía contienen, como adsorbente, perlas sustancialmente esféricas; y
en el que las perlas están preferentemente formadas de gel de sílice unido a C18, y/o en el que las perlas sustancialmente esféricas tienen preferentemente un diámetro de 250 a 500 µm.

9. Un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el eluyente es una mezcla de agua y un éter, un éster, una cetona o un nitrilo, y
en el que el eluyente es preferentemente una mezcla de agua y acetonitrilo.

10. Un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el eluyente en la primera zona contiene más disolvente orgánico 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 de agua:disolvente orgánico del eluyente en la primera zona es de 10:90 a 15:85 partes en volumen, y la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en la segunda zona es de 15:85 a 20:80 partes en volumen, y/o en el que la relación de agua:disolvente orgánico del eluyente en la primera y segunda zonas se controla introduciendo agua y/o disolvente orgánico en una o más columnas en la primera y segunda zonas.

11. Un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10, en el que la tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto de la primera zona se recircula de nuevo a la primera zona es más rápida que la

tasa a la que el líquido recogido mediante la corriente de extracto de la segunda zona se recircula de nuevo a la segunda zona.

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

(a)

(i) introducir la mezcla de alimentación en la primera zona, y extraer una primera corriente de refinado enriquecida en el producto de PUFA y una primera corriente de extracto agotada en el producto de PUFA, y
(ii) introducir la primera corriente de refinado en la segunda zona, extraer una segunda corriente de refinado agotada en el producto de PUFA, y recoger una segunda corriente de extracto para obtener el producto de PUFA; o

(b)

(i) introducir la mezcla de alimentación en la segunda zona, y extraer una primera corriente de refinado agotada en el producto de PUFA y una primera corriente de extracto enriquecida en el producto de PUFA, y
(ii) introducir la primera corriente de extracto en la primera zona, extraer una segunda corriente de extracto agotada en el producto de PUFA y recoger una segunda corriente de refinado para obtener el producto de PUFA.

13. Un proceso según 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 disolvente orgánico que el eluyente en la segunda y tercera zonas y la primera zona está aguas arriba de la segunda y tercera zonas con respecto al flujo de eluyente en el sistema y (b) el eluyente en la segunda zona contiene más disolvente orgánico 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, separándose dicho producto de PUFA en la primera zona de componentes de la mezcla de alimentación que son menos polares que el producto de PUFA, separándose dicho producto de PUFA en la segunda zona de componentes de la mezcla de alimentación que son menos polares que el producto de PUFA, pero más polares que los componentes separados en la primera zona, y separándose dicho producto de PUFA en la tercera zona de componentes de la mezcla de alimentación que son más polares que el producto de PUFA.

14. Un programa informático para controlar un aparato de cromatografía como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, programa informático que contiene medios de código que, cuando se ejecuta, ordena al aparato llevar a cabo un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.

Figura 1

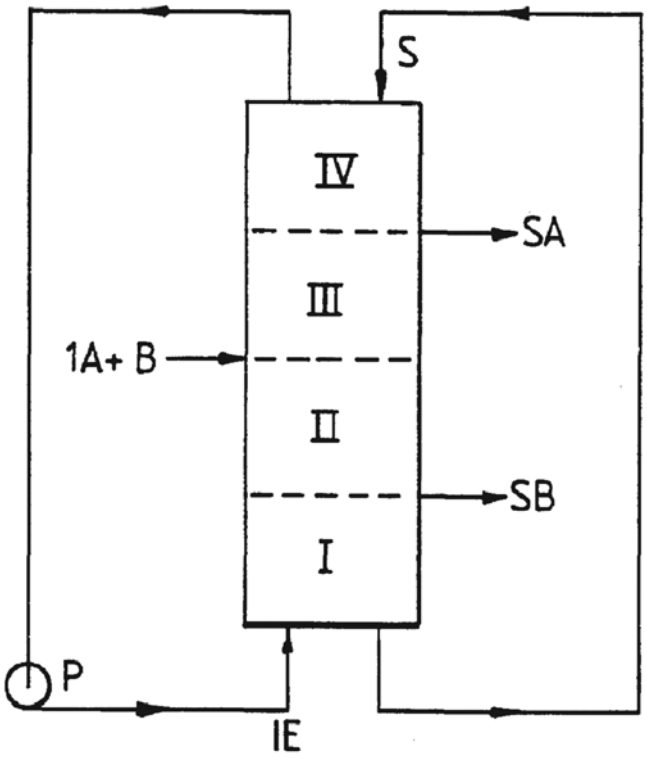


Figura 2

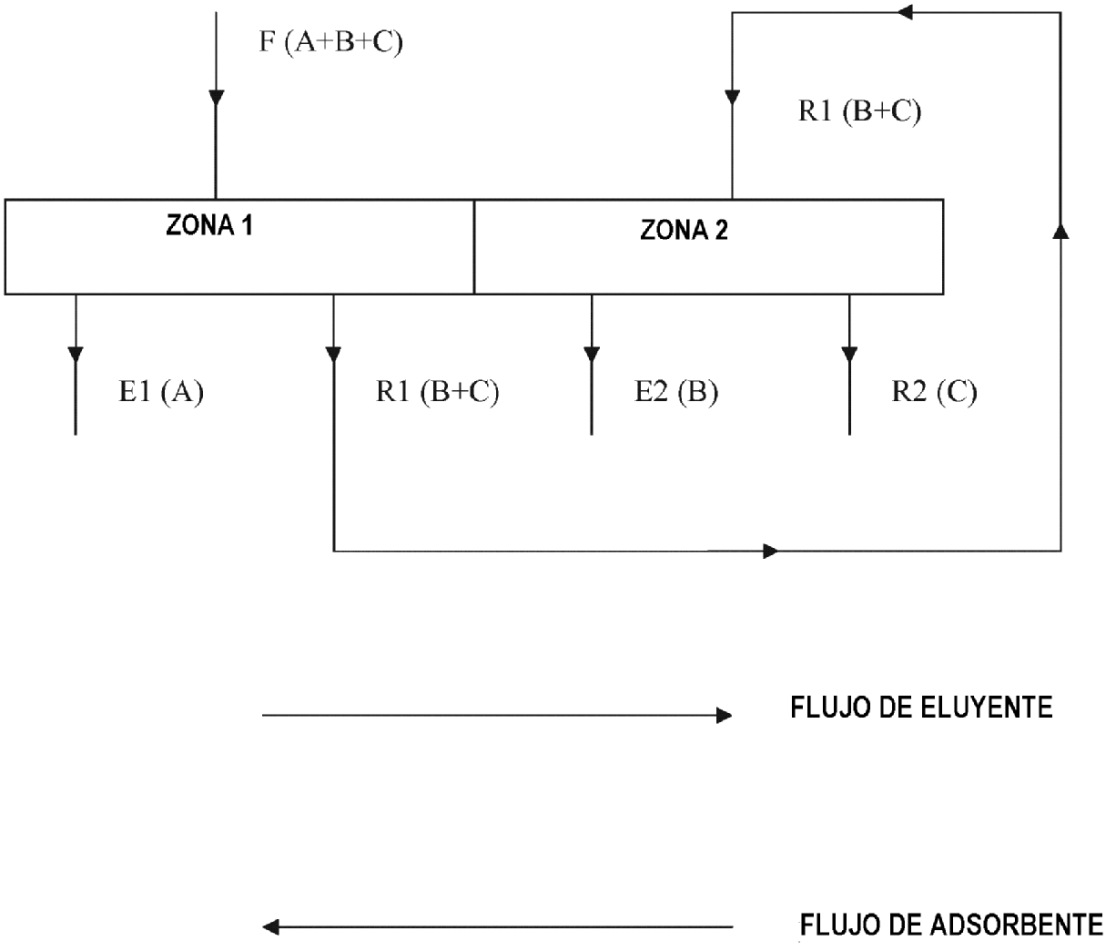

F (A+B+C)
R1 (B+C)
ZONA 1
ZONA 2
E1 (A)
R1 (B+C)
E2 (B)
R2 (C)
FLUJO DE ELUYENTE
FLUJO DE ADSORBENTE

Figura 3

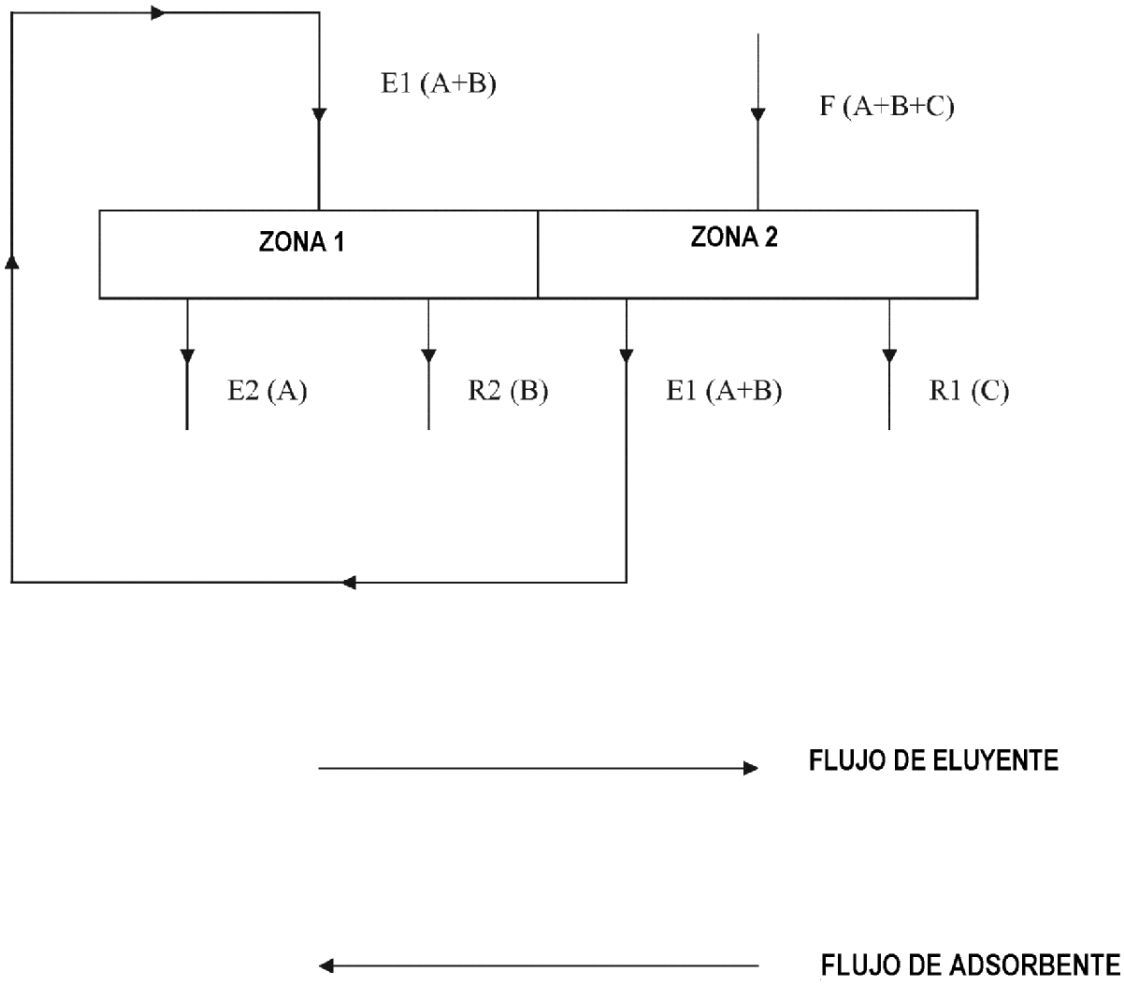

E1 (A+B)
F (A+B+C)
ZONA 1
ZONA 2
E2 (A)
R2 (B)
E1 (A+B)
R1 (C)
FLUJO DE ELUYENTE
FLUJO DE ADSORBENTE

Figura 4

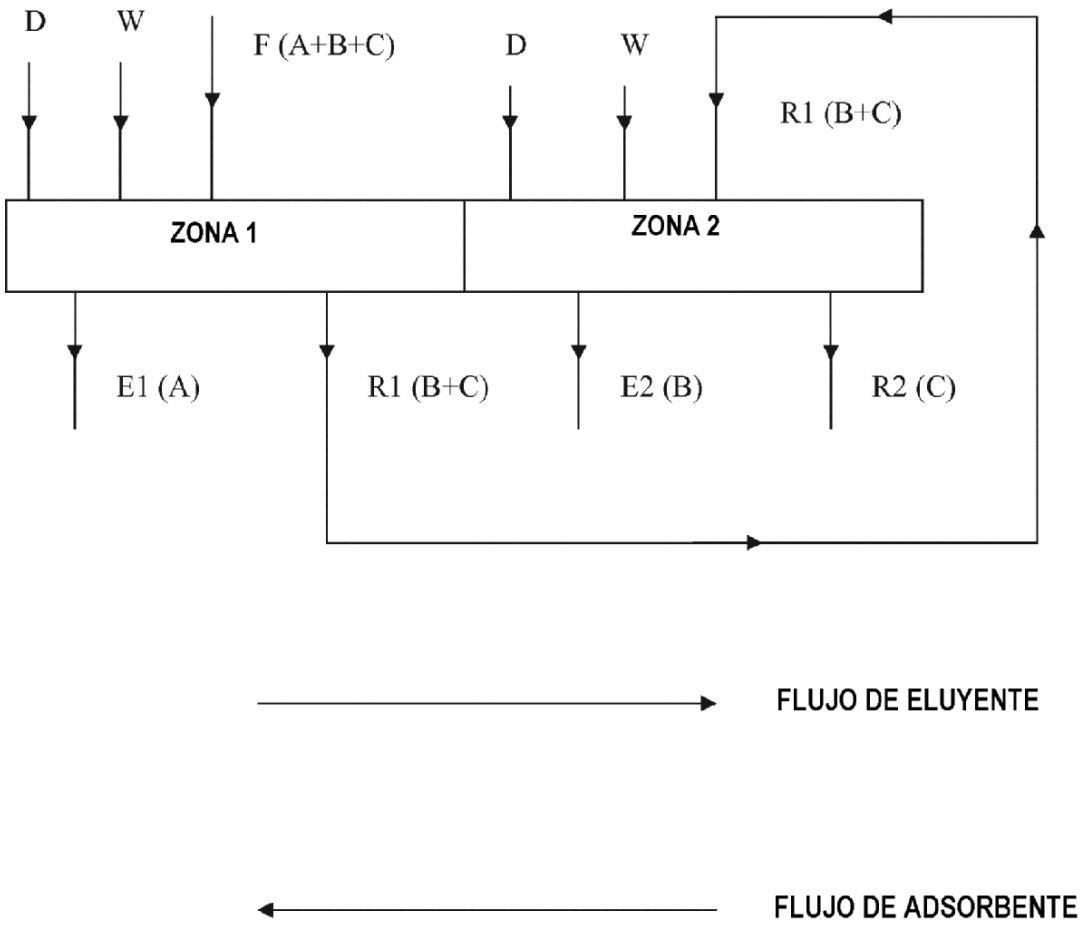

D
W
F (A+B+C)
D
W
R1 (B+C)
ZONA 1
ZONA 2
E1 (A)
R1 (B+C)
E2 (B)
R2 (C)
FLUJO DE ELUYENTE
FLUJO DE ADSORBENTE

Figura 5

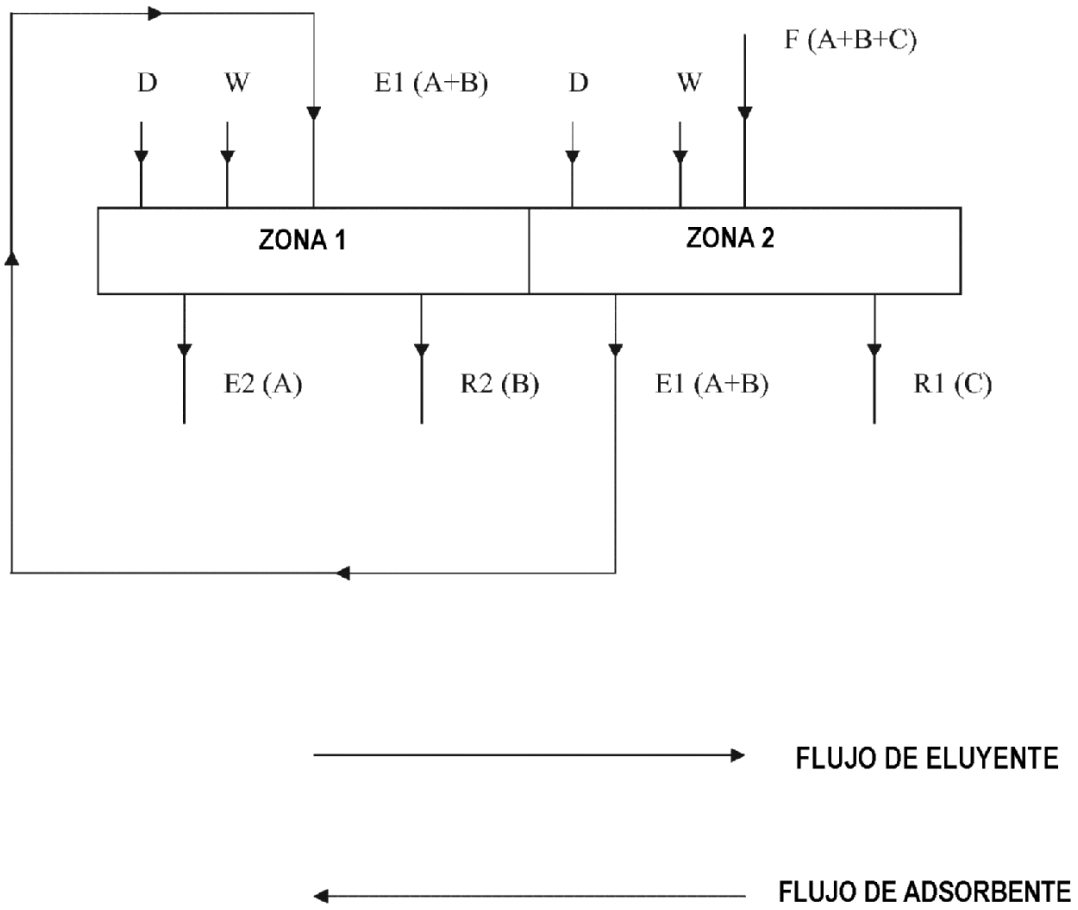

F (A+B+C)
D
W
E1 (A+B)
D
W
ZONA 1
ZONA 2
E2 (A)
R2 (B)
E1 (A+B)
R1 (C)
FLUJO DE ELUYENTE
FLUJO DE ADSORBENTE

Figura 6

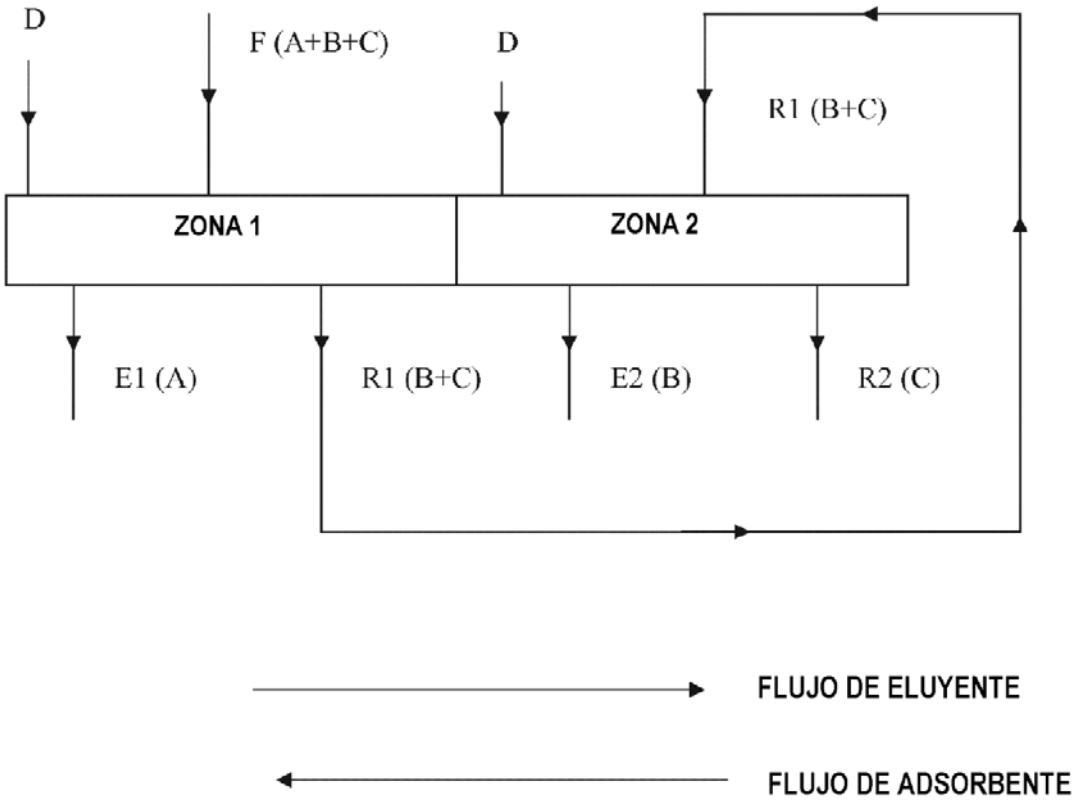

D
F (A+B+C)
D
R1 (B+C)
ZONA 1
ZONA 2
E1 (A)
R1 (B+C)
E2 (B)
R2 (C)
FLUJO DE ELUYENTE
FLUJO DE ADSORBENTE

Figura 7

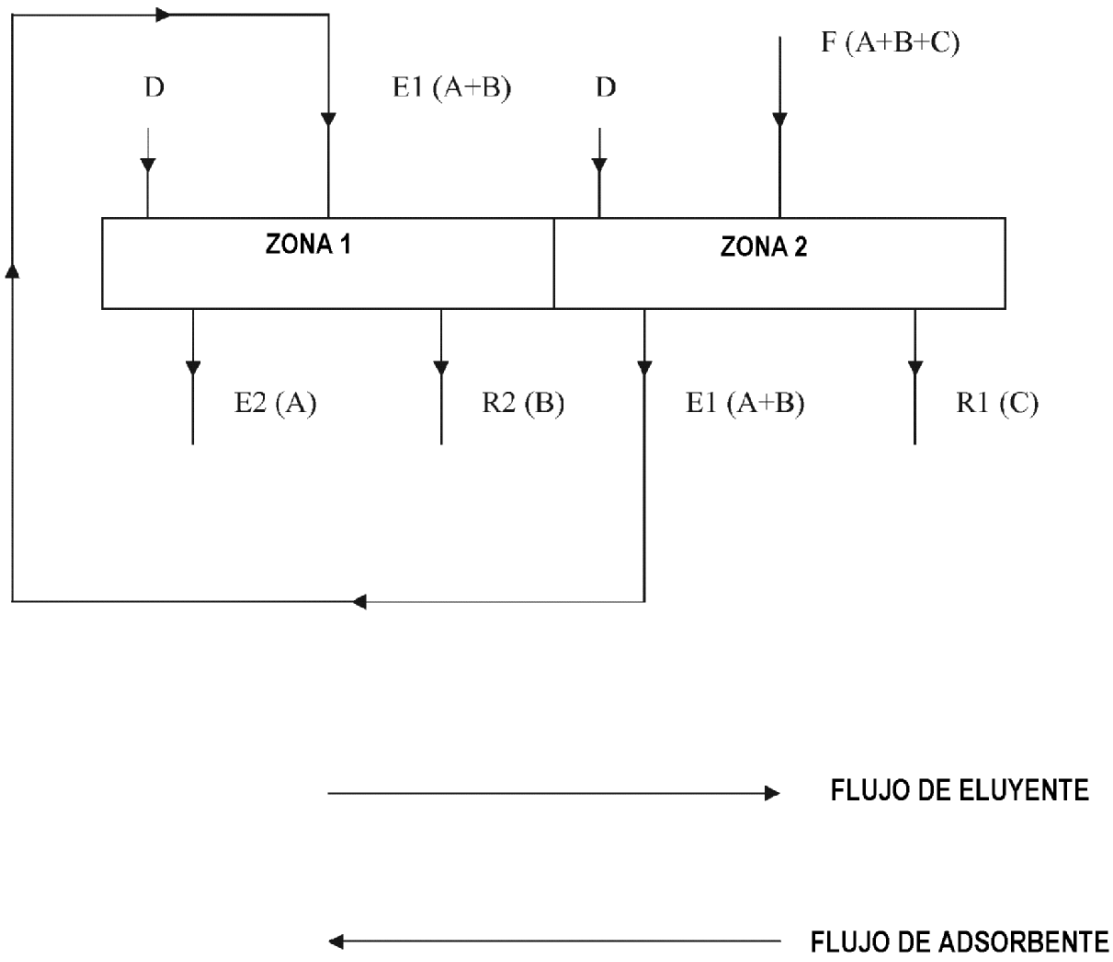

D
E1 (A+B)
D
F (A+B+C)
ZONA 1
ZONA 2
E2 (A)
R2 (B)
E1 (A+B)
R1 (C)
FLUJO DE ELUYENTE
FLUJO DE ADSORBENTE

Figura 8

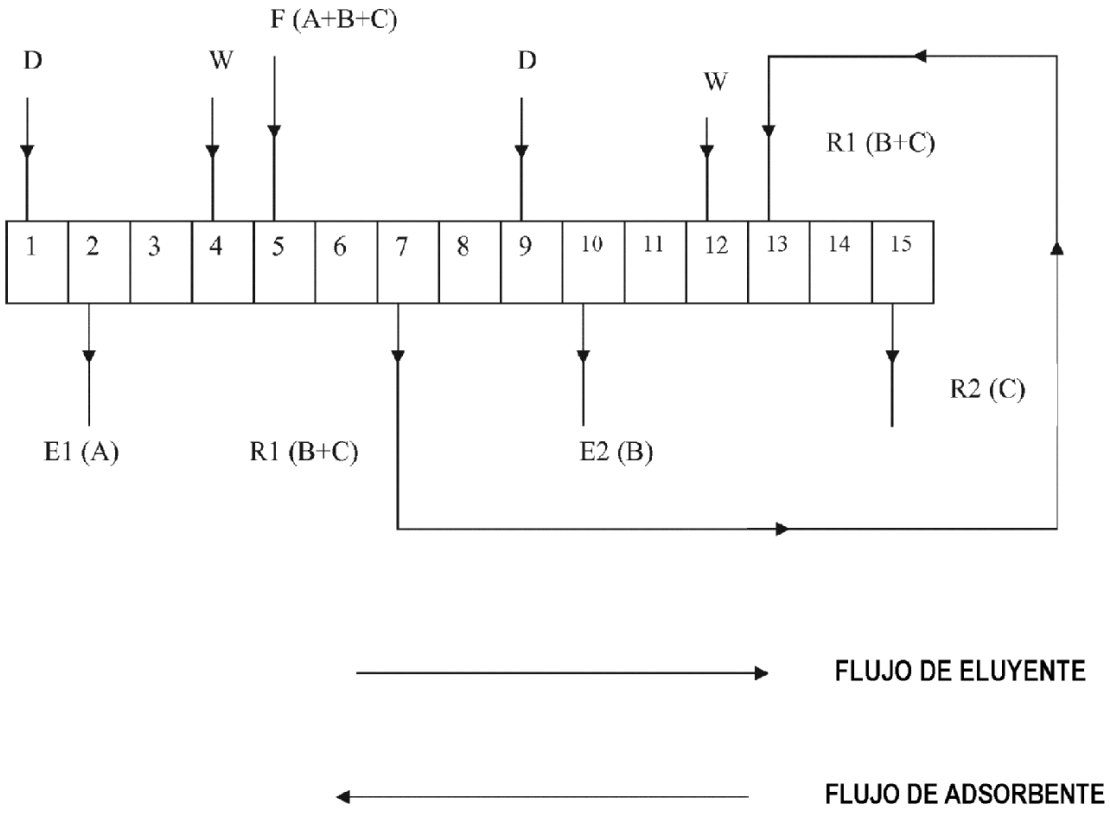

F (A+B+C)
D
W
D
W
R1 (B+C)
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
R2 (C)
E1 (A)
R1 (B+C)
E2 (B)
FLUJO DE ELUYENTE
FLUJO DE ADSORBENTE

Figura 9

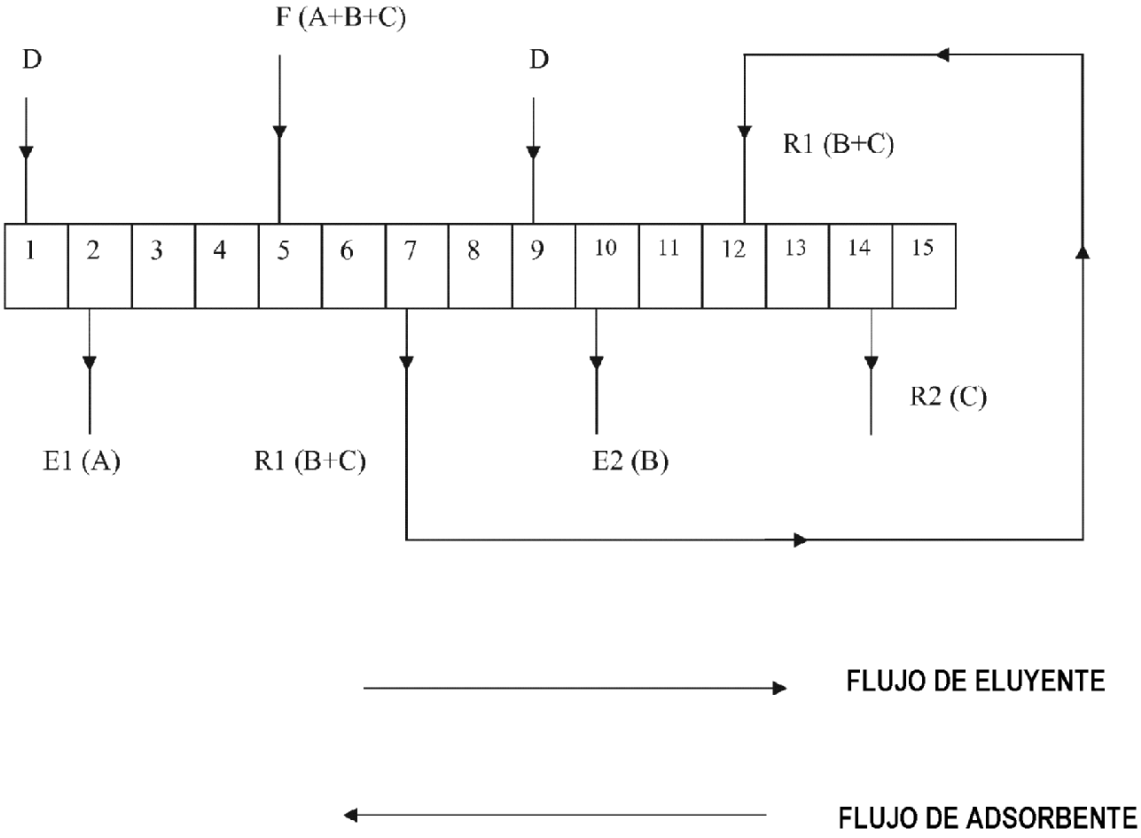

F (A+B+C)
D
D
R1 (B+C)
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
R2 (C)
E1 (A)
R1 (B+C)
E2 (B)
FLUJO DE ELUYENTE
FLUJO DE ADSORBENTE

Figura 10

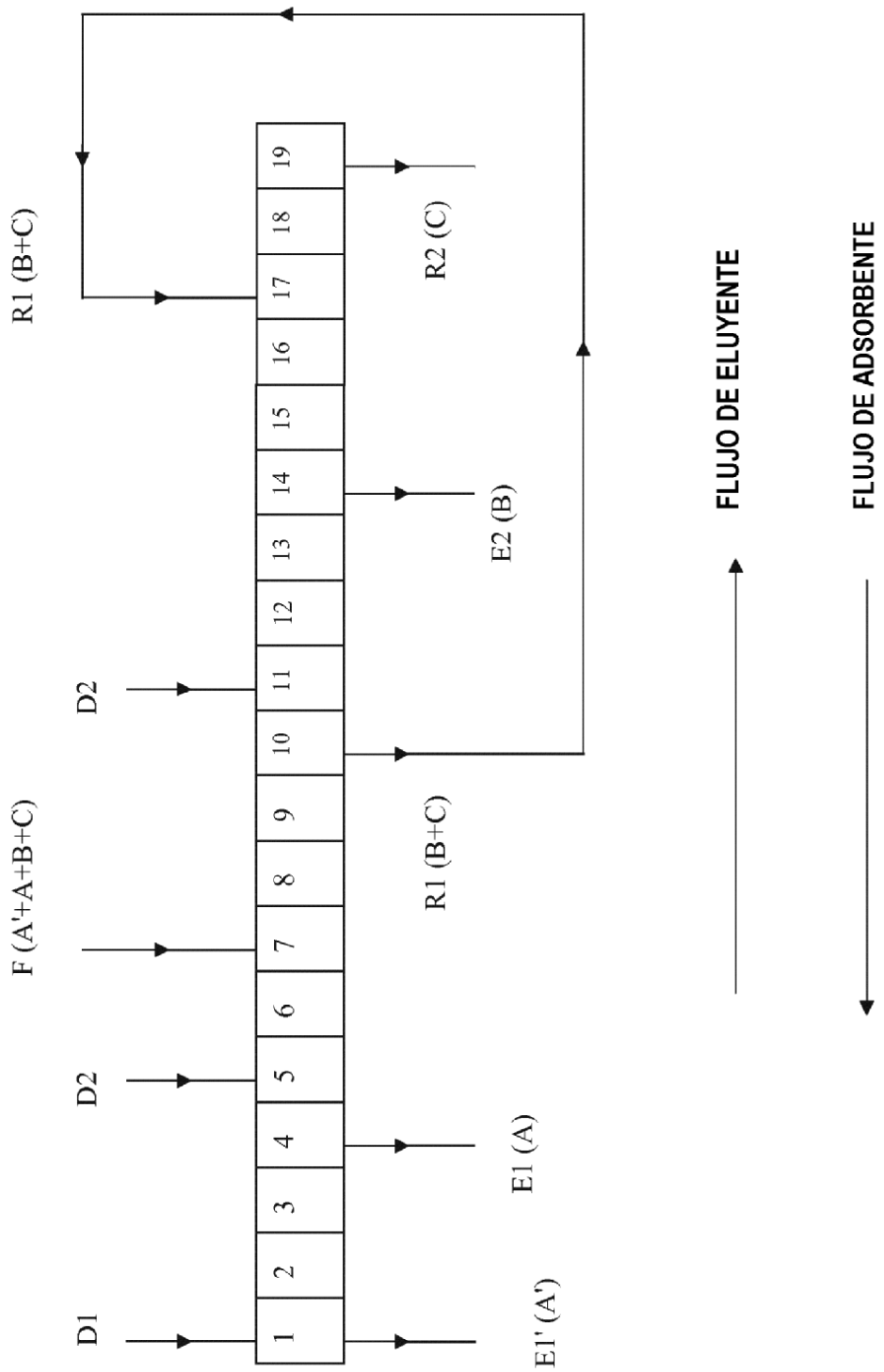

D1
D2
F (A'+A+B+C)
D2
R1 (B+C)
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
E1' (A')
E1 (A)
R1 (B+C)
E2 (B)
R2 (C)
FLUJO DE ELUYENTE
FLUJO DE ADSORBENTE

Figura 11

Extracto de la zona 2 – EPA 95 % de EE

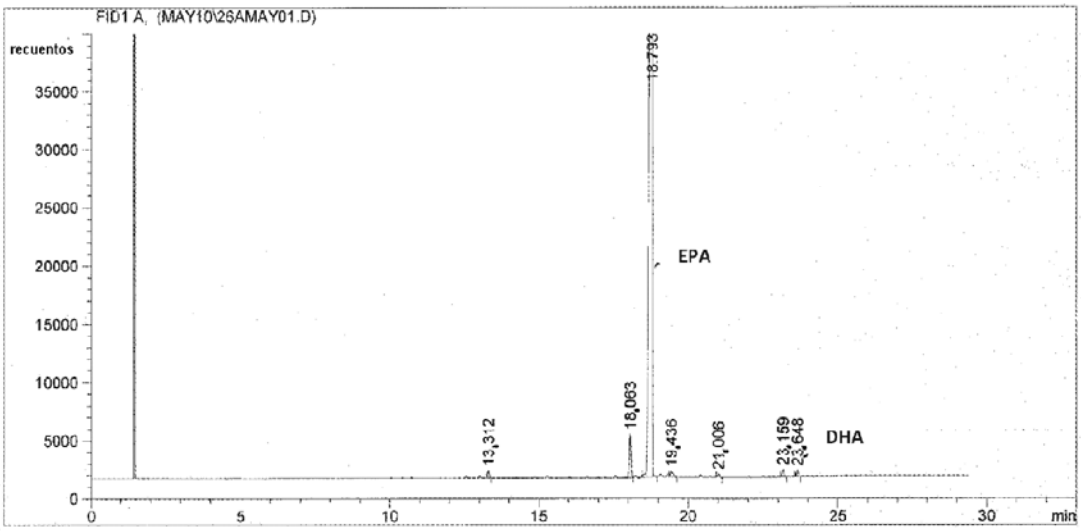
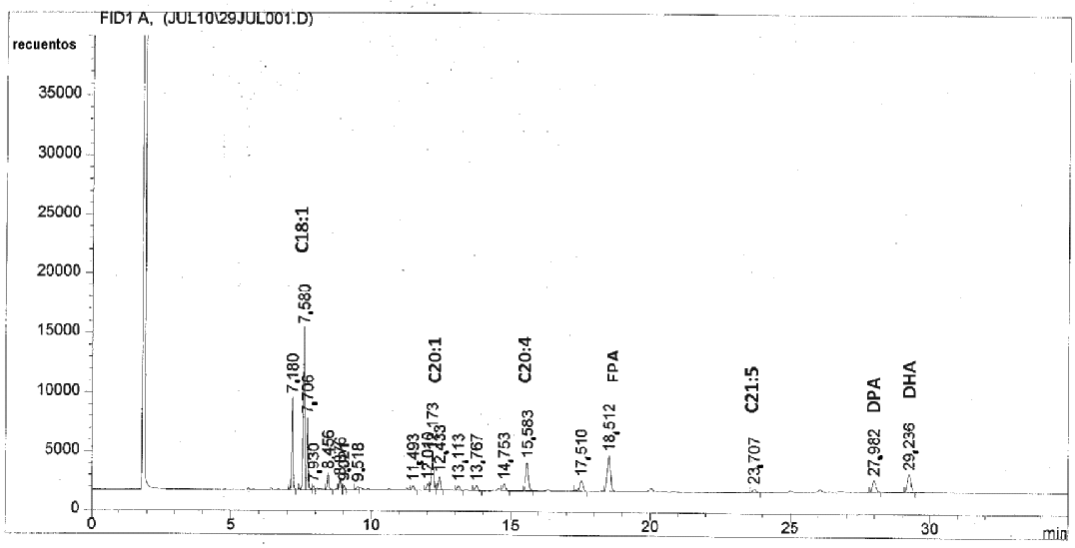


Figura 12

Extracto de la zona 1 – componentes "menos polares"



Refinado de la zona 1 – EPA + componentes "más polares"

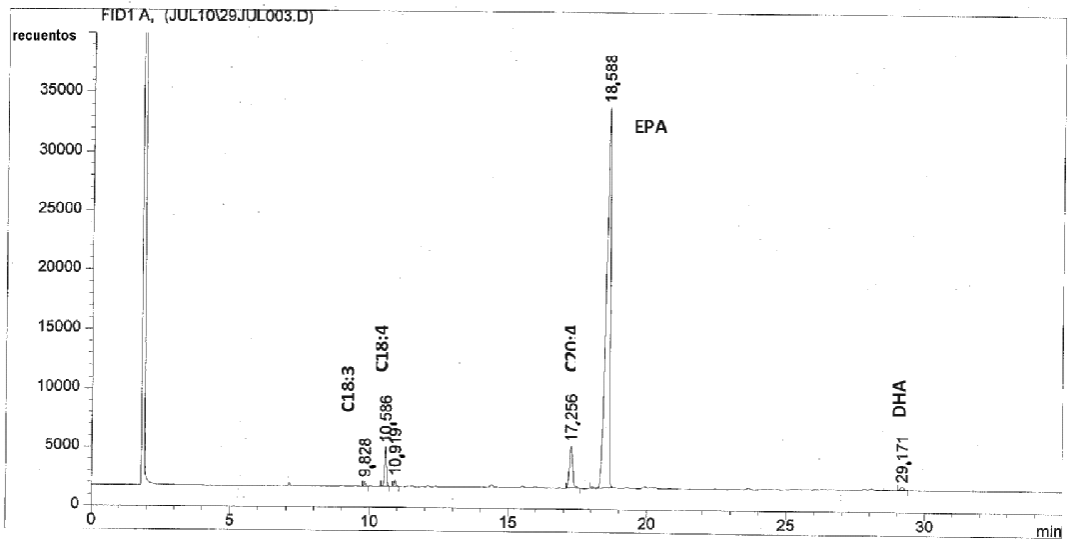
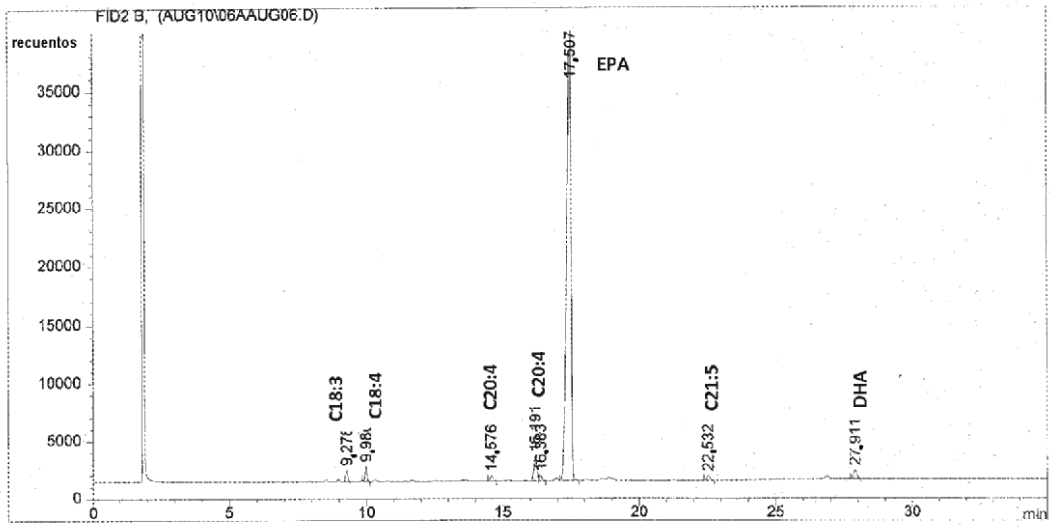


Figura 13

Extracto de la zona 2 – EE-EPA



Refinado de la zona 2 – componentes "más polares"

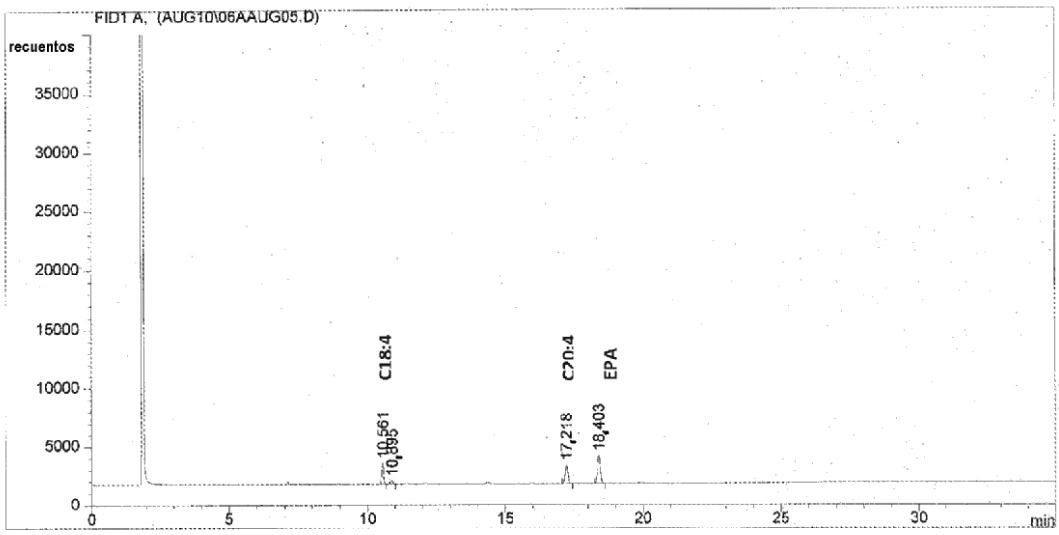
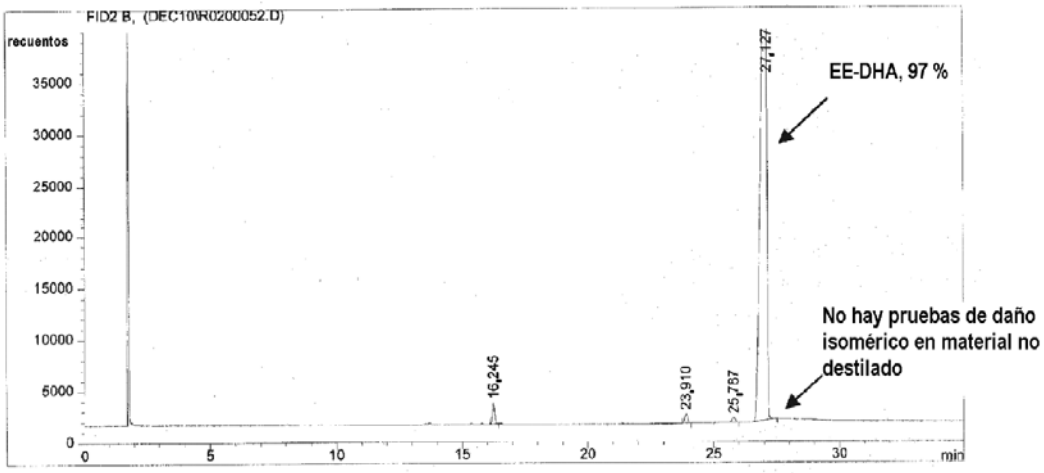


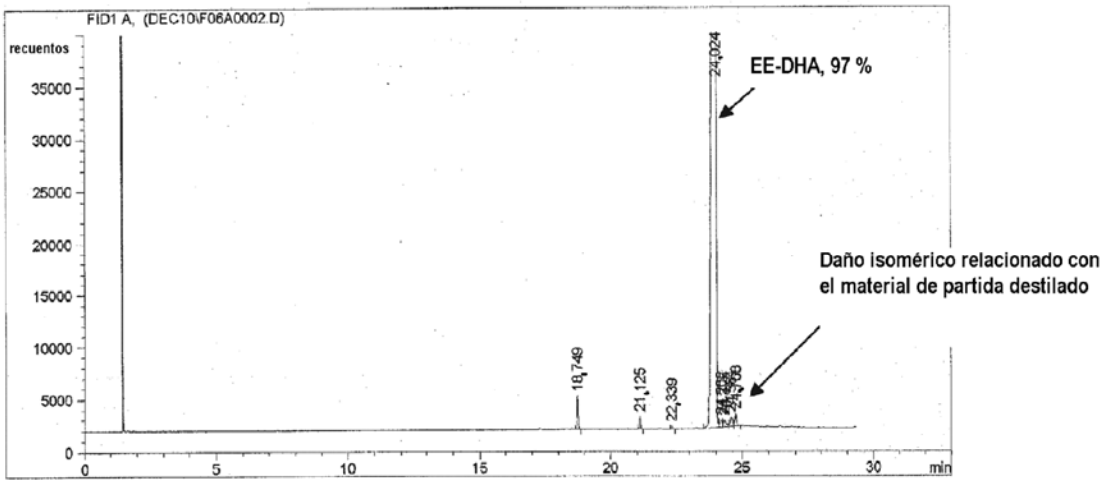
Figura 14

Extracto de la zona 2 – 97 % de DHA



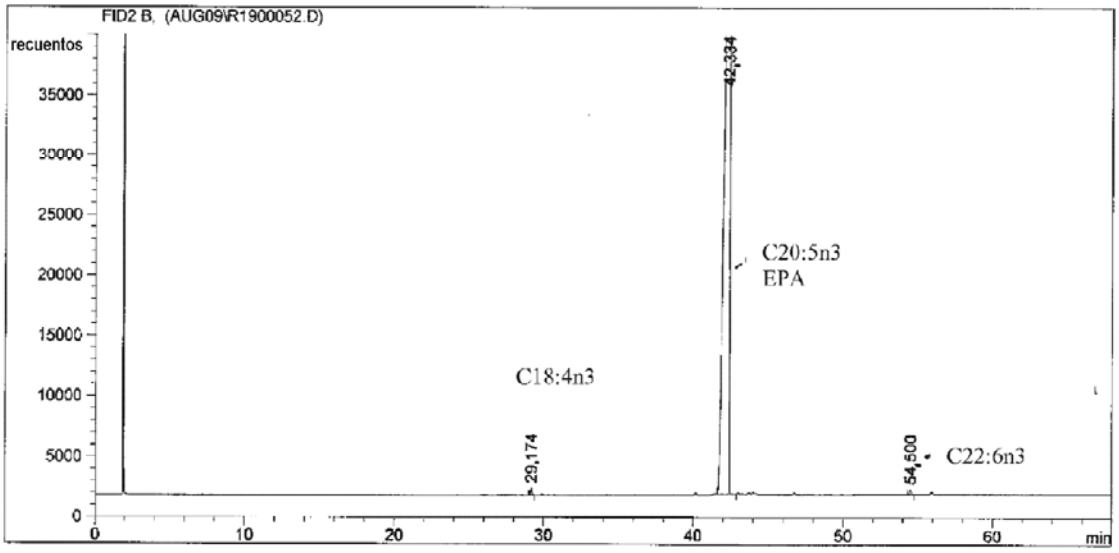
HA de alta pureza producido a partir de material de partida no destilado - No hay pruebas de daño isomérico

Figura 15



Producto de DHA de alta pureza de material de partida destilado que contiene 1,5 % de impurezas isoméricas (total de 4 picos de FAME por CG)

Figura 16


FID2 B, (AUG09\R1900052.D)
recuentos
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
42,334
C20:5n3
EPA
C18:4n3
29,174
54,500
C22:6n3
0
10
20
30
40
50
60
min