

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 592 257**

51 Int. Cl.:

C09F 5/00 (2006.01)

C09F 5/02 (2006.01)

C09F 5/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.09.2011** **PCT/US2011/052202**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.03.2013** **WO13043151**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.09.2011** **E 11872626 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.08.2016** **EP 2758480**

54 Título: **Aceite comestible con una concentración elevada de ácidos grasos poliinsaturados**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
29.11.2016

73 Titular/es:
HOFSETH BIOCARE ASA (100.0%)
Moloveien 6
6004 Alesund, NO

72 Inventor/es:
FRAMROZE, BOMI P.

74 Agente/Representante:
VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 592 257 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

Aceite comestible con una concentración elevada de ácidos grasos poliinsaturados

5 Campo de la técnica

Las realizaciones de la invención se refieren a un nuevo proceso para producir aceites comestibles con altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados mediante la cristalización selectiva de los ácidos grasos saturados y monoinsaturados usando una combinación de urea y un catalizador de transferencia de fase en un disolvente polar.

Antecedentes

Las declaraciones contenidas en esta sección simplemente proporcionan información básica relacionada con la presente divulgación y no pueden constituir técnica anterior.

El aceite comestible es una fuente principal de la grasa de la dieta en la dieta humana. Los aceites comestibles muestran concentraciones variables de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados grasos (PUFA) como una mezcla compleja de triglicéridos, teniendo cada uno una composición de ácidos grasos característica. Los aceites y grasas de la dieta son ahora predominantemente de origen vegetal en lugar de origen animal. La ingesta de grasas animales y aceites altamente saturados se ha reducido en las últimas décadas sobre todo a causa de los conocimientos que la ingesta por la dieta de ácidos grasos saturados de cadena larga y colesterol están entre los factores de riesgo de cardiopatía coronaria (CPC) o enfermedades cardiovasculares (ECV) frente a los aceites vegetales que contienen niveles más altos de ácidos grasos insaturados.

Varios estudios han relacionado la grasa saturada de la dieta con la elevación de los niveles de colesterol en plasma sanguíneo, arteriosclerosis y, por lo tanto, con el riesgo de CPC. (Ahrens E.H. et. The influence of dietary fats on serum lipid levels in man. Lancet, págs. 943 - 951 (1951) y Hegsted D.M. et al. Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. Am. J. Clin. Nutr., Vol. 17, págs. 281, 1965).

McNamara et al. (Heterogeneity of cholesterol homeostasis in man: responses to changes in dietary fat quality and cholesterol quantity J. Clin. Invest. Vol. 79, págs. 1729, 1987), han informado más recientemente que los principales factores de riesgo de colesterolemia son la grasa saturada y el colesterol de la dieta. En su estudio, la saturación de una grasa era cuatro veces más importante en la causa de la colesterolemia que el propio colesterol de la dieta. El pescado y el aceite de pescado en particular es una adición muy recomendable para cualquier dieta. Los efectos nutricionales de los PUFA a partir de fuentes marinas han suscitado el interés en el desarrollo de nuevos métodos comercialmente viables para aumentar la concentración de estos ácidos grasos farmacéuticamente importantes en estos aceites.

En la bibliografía se han descrito varios procedimientos. La cristalización a baja temperatura, a menudo denominada acondicionamiento para el invierno, es un sencillo procedimiento que reduce la temperatura del aceite en una serie de etapas para solidificar las grasas saturadas de mayor punto de fusión de la solución de aceite, por ejemplo como se describe en Gunstone et al. en Improved Procedure for the isolation of pure oleic, linoleic and linolenic acid or their methyl esters from natural sources. J. Sci. Food Agric. Vol. 27, págs. 675, 1976. Sin embargo, este método tiene un rendimiento bajo y no conduce a un aumento de más del 10 % de los PUFA en el aceite resultante.

Otros métodos descritos en la bibliografía son el uso de cromatografía, en particular con resina de plata como la fase inmovilizada (Adolf et al. J. Am Oil Chem Soc. Vol. 62, p 1592, 1985) o una acidólisis específica que es catalizada por una enzima lipasa inmovilizada como describen Haraldsson et al en Fisheries Technology for Increased Profitability pág.337, 1989. Aunque estos dos métodos sí muestran un buen incremento en las concentraciones de AGPI, que son demasiado caros y engorrosos para la práctica a gran escala. Nelson et al in Mar. Fish. Revisión v46, pág. 28 (1982) también han descrito el uso de fluidos supercríticos, tales como dióxido de carbono, para extraer las grasas saturadas de un aceite comestible dado, pero esta tecnología es demasiado cara para poner en práctica comercial.

Más recientemente, algunos autores han descrito el uso de la formación de complejos de urea para cristalizar los ácidos grasos saturados y monoinsaturados de un aceite comestible. Ganga et al en (J. Am. Oil. Chem. Soc. Vol. 75(6), p 733, 1998) han descrito un método para utilizar urea para formar un complejo con ácidos grasos saturados y monoinsaturados en el aceite de sardina que, después de la filtración de la cristales, da un aceite comestible más concentrado en PUFA. Guil - Guerrero et al (J. Am. Oil Chem. Soc. Vol. 78(5), p 477, 2001) también han descrito un procedimiento similar para dar PUFA en aceite más concentrados en aceite de hígado de bacalao.

Sin embargo, ninguno de estos procesos son útiles para no incorporar de forma selectiva y simétrica PUFA, tal como EPA, DHA y DPA en la matriz de cristal de urea, lo que da como resultado un rendimiento mucho menor de aceite rico en PUFA y en proporciones no naturales de PUFA en el aceite resultante.

La presente invención está dirigida a la superación de uno o más de los problemas expuestos anteriormente.

Sumario

5 La materia objeto de la presente invención se define en las reivindicaciones 1 - 6 del proceso adjuntas.

Las realizaciones de la invención se refieren a un nuevo proceso para producir aceites comestibles con altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados mediante la cristalización selectiva de los ácidos grasos saturados y monoinsaturados usando una combinación de urea y un catalizador de transferencia de fase en un disolvente polar. El uso de un catalizador de transferencia de fase mejora significativamente la capacidad de eliminar selectivamente solamente los ácidos grasos saturados y monoinsaturados del aceite comestible.

La presente invención se refiere además a un proceso que permite la concentración selectiva de una mezcla de diferentes ácidos grasos poliinsaturados, tales como ácido docosahexaenoico (DHA), ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosapentaenoico (DPA), sin la necesidad de múltiples etapas de cristalización en varias condiciones diferentes.

La presente invención produce además un ácido graso poliinsaturado alto que contiene aceite comestible que es más saludable y más seguro para el consumo humano directo e indirecto.

Otras áreas de aplicación de las presentes enseñanzas resultarán evidentes a partir de la descripción proporcionada en el presente documento. Se debe entender que la descripción y los ejemplos específicos son para propósitos de ilustración y no pretenden limitar el alcance de las presentes enseñanzas.

Descripción detallada

Antes de describir la presente invención con detalle, se entenderá también que la terminología usada en el presente documento es para el propósito de describir solo realizaciones particulares y no se desea que sea limitante.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un proceso para producir un aceite comestible con una concentración de PUFA muy alta de una manera que no destruya los constituyentes naturales bioactivos del aceite mediante calor alto o con tratamiento químico cáustico.

Los aceites comestibles pueden ser de origen animal o vegetal. La concentración de PUFA en el aceite comestible inicial puede variar desde el 5 % al 40 %.

Ejemplos de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) son ácido docosahexaenoico (DHA), ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosapentaenoico (DPA), pero no se limitan a estos compuestos para la habilitación de esta invención.

Como tales, en el presente documento se proporcionan procesos para aumentar la concentración inicial de PUFA del 5 % al 40 % al 30 % al 95 %.

Los aceites de pescado son una fuente fácilmente disponible de aceite comestible de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, especialmente los de la serie omega-3, especialmente DHA, EPA y DPA. Estos PUFA se producen como triglicéridos en el aceite de salmón virgen en el 16-19 %.

El aceite de salmón virgen se define como aceite de salmón que se ha extraído mediante hidrólisis enzimática a partir de recortes de salmón, tales como la cabeza y la raspa, que permanecen después del proceso de fileteado. Los recortes y el aceite resultante nunca se someten a productos químicos cáusticos o a temperaturas altas y, por lo tanto, contienen todos los componentes bioactivos presentes en la masa de pescado original.

La astaxantina, el antioxidante de origen natural, es uno de tales constituyentes bioactivos naturales que se conservan en su concentración inicial en tal aceite de salmón virgen.

El aceite de salmón virgen tiene una oxidación muy baja tal como se mide por el valor de la peroxidasa, el valor de anisidina, el valor totox y los volátiles orgánicos.

La formación de complejos de urea se ha aplicado previamente para concentrar los PUFA de varias fuentes, incluidos los aceites marinos.

La urea forma complejos con moléculas que contienen una cadena de alquilo lineal, que actúan como molde con el que las moléculas de urea forma un complejo en estructuras espirales mediante refrigeración durante varias horas. La separación de los complejos de urea a partir de la fracción de complejos sin urea elimina eficazmente los ácidos grasos de cadena larga saturados y monoinsaturados y enriquece el extracto líquido en ácidos grasos poliinsaturados.

El principal problema con el uso de este método comercialmente ha sido la no optimización del rendimiento durante la cristalización de la urea. EPA, DHA y DPA todos requieren parámetros ligeramente diferentes, tales como el tiempo, la temperatura, la relación UFAR (proporción urea: ácidos grasos) para la concentración óptima, lo que da lugar a la pérdida de uno o todos los compuestos de PUFA deseados en la matriz cristalina, de modo que se reduce el rendimiento del enriquecimiento en PUFA y, por tanto, la viabilidad comercial.

Sorprendentemente, los inventores de la presente invención han encontrado que el uso de un catalizador de transferencia de fase de calidad alimenticia aumenta el intervalo de solapamiento de las condiciones de cristalización, de manera que se puede producir una cristalización mucho más selectiva de los ácidos grasos saturados y monoinsaturados no deseados, lo que puede dar lugar a un mayor rendimiento de los PUFA (EPA/DHA/DPA) combinados en las mismas relaciones que se encuentran en el aceite de salmón virgen inicial.

Los catalizadores de transferencia de fase de calidad alimenticia se ilustran, aunque sin limitaciones a los mismos, ácido adípico, éteres corona, haluros de benzalconio, tales como cloruro de benciltrimetilamonio, haluros de alconio tales como cloruro de dodeciltrimetilamonio y cloruro de cetiltrimetilamonio, y haluros de fosfonio tales como cloruro de hexadeciltributildifosfonio.

Otra realización del proceso es la mayor conservación de los componentes bioactivos en el aceite de salmón virgen, tales como astaxantina, que están completamente destruidos en otros procesos de concentración de PUFA descritos en la técnica anterior.

Los siguientes ejemplos se proporcionan solamente con fines ilustrativos y no son limitantes de la presente divulgación de ninguna manera. De hecho, varias modificaciones de la invención, además de las mostradas y descritas en la presente memoria descriptiva, se pondrán de manifiesto para los expertos en la técnica a partir de los ejemplos siguientes y la descripción anterior. También se pretende que dichas modificaciones entren dentro del ámbito de las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplo 1

Etapa 1. Se añaden 50 gramos de aceite de salmón virgen a un matraz de 500 ml y la agitación comienza con el calentamiento a 60 °C. A esto se añadió una solución de 11,3 gramos de hidróxido de potasio disueltos en 40 ml de etanol y 12 ml de agua. La reacción se agitó durante 1 hora a 60 °C. El calentamiento se detuvo y a 50 °C se añadieron 60 ml de agua y toda la mezcla se acidificó a pH 1 usando HCl 6N. A esta mezcla de reacción se añadieron 150 ml de hexano y toda la mezcla se vertió en un embudo de separación. La capa orgánica y acuosa se dejó separar y el hexano en la capa orgánica se separó por destilación a 40 °C y 14 mmHg de vacío para producir 42 ml de ácido graso libre.

Etapa 2. En un reactor de vidrio de 2 l agitado que contiene 280 gramos de urea + 10 gramos de cloruro de benciltrimetilamonio y 800 ml de etanol al 95 % se añadieron 100 ml de aceite de ácido graso libre de la etapa 1. Se inició la agitación a 200 rpm y se calentó a 70 °C con una corriente de gas nitrógeno hasta que toda la urea se disolvió y se produjo una solución homogénea transparente. Se detuvo la agitación y la muestra se enfrió lentamente a temperatura ambiente (~22 °C) durante 1,5 horas y se mantuvo durante 6 horas para ayudar en el inicio de la formación de cristales. Después, la reacción se enfrió más a 0 °C y se mantuvo durante 14 horas. Los cristales de urea formados se separaron mediante filtración al vacío sobre papel de filtro Whatman n.º 4 de filtro y se añadió la fracción de formación de complejos sin urea líquidos a un evaporador rotatorio y el etanol se eliminó a 50 °C y 14 mmHg de vacío hasta que el volumen constante de aceite. El aceite se diluyó con 200 ml de agua y se agitó durante 15 minutos. La capa oleosa se separó, se lavó con nitrógeno, se protegió con 75 ppm de alfa-tocoferol, para dar 31 ml de aceite enriquecido en PUFA.

Etapa 3. En un reactor de vidrio de 250 ml agitado se añadieron 30 gramos de aceite enriquecido en PUFA de la Etapa 2, 1 gramo de glicerol y 3 gramos de Novozym 435 (enzima lipasa inmovilizada). El reactor se eliminó mediante lavado con nitrógeno, se calentó a 50 °C y la agitación se inició a 100 rpm a 400 mmHg de vacío. Después de 1 hora, el reactor se abrió y se añadieron 2 gramos de glicerol adicionales y la reacción se agitó durante 1 hora más a 100 mmHg de vacío. La reacción caliente se filtró directamente en papel Whatman n.º 4, para recuperar y reutilizar la enzima, y se lavó con 30 ml de agua tibia. El aceite se separó y se secó al vacío para dar un 73 % de aceite esterificado (triglicéridos), medido por titulación del ácido graso libre todavía presente. El análisis GC del aceite utilizando procedimientos de análisis estándar mostró un 58 % de PUFA (DHA, EPA, DPA).

Ejemplo 2

La etapa 1 y la etapa 3 se llevaron a cabo como en el ejemplo 1.

Etapa 2. En un reactor de vidrio de 2 l agitado que contiene 280 gramos de urea + 10 gramos de cloruro de dodeciltrimetilamonio y 800 ml de etanol al 90 % se añadieron 100 ml de aceite de ácido graso libre de la etapa 1. Se inició la agitación a 200 rpm y se calentó a 70 °C con una corriente de gas nitrógeno hasta que toda la urea se disolvió y se produjo una solución homogénea transparente. Se detuvo la agitación y la muestra se enfrió lentamente

a temperatura ambiente (~22 °C) durante 1,5 horas y se mantuvo durante 6 horas, con agitación intermitente durante 5 minutos a intervalos de media hora para ayudar en el inicio de la formación de cristales. Después, la reacción se enfrió más a 0 °C y se mantuvo durante 14 horas. Los cristales de urea formados se separaron mediante filtración al vacío sobre papel de filtro Whatman n.º 4 de filtro y se añadió la fracción de formación de complejos sin urea líquidos a un evaporador rotatorio y el etanol se eliminó a 50 °C y 14 mmHg de vacío hasta que el volumen constante de aceite. El aceite se diluyó con 200 ml de agua y se agitó durante 15 minutos. La capa oleosa se separó, se lavó con nitrógeno, se protegió con 75 ppm de alfa-tocoferol, para dar 28 ml de aceite enriquecido en PUFA.

Ejemplo 3

Etapa 1. Se añaden 50 gramos de aceite de salmón virgen a un matraz de 500 ml y la agitación comienza con el calentamiento a 60 °C. A esto se añadió una solución de 11,3 gramos de hidróxido de potasio disueltos en 40 ml de etanol y 12 ml de agua. La reacción se agitó durante 1 hora a 60 °C. A continuación, se detuvo el calentamiento y a 50 °C, se añadieron 60 ml de agua, seguido de 150 ml de hexano y se separaron las capas, la capa de hexano se desechó y la capa acuosa se acidificó a pH 1 usando HCl 6 N.

A esta capa acuosa se añadieron 150 ml de hexano y toda la mezcla se vertió en un embudo de separación. La capa orgánica y acuosa se dejó separar y el hexano en la capa orgánica se separó por destilación a 40 °C y 14 mmHg de vacío para producir 42 ml de ácido graso libre.

La etapa 2 y la etapa 3 se llevaron a cabo como en el ejemplo 1. El análisis de CG del aceite resultante usando procedimientos analíticos estándar mostró un 60 % de PUFA (DHA, EPA, DPA).

Ejemplo 4

La etapa 1 se llevó a cabo como en el ejemplo 3.

Etapa 2. En un reactor de vidrio de 2 l agitado que contiene 280 gramos de urea + 10 gramos de ácido adípico y 700 ml de etanol al 95 % se añadieron 100 ml de aceite de ácido graso libre de la etapa 1. Se inició la agitación a 200 rpm y se calentó a 70 °C con una corriente de gas nitrógeno hasta que toda la urea se disolvió y se produjo una solución homogénea transparente. Se detuvo la agitación y la muestra se enfrió lentamente a temperatura ambiente (~22 °C) durante 1,5 horas y se mantuvo durante 6 horas, con agitación intermitente durante 5 minutos a intervalos de media hora para ayudar en el inicio de la formación de cristales. Después, la reacción se enfrió más a -10 °C y se mantuvo durante 10 horas. Los cristales de urea formados se separaron mediante filtración al vacío sobre papel de filtro Whatman n.º 4 de filtro y se añadió la fracción de formación de complejos sin urea líquidos a un evaporador rotatorio y el etanol se eliminó a 50 °C y 14 mmHg de vacío hasta que el volumen constante de aceite. El aceite se diluyó con 200 ml de agua y se agitó durante 15 minutos. La capa oleosa se separó, se lavó con nitrógeno, se protegió con 75 ppm de alfa-tocoferol, para dar 36 ml de aceite enriquecido en PUFA.

La etapa 3 se llevó a cabo como en el ejemplo 1.

Ejemplo 5

La etapa 1 y la etapa 3 se llevaron a cabo como en el ejemplo 1.

Etapa 2. En un reactor de vidrio de 2 l agitado que contiene 280 gramos de urea + 10 gramos de ácido adípico y 800 ml de etanol al 95 % se añadieron 100 ml de aceite de ácido graso libre de la etapa 1. Se inició la agitación a 200 rpm y se calentó a 70 °C con una corriente de gas nitrógeno hasta que toda la urea se disolvió y se produjo una solución homogénea transparente. Se detuvo la agitación y la muestra se enfrió lentamente a temperatura ambiente (~22 °C) durante 1,5 horas y se mantuvo durante 6 horas, con agitación intermitente durante 5 minutos a intervalos de media hora para ayudar en el inicio de la formación de cristales. Después, la reacción se enfrió más a 10 °C y se mantuvo durante 18 horas. Los cristales de urea formados se separaron mediante filtración al vacío sobre papel de filtro Whatman n.º 4 de filtro y se añadió la fracción de formación de complejos sin urea líquidos a un evaporador rotatorio y el etanol se eliminó a 50 °C y 14 mmHg de vacío hasta que el volumen constante de aceite. El aceite se diluyó con 200 ml de agua y se agitó durante 15 minutos. La capa oleosa se separó, se lavó con nitrógeno, se protegió con 75 ppm de alfa-tocoferol, para dar 44 ml de aceite enriquecido en PUFA.

Ejemplo 6

La etapa 1 y la etapa 3 se llevaron a cabo como en el ejemplo 1.

Etapa 2. En un reactor de vidrio de 2 l agitado que contiene 280 gramos de urea + 10 gramos de 18-corona-6 y 800 ml de etanol al 95 % se añadieron 100 ml de aceite de ácido graso libre de la etapa 1. Se inició la agitación a 200 rpm y se calentó a 70 °C con una corriente de gas nitrógeno hasta que toda la urea se disolvió y se produjo una solución homogénea transparente. Se detuvo la agitación y la muestra se enfrió lentamente a temperatura ambiente (~22 °C) durante 1,5 horas y se mantuvo durante 6 horas, con agitación intermitente durante 5 minutos a intervalos

de media hora para ayudar en el inicio de la formación de cristales. Después, la reacción se enfrió más a 0 °C y se mantuvo durante 14 horas. Los cristales de urea formados se separaron mediante filtración al vacío sobre papel de filtro Whatman n.º 4 de filtro y se añadió la fracción de formación de complejos sin urea líquidos a un evaporador rotatorio y el etanol se eliminó a 50 °C y 14 mmHg de vacío hasta que el volumen constante de aceite. El aceite se diluyó con 200 ml de agua y se agitó durante 15 minutos. La capa oleosa se separó, se lavó con nitrógeno, se protegió con 75 ppm de alfa-tocoferol, para dar 37 ml de aceite enriquecido en PUFA.

Ejemplo 7

- 10 Etapa 1. Se añaden 50 gramos de aceite de salmón virgen a un matraz de 500 ml y la agitación comienza con el calentamiento a 60 °C. A esto se añadió una solución de 11,3 gramos de hidróxido de potasio disueltos en 40 ml de etanol y 12 ml de agua. La reacción se agitó durante 1 hora a 60 °C. El calentamiento se detuvo y a 50 °C se añadieron 60 ml de agua y toda la mezcla se acidificó a pH 1 usando HCl 6N. A esta mezcla de reacción se añadieron 150 ml de hexano y toda la mezcla se vertió en un embudo de separación. La capa orgánica y acuosa se dejó separar y el hexano en la capa orgánica se separó por destilación a 40 °C y 14 mmHg de vacío para producir 42 ml de ácido graso libre.

- 20 Etapa 2. En un reactor de vidrio de 2 l agitado que contiene 280 gramos de urea + 10 gramos de cloruro de benciltrimetilamonio y 800 ml de etanol al 95 % se añadieron 100 ml de aceite de ácido graso libre de la etapa 1. Se inició la agitación a 200 rpm y se calentó a 70 °C con una corriente de gas nitrógeno hasta que toda la urea se disolvió y se produjo una solución homogénea transparente. Se detuvo la agitación y la muestra se enfrió lentamente a temperatura ambiente (~22 °C) durante 1,5 horas y se mantuvo durante 6 horas para ayudar en el inicio de la formación de cristales. Después, la reacción se enfrió más a 0 °C y se mantuvo durante 16 horas. Los cristales de urea formados se separaron mediante filtración al vacío sobre papel de filtro Whatman n.º 4 de filtro y se añadió la fracción de formación de complejos sin urea líquidos a un evaporador rotatorio y el etanol se eliminó a 50 °C y 14 mmHg de vacío hasta que el volumen constante de aceite. El aceite se diluyó con 200 ml de agua y se agitó durante 15 minutos. La capa oleosa se separó, se lavó con nitrógeno, se protegió con 75 ppm de alfa-tocoferol, para dar 23 ml de aceite enriquecido en PUFA.

- 30 Etapa 3. En un reactor de vidrio de 250 ml agitado se añadieron 30 gramos de aceite enriquecido en PUFA de la Etapa 2, 1 gramo de glicerol y 3 gramos de Novozym 435 (enzima lipasa inmovilizada). El reactor se eliminó mediante lavado con nitrógeno, se calentó a 50 °C y la agitación se inició a 100 rpm a 400 mmHg de vacío. Después de 1 hora, el reactor se abrió y se añadieron 2 gramos de glicerol adicionales y la reacción se agitó durante 1 hora más a 100 mmHg de vacío. La reacción caliente se filtró directamente en papel Whatman n.º 4, para recuperar y reutilizar la enzima, y se lavó con 30 ml de agua tibia. El aceite se separó y se secó al vacío para dar 72 % de aceite esterificado (triglicéridos), medido por titulación del ácido graso libre todavía presente. El análisis GC del aceite utilizando procedimientos de análisis estándar mostró un 82 % de PUFA (DHA, EPA, DPA).

Ejemplo 8

- 40 Etapa 1. Se añaden 50 gramos de aceite de salmón virgen que se ha acondicionado para el invierno a 4 °C en un proceso de acondicionamiento para el invierno estándar a un matraz de 500 ml y la agitación comienza con el calentamiento a 60 °C. A esto se añadió una solución de 11,3 gramos de hidróxido de potasio disueltos en 40 ml de etanol y 12 ml de agua. La reacción se agitó durante 1 hora a 60 °C. El calentamiento se detuvo y a 50 °C se añadieron 60 ml de agua y toda la mezcla se acidificó a pH 1 usando HCl 6N.

A esta mezcla de reacción se añadieron 154 ml de hexano y toda la mezcla se vertió en un embudo de separación. La capa orgánica y acuosa se dejó separar y el hexano en la capa orgánica se separó por destilación a 40 °C y 14 mmHg de vacío para producir 40 ml de ácido graso libre.

- 50 La etapa 2 y la etapa 3 se repitieron como en el ejemplo 1 para dar un 73 % de aceite esterificado (triglicéridos), medido por titulación de ácido graso libre todavía presente. El análisis GC del aceite utilizando procedimientos de análisis estándar mostró un 60 % de PUFA (DHA, EPA, DPA).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un proceso para producir un aceite comestible con una concentración de ácido graso poliinsaturado de entre el 30 % en peso/peso y el 90 % en peso/peso, por cristalización selectiva y eliminación de ácidos grasos saturados y monoinsaturados del aceite, llevado a cabo en presencia de urea, un catalizador de transferencia de fase y un disolvente polar, en donde el catalizador de transferencia de fase está presente en una concentración de entre el 5 % en peso/peso y el 20 % en peso/peso del aceite de ácidos grasos libres y se selecciona de ácido adípico, 8-corona-6-éter, cloruro de benciltrimetilamonio, cloruro de dodeciltrimetilamonio, cloruro de cetiltrimetilamonio y cloruro de hexadeciltributylfosfonio.
- 10 2. El proceso de la reivindicación 1, en el que el aceite comestible es un aceite marino.
3. El proceso de la reivindicación 2, en el que el aceite marino es aceite de salmón producido a partir de la hidrólisis enzimática de recortes de salmón.
- 15 4. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la urea está presente a una concentración de entre el 200 % en peso/peso y el 400 % en peso/peso de la cantidad de aceite de ácido graso libre.
- 20 5. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el disolvente polar es cualquier disolvente de alcohol y es, preferentemente, etanol.
6. El proceso de la reivindicación 5, en el que el etanol se utiliza entre el 800 % en peso/peso y el 1.000 % en peso/peso de aceite de ácido graso libre.