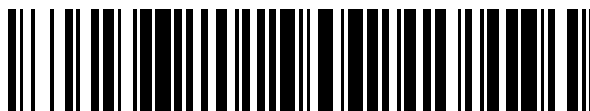


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 589 803**

51 Int. Cl.:

A23D 9/007	(2006.01)
B01D 11/04	(2006.01)
C11B 1/10	(2006.01)
C11B 7/00	(2006.01)
C11C 1/00	(2006.01)
C11C 1/08	(2006.01)
C11C 3/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.12.2006 PCT/EP2006/069899**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **28.06.2007 WO07071670**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.12.2006 E 06830716 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.06.2016 EP 1979450**

54 Título: **Procedimiento de enriquecimiento en DHA**

30 Prioridad:

20.12.2005 FR 0512933

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

16.11.2016

73 Titular/es:

**PIERRE FABRE MEDICAMENT (100.0%)
45, PLACE ABEL GANCE
92100 BOULOGNE-BILLANCOURT, FR**

72 Inventor/es:

**MARCIACQ, FLORENCE;
SOULAYRES, MATHIEU y
FREISS, BERNARD**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 589 803 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

Procedimiento de enriquecimiento en DHA.

5 La presente invención se refiere a un procedimiento que permite, industrialmente, enriquecer una solución de ésteres etílicos de ácidos grasos naturales (aceite de pescado) en un ácido graso específico: el ácido docosahexaenoico (habitualmente denominado DHA).

10 Los aceites de origen marino son unas fuentes naturalmente ricas en ácidos grasos poli-insaturados. Los ácidos poliinsaturados tienen en particular, para los más útiles, las fórmulas siguientes:



15



20



25



30

Estos ácidos grasos, a pesar de que son necesarios para el buen funcionamiento del organismo, no son naturalmente sintetizados por el cuerpo humano. Su aportación está por lo tanto relacionada con una ingesta diaria a través de la alimentación. Las fuentes alimenticias de ácidos grasos poliinsaturados son los aceites vegetales (esencialmente unos ácidos grasos de tipo ω -6 y ω -9) y los aceites de pescados que contienen en particular grandes cantidades de ácidos grasos de tipo ω -3. Estos últimos son muy conocidos por sus efectos beneficiosos sobre la salud (enfermedades cardiovasculares, enfermedades autoinmunes, inflamaciones, etc.).

35

Los ácidos grasos poliinsaturados se clasifican según la posición del primer doble enlace, a partir de la función metilo terminal. Así, en la nomenclatura ω -x o n-x, la x corresponde a la posición de esta primera insaturación. La mayoría de los ácidos grasos poliinsaturados de interés biológico pertenecen a la familia de los ω -6 (ácido araquidónico) o ω -3 (EPA, DHA). Además, en la nomenclatura, se define también el número de carbono que constituye la cadena; así, el EPA se describe como C20:5 y el DHA como C22:6. El 5 y el 6 corresponden al número de insaturaciones de la cadena carbonada presentada respectivamente por EPA y DHA. Los aceites de pescado se utilizan esencialmente para el aislamiento y la concentración en ácidos grasos de tipo ω -3.

40

Los métodos convencionales para enriquecer los aceites de pescado (artículo de V.K. Mishra *et al.*, Food Research International, 1993, 26, 217-226) se basan en la selectividad con respecto a la longitud de las cadenas de los ácidos grasos constitutivos de los aceites o su grado de insaturación. Los procedimientos de enriquecimiento más utilizados habitualmente se realizan en los ácidos grasos o los ésteres correspondientes mediante:

45

- cristalización,
- extracción a contracorriente,
- destilación molecular,
- cromatografía de absorción.

50

La mayoría del tiempo, se combinan diferentes procedimientos para obtener un fuerte enriquecimiento. Además, estos procedimientos adolecen de los inconvenientes siguientes:

55

Los procedimientos que trabajan a alta temperatura (destilación) dan lugar a múltiples productos de degradación térmica de los ácidos grasos (isomerización, peroxidación, oligomerización). Así, se recomienda trabajar a baja temperatura, ventajosamente a temperaturas inferiores a 100°C.

60

El inconveniente de las técnicas de cromatografía se basa en la utilización de cantidades masivas de disolventes frecuentemente tóxicos. Además, la producción a gran escala con dichas técnicas está lejos de ser evidente.

65

Por estas razones, se han desarrollado unos métodos alternativos. Se basan en la utilización de los fluidos supercríticos:

- procedimiento de fraccionamiento por CO₂ supercrítico,
- cromatografía supercrítica.

5 El procedimiento de fraccionamiento de ésteres etílicos de ácidos grasos por CO₂ supercrítico ya se ha descrito abundantemente en la bibliografía. Cabe señalar sin embargo que la mayoría de los procedimientos citados describen un enriquecimiento en ω-3 o en ácido eicosapentenoico (EPA) y no en DHA.

10 Uno de los parámetros de conducta del procedimiento de fraccionamiento por CO₂ supercrítico es la tasa de CO₂ supercrítico. Esta tasa está definida por la relación entre caudal de CO₂ y el caudal de solución de ácidos grasos inyectada. Así, a una tasa de CO₂ supercrítico elevada, la selectividad incrementa en detrimento del rendimiento. A una tasa baja de CO₂ supercrítico, es el rendimiento el que se ve favorecido mientras que la selectividad se reduce.

15 Así, Nilsson *et al.* (JAOCS 1988, 65(1), 109-117) describen un procedimiento por "lotes" que permite obtener varias fracciones (de 0,1 a 0,2 g) ricas en EPA y DHA respectivamente. Para ello, los autores trabajan a presiones comprendidas entre 220·10⁵ Pa y 250·10⁵ Pa. Además, efectúan un gradiente de temperatura en la columna para generar un reflujo interno (de 20°C al pie de la columna a 100°C en la cabeza de la columna). Las tasas de CO₂ supercrítico definidas son muy elevadas, del orden de 100 a 500.

20 Algunos ensayos permiten obtener, a partir de ésteres etílicos pretratados con urea, unas fracciones que presentan un contenido del orden del 90% en DHA, pero con unas tasas de CO₂ supercrítico de 500.

Utilizando unos ésteres etílicos no tratados, los autores describen unas fracciones ricas en DHA (contenido entre el 53 y el 60%) pero para unas tasas de CO₂ supercrítico del orden de 300 a 400.

25 Este procedimiento adolece por lo tanto de los inconvenientes siguientes: se trata de un procedimiento por "lotes". La tasa de CO₂ supercrítico utilizada es demasiado elevada, y el procedimiento debe por lo tanto tener un rendimiento bajo, lo cual no es utilizable industrialmente. En efecto, esto induce a unos sobrecostes energéticos y, por lo tanto, a una productividad menor. La temperatura de 100°C en la cabeza de la columna puede provocar la degradación de los ácidos grasos. Ahora bien, se trata de la temperatura recomendada por los autores. Las presiones utilizadas son demasiado fuertes y si fuesen disminuidas, habría un aumento de la tasa de CO₂ supercrítico. Por otro lado, este artículo recomienda la utilización de un gradiente de temperatura dentro de la columna y sobre todo de un reflujo interno con el fin de mejorar la separación y, por lo tanto, el enriquecimiento. Ahora bien, la presencia de dicho reflujo disminuye la productividad del procedimiento.

35 Kado *et al.* (JP 2005-255971) describen en su patente un procedimiento de enriquecimiento de ésteres etílicos de aceite de pescado en EPA y DHA. Los intervalos de temperatura y presión reivindicados son de 35-200°C y 100·10⁵ Pa-500·10⁵ Pa. Los autores recomiendan dos extracciones sucesivas para obtener unos contenidos elevados. Se realiza una primera extracción sobre la materia prima, y se realiza una segunda extracción sobre el residuo de la primera operación. La columna utilizada es de 3 m de altura para un diámetro interno de 50 mm. Comprende 6 recintos de calentamiento distintos. Las dos extracciones sucesivas complican el procedimiento y lo hacen inaplicable industrialmente.

45 Las tasas de CO₂ supercrítico utilizadas para obtener unos contenidos elevados en DHA son elevadas (del orden de 127). El rendimiento en DHA es por lo tanto bajo. Por otro lado, los autores recomiendan la aplicación de un gradiente de temperatura (que permite obtener un efecto de rectificación) en la columna. La productividad es, por lo tanto, restringida.

50 Lucien *et al.* (Australasian biotechnology, 1993, 3 (3), 143-147) describen un procedimiento de obtención de extractos enriquecidos con ésteres etílicos de EPA y de DHA a partir de aceite de sardina 17/12 (EPA/DHA). Un reflujo interno generado por un recinto calentador colocado en la cabeza de la columna permite mejorar los contenidos obtenidos: se pueden alcanzar unos contenidos del 42% y del 54% respectivamente en EPA y DHA. Las mejores condiciones de realización en esta configuración son 150·10⁵ Pa, 40°C en la columna y una temperatura de reflujo de 100°C. No se indica la tasa de CO₂ supercrítico utilizada.

55 La tabla siguiente recoge los resultados obtenidos:

Presión (Pa)	Temperatura de extracción (°C)	Temperatura de reflujo (°C)	[EPA] (%)	[DHA] (%)
150·10 ⁵	40	60	21	34
150·10 ⁵	40	80	33	39
150·10 ⁵	40	100	42	54

60 Este procedimiento adolece por lo tanto de los inconvenientes siguientes: la temperatura de 100°C en la cabeza de la columna puede provocar la degradación de los ácidos grasos. Ahora bien, se trata de la temperatura recomendada por los autores. Por otro lado, este artículo recomienda la utilización de un gradiente de temperatura dentro de la columna y, sobre todo, de un reflujo interno con el fin de mejorar la separación y, por lo tanto, el

enriquecimiento. Ahora bien, la presencia de dicho reflujo disminuye la productividad del procedimiento.

Fleck *et al.* (Journal of Supercritical Fluids, 1998, 14 (1), 67-74) describen un procedimiento de enriquecimiento de ésteres etílicos, de aceite de pescado en EPA y DHA, a contracorriente en una columna de fraccionamiento con la ayuda de CO₂ supercrítico. Las condiciones de realización son 60°C, 145·10⁵ Pa y la tasa de CO₂ supercrítico es del orden de 255.

Finalmente, Zhu *et al.* (Proceedings of the 3rd International Symposium on supercritical fluids - Strasbourg, 1994) describen un procedimiento de extracción/fraccionamiento de una solución de ésteres etílicos de ácidos grasos para obtener unas fracciones ricas respectivamente en EPA y en DHA. Para ello, un flujo de CO₂ extrae los ésteres de ácidos grasos contenidos en un extractor, y este flujo de CO₂ cargado de ésteres se fracciona después en una columna. Un gradiente de temperatura y una programación de presión se efectúan dentro de la columna, con el fin de mejorar la selectividad con respecto a los compuestos buscados. Este procedimiento por "lotes" permite aislar una fracción que representa el 12% del DHA introducido con una pureza superior al 50%.

Este procedimiento adolece, por lo tanto, de los inconvenientes siguientes: se trata de un procedimiento por "lotes" y es por eso por lo que puede comprender una programación en presión. La tasa de CO₂ supercrítico utilizada es demasiado elevada (211) y el procedimiento debe por lo tanto tener un bajo rendimiento, lo que no es utilizable industrialmente. En efecto, esto induce a unos sobrecostes energéticos y, por lo tanto, a una productividad menor. Por otro lado, este artículo recomienda la utilización de un gradiente de temperatura dentro de la columna y, sobre todo, de un reflujo interno con el fin de mejorar la separación y, por lo tanto, el enriquecimiento. Ahora bien, la presencia de tal reflujo disminuye la productividad del procedimiento.

La mayoría de los procedimientos descritos en la bibliografía utilizan por lo tanto una alta tasa de CO₂ supercrítico, lo que da un rendimiento de DHA muy bajo y, por lo tanto, un procedimiento que no es realizable industrialmente. Además, con el fin de que un procedimiento sea industrialmente realizable, es asimismo necesario no trabajar a demasiada presión. Ahora bien, cuando la presión disminuye, la densidad disminuye y se necesita por lo tanto aumentar la tasa de CO₂ supercrítico para obtener un contenido de DHA equivalente. Conviene por lo tanto encontrar un término medio entre presión, tasa de CO₂ supercrítico y rendimiento, con el fin de obtener un enriquecimiento interesante de DHA, es decir de por lo menos el 50%. Por otro lado, sólo los procedimientos continuos son interesantes desde el punto de vista industrial.

Finalmente, con el fin de evitar la degradación de los ácidos grasos y en particular del DHA, conviene trabajar a baja temperatura, es decir a una temperatura inferior a 100°C, y en particular inferior o igual a 70°C.

Además, conviene también encontrar un procedimiento que permita enriquecer una solución de ácidos grasos en DHA que utilice sólo una etapa de fraccionamiento a contracorriente y que no necesite el pretratamiento de los ácidos grasos con urea.

Los inventores han descubierto así de manera sorprendente que una temperatura de como máximo 70°C, que una presión comprendida entre 100·10⁵ Pa y 160·10⁵ Pa y que una tasa de CO₂ supercrítico comprendida entre 30 y 70 permitía, en el marco de un procedimiento continuo de una sola etapa de fraccionamiento a contracorriente por CO₂ supercrítico, obtener un enriquecimiento de DHA de por lo menos un 50%, partiendo de una solución de ácidos grasos o de sus derivados, que comprende menos del 50% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales de la solución o a sus derivados y que no haya sido pretratada con urea.

La presente invención se refiere por lo tanto a un procedimiento continuo de enriquecimiento en DHA de una solución de ácidos grasos o de sus derivados que comprenden menos del 50% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales de la solución o a sus derivados, comprendiendo el procedimiento las etapas siguientes:

- (a)- inyección simultánea a contracorriente en una columna de fraccionamiento del flujo de la solución de ácidos grasos o de sus derivados y de un flujo de CO₂ supercrítico a una temperatura inferior o igual a 70°C y a una presión comprendida entre 100·10⁵ Pa y 160·10⁵ Pa, ventajosamente entre 120·10⁵ Pa y 140·10⁵ Pa, estando la tasa de CO₂ supercrítico comprendida entre 30 y 70, ventajosamente entre 30 y 40, y
- (b)- recuperación del residuo que comprende por lo menos un 50% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales del residuo o a sus derivados, siendo el rendimiento de DHA superior o igual al 60%.

Salvo que se indique de otra manera, los porcentajes de DHA (o EPA) con respecto a los ácidos grasos totales o a sus derivados, son expresados en porcentaje de superficie. En efecto, estos valores corresponden al área del pico atribuido al DHA (o EPA) dividida por la suma de todas las zonas de pico atribuidas a los ácidos grasos presentes en la solución o el residuo. Estos picos se obtienen por cromatografía en fase gaseosa según el método indicado en la parte experimental y su área se mide en los cromatogramas obtenidos.

En el sentido de la presente invención, se entiende por "derivados de ácido graso" los ésteres de ácidos grasos, en particular los ésteres metílicos o etílicos. Ventajosamente, se trata de ésteres etílicos.

De manera ventajosa, la solución de ácidos grasos o de sus derivados utilizada es una solución bruta, es decir que no ha sufrido pretratamiento con urea, no habiendo sido los ácidos grasos y sus derivados, por lo tanto, complejados con urea. Ventajosamente, se trata de una solución de ésteres etílicos.

5 Ventajosamente, la solución de ácidos grasos o de sus derivados utilizada comprende por lo menos un 20%, de manera ventajosa por lo menos un 25% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales de la solución o a sus derivados.

10 En un modo de realización particular de la invención, la solución de ácidos grasos o de sus derivados utilizada es un aceite de pescado o de alga, de manera ventajosa un aceite de pescado. En particular, se trata de un aceite de atún o de hígado de bacalao.

15 En particular, este aceite comprende por lo menos un 20%, de manera ventajosa por lo menos un 25% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales del aceite o a sus derivados. En particular, el aceite de hígado de bacalao utilizado tiene la composición siguiente, en lo que se refiere a sus ácidos grasos principales:

Ácido graso	Aceite de hígado de bacalao (%)
14 : 0	1,1
16 : 0	18,5
16 : 1	3,7
18 : 0	5,3
18 : 1	14,7
18 : 2 ω6	1,7
20 : 1	9,8
20 : 4 ω6	0,4
20 : 5 ω3 (EPA)	6,4
22 : 1	2,3
22 : 6 ω3 (DHA)	27,4
Total saturado	29,1
Total mono insaturado	29,7
Total ω6 (LA+AA)	2,1
Total ω3 (EPA+DHA)	33,8

20 Ventajosamente, el aceite de atún utilizado comprende un 5,5% de EPA y un 26,6% de DHA. De manera ventajosa, su cromatograma obtenido por cromatografía en fase gaseosa mediante el método indicado a continuación en los ejemplos se representa en la figura 1.

25 De manera ventajosa, se trata del aceite de atún 25 DHA comercializado por la compañía POLARIS o PRONOVA BIOCARE.

En el sentido de la presente invención, se entiende por "tasa de CO₂ supercrítico" la relación entre el caudal de CO₂ supercrítico y el caudal de solución de ácidos grasos o de sus derivados.

30 El procedimiento según la presente invención consiste por lo tanto en inyectar simultáneamente en una columna de fraccionamiento, a contracorriente, la solución de ácidos grasos o de sus derivados y el CO₂ supercrítico. Este último se inyecta al pie de la columna, mientras que la solución de ácidos grasos o de sus derivados se inyecta más arriba en la columna. El flujo de CO₂ se carga progresivamente de compuestos más volátiles extraídos. Estos compuestos son recuperados después de la despresurización en unos separadores ciclónicos.

35 En un modo de realización particular de la invención, la temperatura en el pie de la columna es inferior a la temperatura en la cabeza de la columna. Por lo tanto, existe un gradiente de temperatura dentro de la columna. Ventajosamente, la temperatura en la cabeza de la columna está comprendida entre 55 y 70°C y la temperatura en el pie de la columna está comprendida entre 35 y 50°C.

40 La presencia de este gradiente disminuye la productividad del procedimiento, pero aumenta el rendimiento de DHA. En efecto, el gradiente de temperatura provoca un reflujo interno, lo que puede generar una obstrucción de la columna. Por lo tanto, es necesario trabajar con unos caudales en solución más bajos.

45 En otro modo de realización de la invención, la temperatura de la etapa (a) es constante dentro de la columna. Por lo tanto, no existe gradiente de temperatura. Ventajosamente, la temperatura está comprendida entre 40 y 70°C. La ausencia de este gradiente mejora la productividad, pero disminuye el rendimiento de DHA.

En un modo de realización ventajoso, la columna de fraccionamiento tiene una longitud de por lo menos 1,5 m y un diámetro interno de por lo menos 20 mm, ventajosamente una longitud de por lo menos 8 m y un diámetro interno de por lo menos 126 mm.

5 En otro modo de realización, la presión utilizada en la columna es de $135 \cdot 10^5$ Pa.

El procedimiento según la presente invención permite, por lo tanto, obtener un residuo que comprende por lo menos un 50% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales del residuo, o a sus derivados, ventajosamente entre el 50 y el 70% de DHA. Este residuo se sustrae de forma continua en la parte baja de la columna. Ventajosamente, este residuo comprende por lo menos un 52% de DHA, de manera ventajosa por lo menos un 55% de DHA, de manera aún más ventajosa por lo menos un 60% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales del residuo o a sus derivados.

15 De manera ventajosa, el rendimiento de DHA del procedimiento según la presente invención es de por lo menos un 60%, de manera ventajosa de por lo menos un 65%, de manera aún más ventajosa, de por lo menos un 70%. En el caso de un gradiente de temperatura en la columna, este rendimiento es ventajosamente de por lo menos un 80%.

La invención se entenderá mejor a la vista de las figuras y de los ejemplos siguientes.

20 La figura 1 representa un cromatograma obtenido por cromatografía en fase gaseosa del aceite de atún utilizado en los ejemplos.

La figura 2 representa un cromatograma obtenido por cromatografía en fase gaseosa en el residuo enriquecido obtenido en el ejemplo 1.

25 El protocolo de análisis de las soluciones enriquecidas y del aceite de atún de partida es el siguiente:

La composición de las soluciones enriquecidas y del aceite de atún inicial se realiza por cromatografía en fase gaseosa, según el método siguiente:

30 Aparellaje: Cromatógrafo en fase gaseosa con detector de ionización de llama.

Condiciones de realización:

Columna	Tipo: Longitud (m) : Diámetro (mm) :	CP-WAX 52CB 25 0,25 0,20	
Gas	Gas vector: Presión en la cabeza de la columna: Modo presión o caudal constante: Caudal columna (ml/min):	Helio $1,38 \cdot 10^5$ Pa Caudal constante 1,4	
Inyector	Temperatura (°C): Caudal de fuga (split) (ml/min) : Tipo liner (desactivado/no desactivado): Volumen liner (µl):	250 280 desactivado 860	
Detector	Temperatura (°C): Caudal de hidrógeno (ml/min): Caudal oxígeno (ml/min): Make-up + columna (ml/min):	270 30 300 30	
Programa del horno	Rampa (°C/min)	Temperatura (°C)	Duración (min)
		170	2
	2,95	240	2,30
Duración del análisis (min)	28,03		
Volumen de inyección (µl)	1		

35 Metodología:

Preparación de una solución control:

40 En un frasco de 5,0 ml, se introducen 30 mg de éster etílico de ácido docosahexanoico SCR (DHA), 45 mg de éster etílico de ácido eicosapentaenoico SCR (EPA). Se disuelven en una solución de butilhidroxitolueno R a 50 mg/l en

trimetilpentano R y se complementa el volumen con la misma solución.

Preparación de la solución a analizar (2 ensayos):

- 5 En un frasco de 10,0 ml, se introducen 0,5 g de sustancia a examinar. Se disuelven en una solución de butilhidroxitolueno R a 50 mg/l en trimetilpentano R y se complementa el volumen con la misma solución.

Explotación de los resultados:

- 10 Se observan los % de superficies del éster etílico de ácido eicosapentaenoico (EPA) y del éster etílico de ácido docosahexaenoico (DHA) en la solución a analizar.

Los ejemplos siguientes se proporcionan a título indicativo no limitativo.

15 **Ejemplo 1:**

En una columna de laboratorio compacta de 1,5 m de alto y de diámetro interno de 20 mm, se inyectan 1520 g de aceite de atún 25 DHA comercializado por la compañía POLARIS cuyo cromatograma está representado en la figura 1 y que contiene un 5,5% de EPA y un 26,6% de DHA. La duración total de la inyección es de 4 horas.

20 Los parámetros de realización son los siguientes:

- presión y temperatura en la columna: $135 \cdot 10^5$ Pa - 60°C.
- caudal de inyección de la solución: 280 g/h,
- 25 - caudal de CO₂: 19 kg/h,
- caudal de CO₂: 19 kg/h.

La tasa de CO₂ supercrítico es por lo tanto de 67,8.

- 30 Se sustrae de forma continua en el pie de la columna la solución enriquecida. Se recuperan así 534 g de una solución de ésteres etílicos de ácidos grasos que contienen un 55,0% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales o a sus derivados. El rendimiento de recuperación del DHA es del 77%.

35 **Ejemplo 2:**

En una columna compacta industrial de 8 m de altura y de diámetro interno de 126 mm, se inyectan 210,6 kg de aceite de atún 25 DHA comercializado por la compañía POLARIS cuyo cromatograma está representado en la figura 1, y que contiene un 5,5% de EPA y un 26,6% de DHA. La duración total de la inyección es de 9 horas.

40 Los parámetros de realización son los siguientes:

- presión y temperatura en la columna: $135 \cdot 10^5$ Pa - 60°C.
- caudal de inyección de la solución: 23 kg/h,
- 45 - caudal de CO₂: 900 kg/h,

La tasa de CO₂ supercrítico es por lo tanto de 39,1.

- 50 Se sustrae de forma continua en el pie de la columna la solución enriquecida. Se recuperan así 63,3 kg de una solución de ésteres etílicos de ácidos grasos que contienen un 63,7% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales o a sus derivados. El rendimiento de recuperación del DHA es del 64%.

Ejemplo 3:

55 En una columna compacta industrial de 8 m de altura y de diámetro interno de 126 mm, se inyectan 203,0 kg de aceite de atún 25 DHA comercializado por la compañía POLARIS cuyo cromatograma está representado en la figura 1 y que contiene un 5,5% de EPA y un 26,6% de DHA. La duración total de la inyección es de 8,5 horas.

Los parámetros de realización son los siguientes:

- 60 - presión y temperatura en la columna: $135 \cdot 10^5$ Pa - 60°C.
- caudal de inyección de la solución: 24 kg/h,
- caudal de CO₂: 800 kg/h,

La tasa de CO₂ supercrítico es por lo tanto de 33,3.

- 65 Se sustrae de forma continua en el pie de la columna la solución enriquecida. Se recuperan así 85,4 kg de una

solución de ésteres etílicos de ácidos grasos que contienen un 53,5% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales o a sus derivados. El rendimiento de recuperación del DHA es del 75%.

Ejemplo 4:

5 En una columna compacta industrial de 1,5 m de altura y de diámetro interno de 20 mm, se inyectan 333 g de aceite de atún 25 DHA comercializado por la compañía POLARIS cuyo cromatograma está representado en la figura 1 y que contiene un 5,5% de EPA y un 26,6% de DHA. La duración total de la inyección es de 1 hora 45 minutos.

10 Los parámetros de realización son los siguientes:

- presión en la columna: $135 \cdot 10^5$ Pa.
- gradiente de temperatura en la columna: 45°C en el pie de la columna y 65°C en la cabeza de la columna,
- 15 - caudal de inyección de la solución: 220 g/h,
- caudal de CO₂: 15 kg/h,

La tasa de CO₂ supercrítico es por lo tanto de 68.

20 Se sustrae de forma continua en el pie de la columna la solución enriquecida. Se recuperan así 166 g de una solución de ésteres etílicos de ácidos grasos que contienen un 50% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales o a sus derivados. El rendimiento de recuperación del DHA es del 88% y la productividad de 95 g/h.

Ejemplo 5:

25 En una columna compacta industrial de 1,5 m de altura y de diámetro interno de 20 mm, se inyectan 800 g de aceite de atún 25 DHA comercializado por la compañía POLARIS cuyo cromatograma está representado en la figura 1 y que contiene un 5,5% de EPA y un 26,6% de DHA. La duración total de la inyección es de 1h 50.

30 Los parámetros de realización son los siguientes:

- presión y temperatura en la columna: $135 \cdot 10^5$ Pa - 60°C.
- caudal de inyección de la solución: 440 g/h,
- caudal de CO₂: 29 kg/h,

35 La tasa de CO₂ supercrítico es por lo tanto de 65,9.

40 Se sustrae de forma continua en el pie de la columna la solución enriquecida. Se recuperan así 272 g de una solución de ésteres etílicos de ácidos grasos que contienen un 51,0% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales o a sus derivados. El rendimiento de recuperación del DHA es del 65%. La productividad es de 160 g/h.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento continuo de enriquecimiento en DHA de una solución de ácidos grasos o de sus derivados que comprende menos del 50% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales de la solución o a sus derivados, comprendiendo el procedimiento las etapas siguientes:
- 10 (a)- inyección simultánea a contracorriente en una columna de fraccionamiento del flujo de la solución de ácidos grasos o de sus derivados y de un flujo de CO₂ supercrítico a una temperatura inferior o igual a 70°C y a una presión comprendida entre 100·10⁵ Pa y 160·10⁵ Pa, estando la tasa de CO₂ supercrítico comprendida entre 30 y 70, y
- (b)- recuperación del residuo que comprende por lo menos un 50% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales del residuo o a sus derivados, siendo el rendimiento en DHA superior o igual al 60%.
- 15 2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que la temperatura en el pie de la columna es inferior a la temperatura en la cabeza de la columna, ventajosamente, la temperatura en la cabeza de la columna está comprendida entre 55 y 70°C y la temperatura en el pie de la columna está comprendida entre 35 y 50°C.
- 20 3. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que la temperatura de la etapa (a) es constante dentro de la columna, ventajosamente está comprendida entre 40 y 70°C.
4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la etapa (a) se realiza a una presión comprendida entre 120·10⁵ Pa et 140·10⁵ Pa.
- 25 5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la solución de ácidos grasos o de sus derivados es una solución de aceite de pescado, ventajosamente de aceite de atún o de aceite de hígado de bacalao.
- 30 6. Procedimiento según la reivindicación 5, caracterizado por que la solución de aceite de pescado comprende por lo menos un 20% de DHA con respecto a los ácidos grasos totales de la solución de aceite de pescado o a sus derivados.
- 35 7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la solución de ácidos grasos o de sus derivados es una solución de ésteres etílicos de ácidos grasos.
8. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la tasa de CO₂ supercrítico de la etapa (a) está comprendida entre 30 y 40.

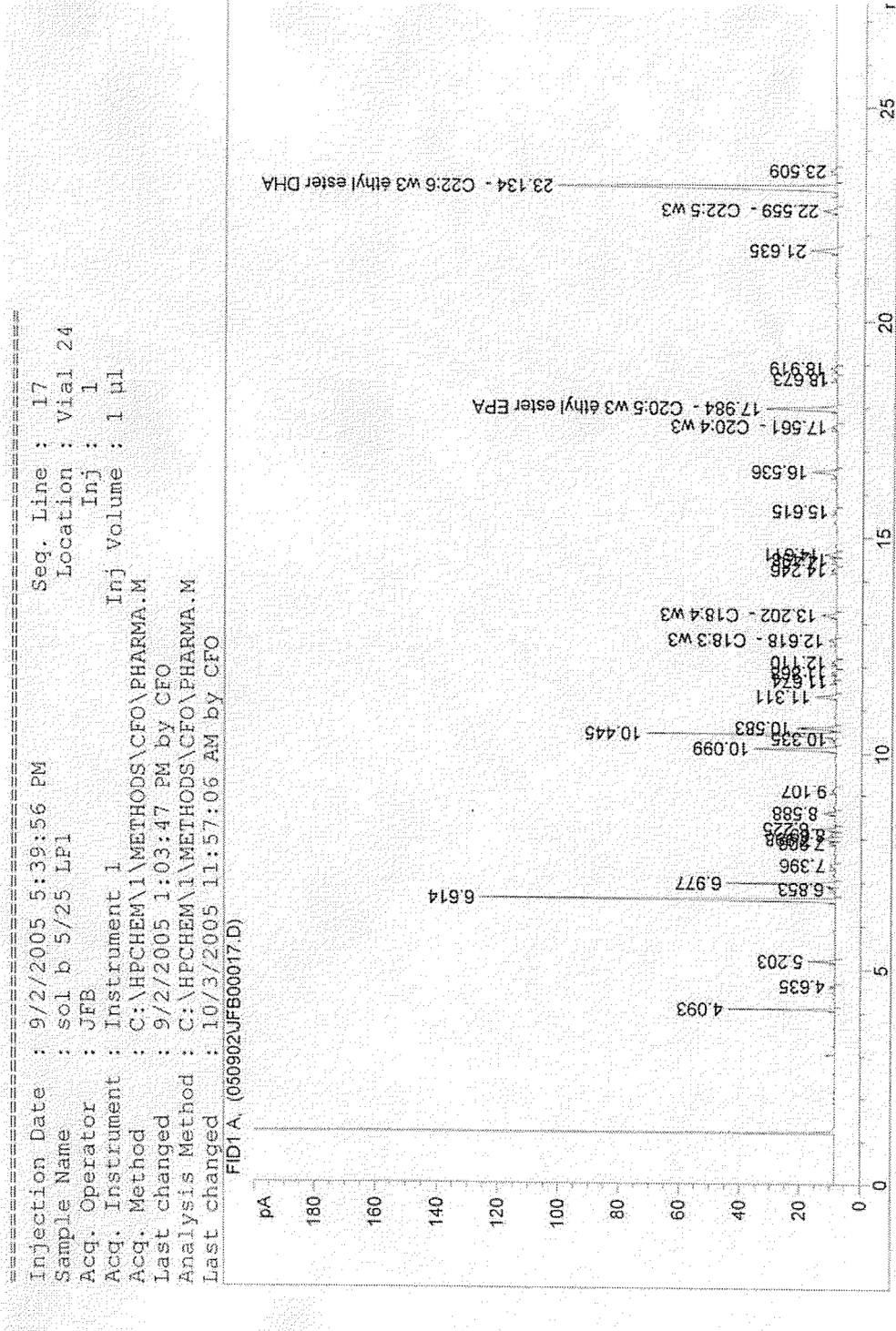


FIGURA 1

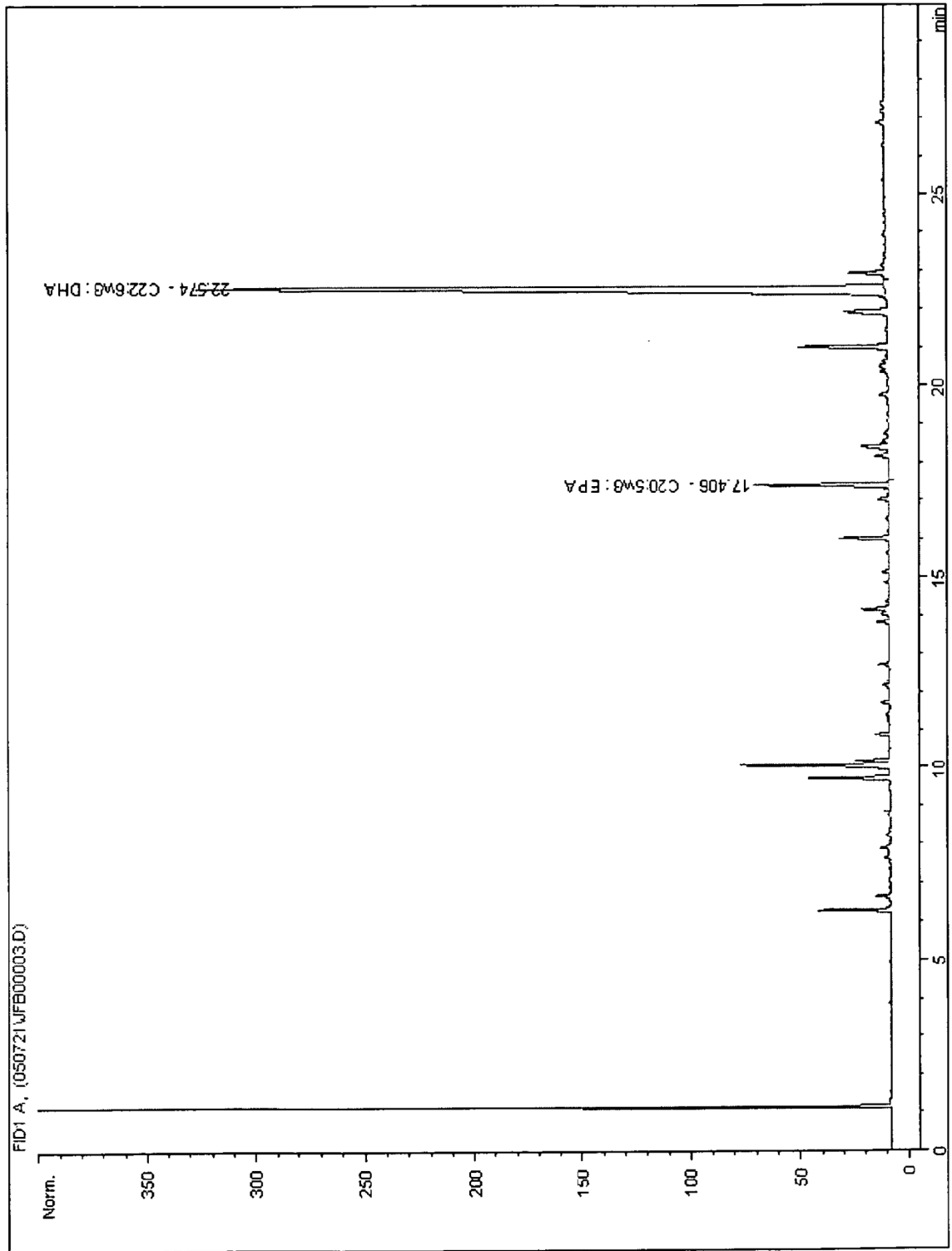


FIGURA 2