

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 639 959**

51 Int. Cl.:

A23L 5/20 (2006.01)

A23L 17/40 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.09.2009 PCT/NO2009/000322**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **18.03.2010 WO10030193**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.09.2009 E 09813288 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.06.2017 EP 2334199**

54 Título: **Procedimiento de reducción del contenido de fluoruro cuando se producen concentrados proteínicos a partir de kril**

30 Prioridad:

12.09.2008 NO 20083906

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.10.2017

73 Titular/es:

**RIMFROST TECHNOLOGIES AS (100.0%)
P.O.Box 234
6099 Fosnavåg, NO**

72 Inventor/es:

**JANSSON KRAGH, STIG, TORE;
ERVIK, JON, REIDAR y
GRIMSMO, LEIF**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 639 959 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 reducción del contenido de fluoruro cuando se producen concentrados proteínicos a partir de kril

La presente invención se refiere a un procedimiento industrial para retirar fluoruro y oligoelementos no deseados contenidos en crustáceos. El procedimiento es especialmente favorable y eficaz para la reducción sustancial de fluoruro a partir de kril retirando cantidades sustanciales de la concha y el caparazón y formando varias fracciones a partir de los crustáceos, entre otras una emulsión lipídica y proteínica reducida en fluoruro. La invención también resuelve problemas de procesamiento relacionados con dichas emulsiones causados por contenido de lípidos elevado, y especialmente contenido de lípidos polares elevado con lípidos tales como fosfolípidos. Los productos finales producidos obtenidos mediante el procedimiento de acuerdo con la invención pueden usarse *per se* como alimento o pienso, como aditivos para alimentos/piensos, como nutracéuticos, cosmecéuticos/cosméticos o productos farmacéuticos o usarse como materiales de partida para procesamiento aguas abajo adicional. El procedimiento de acuerdo con la invención también es adecuado para usarlo en crustáceos diferentes de kril.

Antecedentes para la invención

Un problema no suficientemente abordado por la técnica anterior es el contenido de fluoruro y oligoelementos no deseados incluido en la concha, el caparazón y corteza de crustáceos. En la divulgación a continuación, se usa la noción "kril", lo que significa que el kril es una clase de crustáceos en los que este problema está especialmente acentuado, pero también otros tipos de crustáceos son relevantes en la presente invención. Otro problema relacionado con el kril, y especialmente el kril antártico, es el alto contenido de lípidos polares durante la segunda mitad de la temporada de pesca.

Tal como se ha mencionado, un problema bien conocido cuando se procesa kril antártico (*Euphausia superba*) es que el contenido de lípidos, y especialmente el contenido de lípidos polares tales como fosfolípidos, puede ser muy alto durante la segunda mitad de la temporada, de abril/mayo a junio/julio.

Como norma para la mayoría de las especies animales conocidas, el contenido de lípidos polares, tales como fosfolípidos, es casi constante y las variaciones en el contenido de lípidos totales son causadas por variaciones en el contenido de lípidos neutros tales como triglicéridos. A pesar de estas muy altas variaciones del contenido de lípidos, la relación entre triglicéridos y fosfolípidos es casi constante para el kril antártico. También es bien conocido que lípidos, y especialmente fosfolípidos, causan emulsiones fuertes. Dichas emulsiones causan problemas en la separación de las fracciones en los procedimientos, tales como hidrólisis, lo que implica separación de fracciones lipídica y proteínica. El procedimiento desarrollado de acuerdo con la presente invención también resuelve los problemas de emulsión creando un agregado de proteínas y fosfolípidos no solubles antes y durante la última etapa de separación en el procedimiento.

El kril representa un vasto recurso para material biológico. La cantidad de kril antártico (*Euphausia superba*) que vive en el océano atlántico, aunque variable dependiendo del procedimiento de cálculo y la investigación, es de aproximadamente 1 a 2×10^9 toneladas y el posible peso de captura se estima en de 5 a 7×10^6 toneladas. Estos pequeños crustáceos que viven en las aguas frías alrededor de la Antártida, son interesantes como fuente de proteínas, lípidos tales como fosfolípidos, ácidos grasos poli-insaturados etc., quitina/quitosana, astaxantina y otros carotenoides, enzimas y otros materiales, y se han desarrollado varios procedimientos para aislar dichos materiales.

Los antecedentes para la presente invención se basan en la circunstancia de que el kril acumula fluoruro en su concha, aumentando la cantidad de fluoruro de cualquier material producido bien a través de la inclusión de dichas partes de la concha, a través de procedimientos de extracción que no tienen en cuenta la transferencia de fluoruro al material final a través de las etapas de extracción o a través de procedimientos que requieren tiempo en los que fluoruro libre o fluoruro unido débilmente puede difundir desde el material de la concha y al interior del material procesado adicional, haciendo al producto final alto en iones fluoruro o compuestos fluorados.

El fluoruro es un compuesto que, a concentraciones elevadas, es perjudicial para la salud de animales terrestres así como toda clase de peces y crustáceos y especialmente especies de peces de agua dulce, dado que los átomos de flúor tienen la tendencia de entrar en la estructura ósea de dichos organismos y crear fluorosis (un debilitamiento de la estructura ósea de efectos similares a la osteoporosis, pero diferente dado que es la propia estructura ósea, y no la porosidad del hueso la que resulta afectada). La fluorosis esquelética es una afección caracterizada por anomalías esqueléticas y dolor articular. Está causada por la formación ósea patológica debido a la acción mitógena del fluoruro sobre los osteoblastos. En sus formas más graves, la fluorosis esquelética causa cifosis, minusvalía e invalidez. También pueden producirse complicaciones neurológicas secundarias en forma de mielopatía, con o sin radiculopatía. La ingesta elevada de fluoruro también ha demostrado ser tóxica para el aparato reproductor masculino en experimentos en rata, y en seres humanos la ingesta elevada de fluoruro y los síntomas de fluorosis esquelética se han asociado con niveles de testosterona en suero reducidos.

En consecuencia, si el material de kril se usará como material de partida para productos para alimentos o piensos, hay que tomar precauciones para retirar el fluoruro a través de las etapas de procesamiento. Sin embargo, la difusión de fluoruro y la presencia de minúsculo material de la concha de kril representan un problema que es el más difícil de superar cuando se procesa material de kril a escala industrial.

Adicionalmente, puede ser ventajoso reducir el contenido de cenizas incluyendo oligoelementos del material proteínico producido a partir de la captura.

5 Por lo tanto, existe una necesidad de un procedimiento industrial que produzca materiales proteínicos y lípidos a partir de kril, en el que el fluoruro se retira de forma rentable para producir productos con contenido de fluoruro significativamente reducido.

10 Los lípidos polares tales como fosfolípidos son esenciales para las membranas celulares y también son llamados lípidos de membrana. Normalmente, el contenido de lípidos totales en peces y otros animales acuáticos y terrestres varía debido a variaciones en la accesibilidad al pienso a lo largo del año. Las variaciones son causadas normalmente por variaciones en el contenido de lípidos no polares en los organismos, que se almacenan y se usan como reservas de energía durante periodos de bajo o ningún acceso a pienso, mientras que el contenido de fosfolípidos es relativamente constante. Sin embargo, para el kril antártico esto es diferente debido a que el contenido relativo de triglicéridos y fosfolípidos permanece casi constante también cuando el contenido de grasa en esta especie varía entre el 2 % hasta el 10 % durante la temporada de pesca/recogida. Esto significa que el contenido de fosfolípidos en kril antártico en bruto puede ser de hasta el 5 %. Se sabe que los lípidos, y especialmente lípidos polares como fosfolípidos, crean emulsiones fuertes en procesamiento industrial de acuerdo con la técnica anterior que implica etapas de calentamiento, agitación y separación tal como un proceso de hidrólisis. Esta emulsión normalmente causará problemas en la separación de las fracciones de lípidos y de proteínas.

15 Por lo tanto, también existe una necesidad de un procedimiento industrial para la eliminación de problemas de separación causados por emulsión cuando se producen concentrados proteínicos a partir de kril.

20 También existe una necesidad de un procedimiento industrial versátil que aborda tanto la retirada de flúor a partir del material de kril procesado como los contenidos variables de lípidos polares en el material de kril.

Técnica anterior

25 En la patente FR 2835703 (Solicitante: Techniagro, Inventor: Fanni, J. y col., 15 de marzo de 2002) se desvela un procedimiento de aislamiento para obtener un hidrolizado de proteínas a partir de una fuente marina tal como descartes de fileteado y otros materiales de desecho marinos (entre otros mariscos). La patente incluye etapas de trituración, hidrólisis, filtración y centrifugado, pero no es particularmente adecuado para procesar kril y ciertamente no se refiere al problema de retirar fluoruro del material.

30 También la secuencia de etapas en cualquier procedimiento de procesamiento tiene un impacto sobre la calidad y la composición del producto final. De este modo, el procedimiento mencionado anteriormente de acuerdo con Fanni no produce, ni es adecuado para retirar, fluoruro del material procesado.

También el procedimiento de acuerdo con Fanni no aborda el problema con alto contenido de lípidos polares en el material procesado, y no ofrece ninguna solución a este problema.

35 En la patente EP 1417 211 B1 (Neptune Technologies & Bioresources, Inc.) se desvela una composición que incluye un fosfolípido particular y un flavonoide particular y el uso de los mismos para producir un medicamento adecuado para tratar o prevenir una serie de enfermedades. La composición se produce a partir de fuentes marinas o acuáticas naturales, entre otras kril (*Euphausia superba*, kril antártico y *Euphausia pacifica*, kril atlántico) así como kril del Océano Índico, Islas Mauricio y/o Isla de la Reunión de Madagascar, la costa oeste canadiense, la costa japonesa, el Golfo de San Lorenzo y la bahía de Fundy y otros hábitats de kril. Se describe que el procedimiento para extraer el fosfolípido y flavonoide relevante es mediante un procedimiento llevado a cabo mediante tratamientos sucesivos con acetona y alcohol después de una etapa de molienda/trituración inicial. De nuevo, no se han tomado precauciones para retirar el fluoruro del material, y en realidad el producto producido, aunque conteniendo el fosfolípido y flavonoide indicados, no tiene de ninguna manera la misma composición que el producto de acuerdo con la presente invención al menos por la razón de que el presente procedimiento no incluye extracciones con acetona o alcohol, y también incluye una serie de etapas mecánicas para retirar material de kril sólido de la masa de kril inicial.

45 En la patente GB 2 240 786 (Korea Food Research Institute) se reconoce el problema con el alto contenido de fluoruro del kril, pero se propone hacer pasar corriente eléctrica a través de kril pulverizado para retirar fluoruro usando electrodos de aluminio, sin tener en cuenta el problema con la retirada real de las partículas finas de la sustancia de kril triturado, retirando de este modo potencialmente el fluoruro libre pero, en su lugar, creando otros problemas relativos a la retirada de las partículas finas y también sin tener en cuenta las cantidades bastante grandes de fluoruro unido que aún están presentes en las minúsculas partículas de la concha que quedan en el material electrolizado.

50 En la patente US 5 053 234 (Anderson y col.) se desvela un producto proteínico producido a través de un procedimiento que implica una fase de molienda, una fase de hidrólisis usando enzimas proteolíticas, una fase de inactivación que implica calentamiento del material y simultáneamente producción de un aceite a través del calentamiento, una fase de cribado para retirar agua del producto, y una posterior fase de separación de aceite para retirar aceite del producto final. De nuevo, no se indica nada en relación con la retirada de fluoruro del material.

El documento Yoshitomi y col: "Effect of total replacement of dietary fish meal by low fluoride krill (*Euphausia superba*) meal on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in fresh water", AQUACULTURE, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 266, no. 1-4, 24 de abril de 2007 (24-04-2007), páginas 219-225, XP022043624, ISSN: 0044-8486, DOI:10.1016/J.AQUACULTURE.2006.12.043 desvela una harina de kril baja en fluoruro que tiene fluoruro reducido (reducción de más del 70 %), que comprende un contenido de fosfolípidos del 77,3 % que es de aproximadamente el 50 %.

Además, los documentos Manthey M. y col: "Reduction of the fluoride content of krill by acid treatment. (traducido)", Informationen Fuer Die Fischwirtschaft, Hamburg, De, vol. 30, no. 2, 1 de enero 1983 (01-01-1983), páginas 102-106, XP009170033, ISSN: 0020-0344 y Tenuta Filho A.: "Fluorine removal during production of krill paste and krill protein concentrates", Acta Alimentaria, Akademiai Krado. Budapest, Hu, vol. 22, no. 4, 1 de enero 1993 (01-01-1993), páginas 269-281, XP009169998, ISSN: 0139-3006 desvelan tecnología relacionada, pero no sugieren añadir una enzima proteolítica.

Divulgación general de la invención

La presente invención proporciona un procedimiento industrial para procesar capturas de kril que comprende una serie de etapas que presentan una muy temprana y sustancialmente completa retirada de corteza, caparazón y concha y, de este modo, una retirada sustancial de fluoruro del material de kril. El procedimiento también previene problemas de separación causados por emulsiones cuando se procesa una materia prima con alto contenido de fosfolípidos.

El procedimiento de acuerdo con la presente invención se inicia inmediatamente después de subir a cubierta una captura de kril. Es importante que el procedimiento de acuerdo con la presente invención se inicie lo más pronto posible después de que la captura de kril se ha subido a cubierta dado que el fluoruro comienza inmediatamente a fugarse/difundirse a partir de la corteza y el caparazón al interior de la carne y los jugos del kril muerto.

Cuando se usa el término "inmediatamente" en relación con el comienzo del procedimiento de acuerdo con la presente invención esto se refiere al periodo desde subir a cubierta la captura de kril y hasta la disgregación inicial del kril (véase más adelante). Este periodo de tiempo debe mantenerse en un mínimo, y no debe superar preferentemente 60 minutos, más preferido no superar 30 minutos, aún más preferido no superar 15 minutos, y debe incluir una transferencia directa de la captura de kril desde la bolsa/red de arrastre a un disgregador adecuado. Un disgregador del material de kril puede ser una máquina de reducción a papilla, molienda, trituración o desmenuzado convencional.

La captura de kril se carga inicialmente en un aparato para disgregación de la materia prima a través de, por ejemplo, reducción a papilla/molienda/trituración/desmenuzado. La temperatura del proceso de disgregación es aproximadamente la temperatura ambiente del agua, es decir entre -2 y +10 °C, de forma preferente aproximadamente +0 °C y +6 °C, y puede realizarse mediante cualquier procedimiento de disgregación conveniente. Este procedimiento de disgregación también se realiza convencionalmente mediante los procedimientos de procesamiento conocidos anteriormente, y representa uno de los obstáculos de acuerdo con la técnica anterior, dado que produce grandes cantidades de restos de concha y corteza a partir de mezclar kril en el material molido y producir una pasta disgregada con un alto contenido de fluoruro. Sin embargo, este alto contenido de fluoruro es una de las razones por las que el material de kril procesado de la técnica anterior presenta aplicaciones limitadas y es menos adecuado para alimentos, pienso o aditivos para alimentos o pienso correspondientes en comparación con otras materias primas marinas, por ejemplo peces pelágicos.

De acuerdo con la presente invención, el material de kril se divide a un tamaño de partícula adecuado para una etapa de separación adicional para no interferir en las posteriores etapas de procesamiento.

El proceso de disgregación se realiza de forma continua y causa tamaños de partícula de hasta 25 mm, un tamaño de partícula preferido es 0,5-10 mm y más preferido 1,0 - 8 mm. La distribución del tamaño de partícula representa uno de los aspectos de la invención, dado que el fluoruro tiene tendencia a fugarse fuera del material molido y mezclarse con el resto de la materia prima. Sin embargo, este proceso de fuga requiere tiempo y no es tan rápido como para resultar preventivo de una posterior etapa de hidrólisis enzimática, siempre que la etapa de hidrólisis se realice dentro de parámetros específicos con respecto al tiempo y condiciones óptimas o casi óptimas tales como pH y temperatura y opcionalmente con la adición de cofactores tales como iones específicos que dependen de las enzimas usadas.

La temperatura del material disgregado se elevará, de acuerdo con la presente invención, a una temperatura adecuada para la hidrólisis enzimática posterior. La temperatura se incrementará lo más pronto posible (en el plazo de segundos [por ejemplo 1-300 segundos, más preferido 1-100 segundos, aún más preferido 1-60 segundos, lo más preferido 1-10 segundos]) posterior a la etapa de disgregación para reducir el tiempo de procesamiento y, de este modo, prevenir la difusión de fluoruro y para preparar el material para la hidrólisis enzimática.

De acuerdo con la presente invención, las enzimas pueden añadirse directamente al material disgregado o a través del agua añadida o ambos, antes, durante o después del proceso de disgregación.

De acuerdo con la presente invención, se añadirán enzimas proteolíticas exógenas (por ejemplo alcalasa, neutrasa, y enzimas derivadas de microorganismos [*Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger*, etc.] o especies vegetales) antes, durante o después de la disgregación, y antes, durante o después del calentamiento del material disgregado. La enzima o enzimas añadidas pueden estar en forma de una enzima individual o una mezcla de enzimas. Las condiciones de la hidrólisis deben coincidir con las condiciones hidrolíticas óptimas de la enzima o enzimas añadidas y la selección de condiciones óptimas para la enzima o enzimas hidrolíticas exógenas seleccionadas es conocida por el experto en la materia. Como ejemplo, la enzima exógena alcalasa que tiene un pH óptimo de aproximadamente 8, una temperatura óptima de 60 °C y un tiempo de hidrólisis de 40-120 minutos. Las enzimas, o combinación de enzimas, seleccionadas también deben seleccionarse para reducir emulsiones causadas por el alto contenido de fosfolípidos en la materia prima.

La cantidad eficiente de enzima o enzimas proteolíticas se ajustará después de una optimización del procedimiento y el producto, y también dependerá de la eficiencia de la enzima o mezcla de enzimas comercial seleccionada específica. Una cantidad típica en peso de enzimas comerciales, como una relación de la cantidad del peso de la materia prima disgregada, está preferentemente entre el 0,5 % y el 0,05 %, más preferentemente entre el 0,3 % y el 0,07 % y de la forma más preferible entre el 0,2 % y el 0,09 %. El kril recién capturado es conocido por autólisis rápida e incontrolada por enzimas (naturales) endógenas.

La razón para añadir enzimas exógenas es asumir el control de, y guiar, la descomposición del material proteínico en la sustancia disgregada así como ayudar a apresurar/acelerar la hidrólisis del material (véase más adelante) con motivo de evitar/preceder la fuga de flúor a partir de la concha, caparazón y corteza tal como se ha mencionado anteriormente. Las enzimas, o la combinación de enzimas, también deben seleccionarse cuidadosamente para reducir la emulsión en el procedimiento de producción. Las enzimas pueden seleccionarse entre exo- y/o endopeptidasas. Si se usa una mezcla de enzimas, dicha mezcla también puede incluir una o más quitinasas para hacer posteriormente a la fracción o fracciones que contienen quitina más susceptibles a procesamiento aguas abajo adicional. Si se usan quitinasas, hay que tener cuidado de no aumentar la fuga de flúor a partir de la concha/corteza/caparazón del kril en las otras fracciones. Sin embargo, dado que dicha fuga de flúor requiere tiempo, es posible realizar dicho tratamiento enzimático dentro de los parámetros de tiempo indicados anteriormente. Una alternativa más conveniente a incluir quitinasas en la mezcla de enzimas de la etapa de hidrólisis inicial será procesar la fracción que contiene quitina separada, posteriormente a la etapa de separación.

Dado que es importante evitar la fuga de fluoruro a partir del material molido, y dado que la fuga en cierta medida está relacionada con el área superficial aumentada creada a través de la etapa de disgregación, la etapa de hidrólisis enzimática debe terminar dentro de un intervalo de tiempo de 100 minutos, preferentemente en el plazo de 60 minutos, lo más preferido en el plazo de 45 minutos calculado desde la adición de la enzima o enzimas endógenas. La cantidad de enzima o enzimas añadidas está relacionada con el tipo de producto enzimático usado. Como ejemplo, puede mencionarse que la enzima alcalasa puede añadirse en una cantidad del 0,1 - 0,5 % (p/p) de la materia prima. Esto debe contextualizarse con las enzimas endógenas añadidas, dado que la adición de más enzimas reducirá el intervalo de tiempo de la etapa hidrolítica. Tal como se ha mencionado anteriormente, el tiempo de la etapa hidrolítica es una de las características cruciales del presente procedimiento dado que un tiempo de hidrólisis corto reduce el tiempo de difusión de flúor a partir de partículas de la concha, el caparazón y la corteza. La etapa de procesamiento enzimático hidrolítico pretende eliminar la unión entre el tejido blando del kril y la concha, corteza y caparazón externo del crustáceo.

Posteriormente a o junto con la etapa de procesamiento hidrolítico, el material de kril se hace pasar a través de un dispositivo de retirada de partículas que opera a través de una fuerza gravitatoria tal como un decantador. Esta etapa de separación retira las partículas finas que contienen una cantidad considerable del fluoruro a partir del material de kril hidrolizado o en hidrólisis. El decantador se hace funcionar con una fuerza g entre 1.000 y 1.800 g, más preferentemente entre 1.200 y 1.600 g y de la forma más preferente entre 1.300 y 1.500 g. A través de esta etapa de retirada de partículas, una cantidad sustancial de flúor es retirada de la fracción de kril proteínica. La reducción de flúor basándose en el peso seco en comparación con una harina de kril convencional, con un contenido de flúor típico de 1.500 ppm, puede ser de hasta el 80 %, aún más preferido hasta el 85 %, lo más preferido hasta el 95 %.

La hidrólisis enzimática puede terminarse mediante el calentamiento del material en hidrólisis (incubado) a una temperatura por encima de 90 °C, preferentemente entre 92 - 98 °C y lo más preferido entre 92 - 95 °C, antes de, durante o después de la etapa de separación, siempre que la duración de la hidrólisis esté dentro de los límites proporcionados anteriormente. La hidrólisis termina antes, durante o después de la etapa de retirada de partículas finas, lo más preferido después de la etapa de retirada de partículas finas. La temperatura de la etapa de retirada de partículas del decantador dependerá, en una realización, de la temperatura de actividad óptima de la enzima (en el caso donde la etapa de hidrólisis enzimática se termina por calentamiento después de la etapa de separación de partículas finas).

El contenido de flúor en el material con proteínas de kril de la técnica anterior tiene aplicaciones limitadas y es menos adecuado para alimentos o pienso o aditivos para alimentos o pienso correspondientes, tal como se ha mencionado anteriormente pero el contenido de flúor del material de la concha retirado no es preventivo de separación/purificación adicional de esta fracción. Por lo tanto, materiales tales como quitina, quitosana y

astaxantina pueden aislarse a partir del material de la concha separado. Dichos procedimientos de aislamiento se conocen en la técnica. También pueden emprenderse etapas para retirar el flúor del material de la concha aislado por ejemplo a través de diálisis, nanofiltración, a través de electroforesis u otras tecnologías apropiadas.

5 La enzima o enzimas hidrolíticas se desactivan. Dicha desactivación puede realizarse de diferentes maneras, tales como añadiendo inhibidores, retirando cofactores (por ejemplo iones cruciales a través de diálisis), a través de inactivación térmica o cualquier otro medio de desactivación. Entre esta inactivación térmica, tal como se ha mencionado anteriormente, se prefiere calentar el material proteínico a una temperatura donde las enzimas hidrolíticas se vuelven desnaturalizadas y desactivadas. Sin embargo, si se desea un producto donde las proteínas nativas relevantes no estén desnaturalizadas, deben seleccionarse medios diferentes de calentamiento para
10 desactivar las enzimas hidrolíticas.

El material proteínico que sale del decantador forma un incubado desfluorado y puede separarse formando un complejo de fosfolípidos/péptido (PPC), una fracción de hidrolizado magra como aditivos para alimentos o pienso y una fracción lipídica que consiste principalmente en lípidos neutros.

15 El PPC es rico en lípidos, como una crema suave sin partículas, y está bien suspendido en el material proteínico. Esto da pequeñas diferencias de densidad en el material y le hace difícil de separar con separadores y decantadores centrífugos comunes. Esto se acentúa especialmente con capturas de kril durante la segunda mitad de la temporada de pesca.

20 Los separadores centrífugos de disco ordinarios no funcionarían apropiadamente, dado que el vaciado y los ciclos de limpieza con agua necesarios alterarían las zonas de separación, causarían emulsiones en productos con alto contenido de fosfolípidos, y darían como resultado bajas concentraciones de materia seca de PPC. Los decantadores estándar no tendrían posibilidad de separar debido a la baja fuerza g, la corta zona de separación y la entremezcla de la fase ligera y pesada en la descarga de la fase pesada desde la máquina. La separación del material proteínico en sub-fracciones se realizará, por lo tanto, preferentemente mediante una centrifuga decantadora horizontal diseñada especialmente con una trayectoria de separación extendida tal como se muestra en
25 la figura 1.

La figura 1 muestra un decantador diseñado especialmente con una trayectoria de separación extendida. Este ejemplo es una centrifuga decantadora horizontal FLOTTWEG SEDICANTER®.

30 El decantador especialmente diseñado es esencialmente una centrifuga decantadora pero con algunas diferencias novedosas. Como para decantadores ordinarios, el pienso entra en el cuenco a través de una tubería de alimentación colocada central en el medio de la zona de separación. En este decantador especial, el pienso entra en el extremo y en el lado opuesto de la salida (1). Esto da la característica de una zona de clarificación/separación considerablemente más larga que los decantadores ordinarios y utiliza la longitud de separación disponible total (2) de la máquina. El impulso es capaz de impartir fuerzas g elevadas: 10.000 g para máquinas pequeñas y de 5.000 a 6.000 g para máquinas de alta capacidad, lo que facilita la separación de PPC de sedimentación lenta muy fino sin emulsificación. El PPC concentrado estará sometido a la fuerza g más elevada justo antes de entrar debajo del deflector (3). Las diferentes capas líquidas de PPC se concentran gradualmente y el PPC puede escapar solamente
35 debajo del deflector, ser presurizado por la fuerza g y empujado al exterior por la máquina (4). La concentración del PPC a aproximadamente el 27-30 % de materia seca hace al procesamiento aguas abajo eficiente en términos de funcionamiento/robustez y también económicamente considerando tanto rendimiento como costes para el secado de PPC a una harina. También es importante tener una buena separación en esta etapa para conseguir un hidrolizado magro sin alterar macromoléculas que son capaces de concentrar el hidrolizado mediante evaporación a una concentración final de más del 60 %.

40 El contenido de lípidos en el PPC basándose en materia seca está reflejado por las variaciones estacionales del contenido de lípidos en la materia prima y es normalmente de aproximadamente el 50 %. La reducción de flúor basándose en peso seco en comparación con una harina de kril comercial en el PPC está, preferentemente, por encima del 70 %, más preferido por encima del 75 % y lo más preferido por encima del 80 %.

45 El contenido de materia seca en la CHF (fracción de hidrolizado concentrado) después de la separación y después de la evaporación está, preferentemente, por encima del 45 %, más preferido por encima del 50 % y lo más preferido por encima del 55 %. El contenido de lípidos en la CHF basándose en materia seca está, preferentemente, por debajo del 5 %, más preferido por debajo del 4 % y lo más preferido por debajo del 3 %. La reducción de flúor basándose en peso seco en comparación con una harina de kril comercial en la CHF está preferentemente por encima del 85 %, más preferido por encima del 90 %, lo más preferido por encima del 96 %.

50 Aunque la CHF tiene un contenido de lípidos bajo y una actividad acuosa baja ($a_w < 0,79$) esta fracción podría almacenarse a una temperatura por debajo de 4 °C durante más de 12 meses sin ningún crecimiento microbiano significativo u otra degradación del producto.

55 La oxidación lipídica en lípidos marinos avanza de forma relativamente rápida también durante el almacenamiento en frío, siendo ésta la razón por la cual el procedimiento de acuerdo con la invención debe llevarse a cabo en material recién capturado a bordo de un barco pesquero. El PPC puede congelarse, pero la mejor manera industrial

5 y económica de proporcionar un producto estable en almacenamiento es, sin embargo, secar el PPC, preferentemente en un proceso de secado suave con bajas temperaturas (0-15 °C, por ejemplo 1-10 °C o 2-8 °C) y en condiciones inertes. Esto da un estrés oxidativo reducido en los ácidos grasos omega-3 poli-insaturados de cadena larga (n-3 LCPUFA). Un procedimiento de liofilización también es muy adecuado dado que evita un sobrecalentamiento del producto. Además, puede obtenerse un producto mejorado mediante vacío y baja temperatura (dentro del intervalo anterior) y secado en superficie raspada del PPC.

El producto único PPC seco que contiene poco fluoruro es muy adecuado para la producción farmacéutica, consumo humano tal como productos nutracéuticos, productos de ingredientes alimentarios, consumo humano en general e ingredientes especiales en pienso.

10 El PPC seco es muy adecuado para procesamiento aguas abajo adicional de las sustancias de interés independientes, especialmente dado que se ha retirado el agua. Esto hace a un procedimiento de extracción posterior significativamente más sencillo y más rentable en comparación con la extracción de materia prima/descongelada.

15 La capacidad de almacenamiento de la harina de PPC es extraordinariamente buena con motivo de valores iniciales bajos de productos de oxidación que están presentes en la captura fresca. La harina de PPC se produce preferentemente en una atmósfera inerte, se envasa en una atmósfera inerte y en un envase con una buena barrera al oxígeno, prolongando el periodo de vida en almacenamiento significativamente.

Ejemplo:

20 Una fracción de 500 kg de una captura de 10 toneladas de kril antártico se desmenuzó inmediatamente (máximo 20 minutos después de la captura) a través de una cortadora de cuchilla en trozos de un tamaño de partícula de 3-6 mm a una temperatura de 1-2 °C, y se le añadieron inmediatamente 500 litros de agua dulce y alcalasa en una cantidad del 0,2 % (p/p) del peso seco de kril y a continuación se calentó a una temperatura de 55-60 °C.

25 A la enzima se le permitió funcionar durante 45 minutos a dicha temperatura. El material se alimentó seguidamente a un decantador accionado en las siguientes condiciones: Temperatura: 90 °C, fuerza de gravedad a 1.400 g y con una velocidad de alimentación de 1,2 toneladas de suspensión de kril/agua/enzima por hora causando una separación de las partículas finas que contienen flúor y una fracción proteínica líquida que sale del decantador. El material se calentó a continuación a una temperatura de 93 °C con el fin de terminar la hidrólisis enzimática y desnaturalizar/aglomerar la proteína insoluble junto con lípidos polares para seguir la separación. La fracción proteínica líquida se transfirió inmediatamente después a una etapa de separación mediante un decantador diseñado especialmente (Sedicanter) mencionado anteriormente, que separa la fase sólida que contiene proteínas insolubles y un concentrado de lípidos polares (PPC) del hidrolizado.

35 El PPC se mezcla seguidamente con un agente antiaglomerante de calidad alimentaria, se seca en un secador al vacío de película fina y se envasa en bolsas herméticas en atmósfera de nitrógeno. La proteína soluble acuosa (hidrolizado) y la fase lipídica neutra se alimentan a un separador que separa la fase lipídica neutra del hidrolizado. El aceite se almacena en recipientes herméticos en atmósfera de nitrógeno.

El hidrolizado se alimenta de forma continua a un evaporador ultrarrápido para deshidratado/concentración, dando una fracción de hidrolizado concentrado (CHF) con un peso seco del 55-70 % y se almacena en recipientes herméticos en atmósfera de nitrógeno.

40 Un equilibrio de masas típico para el procesamiento de kril antártico magro en bruto se muestra en la tabla I a continuación:

Tabla I. *Equilibrio de masas para el procesamiento de kril antártico magro en bruto.*

Fracción	A partir de 500 kg de kril en bruto	Peso seco en la fracción
PPC (complejo fosfolípido/péptido)	80 kg	28 %
PPC seco (con agente antiaglomerante)	25 kg	97 %
Hidrolizado	770 kg	6,1 %
CHEF (fracción de hidrolizado concentrado)	78 kg	60 %
Partículas finas que contienen flúor (fragmentos de concha y caparazón)	45 kg	40 %
Aceites neutros	< 5 kg	100 %

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para retirar flúor de una captura de crustáceos, **caracterizado porque** los crustáceos, inmediatamente después de haber sido desembarcados y a una temperatura de aproximadamente la temperatura ambiente del agua, se disgregan en partículas más pequeñas, y al material disgregado se le añade agua dulce y se calienta a una temperatura óptima para añadir una enzima, o composición enzimática, proteolítica y temperatura a la cual a la enzima o enzimas añadidas se les permite trabajar durante no más de 100 minutos, siendo el material hidrolizado alimentado a un dispositivo de separación para separar sólidos del material procesado, y a través de esta retirada de la fracción de sólidos, reducir el contenido de flúor del material proteínico restante en al menos el 85 %, siendo las enzimas añadidas (exógenas) y naturales (endógenas) en la hidrólisis de material proteínico disgregado desactivadas antes, durante o después de la retirada de la fracción de sólidos del material procesado enzimáticamente.
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado porque** la captura de crustáceos tiene un alto contenido de lípidos polares, tales como fosfolípidos.
3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, **caracterizado porque** los crustáceos se disgregan en partículas con un tamaño no mayor de 25 mm.
4. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, **caracterizado porque** al material de crustáceos disgregado se le añade agua dulce en una relación de 0,5 a 1,5 respecto al peso en bruto del material de crustáceos.
5. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1-4, **caracterizado porque** la temperatura del agua usada en la etapa de disgregación de los crustáceos está en el intervalo entre -2 y +10 °C, de forma preferente aproximadamente +0 °C y +3 °C.
6. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, **caracterizado porque** el material de crustáceos se disgrega a un tamaño de partícula de 0,5-10 mm, más preferido 1,0-8 mm.
7. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la adición del agua después de la etapa de disgregación se realiza en el plazo de 20 segundos desde la etapa de disgregación.
8. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** el dispositivo de separación se acciona a través de fuerzas de separación gravitacionales elevadas, por ejemplo un decantador.
9. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la enzima, o composición enzimática, proteolítica se optimiza para evitar la emulsión.
10. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** los sólidos se separan con un decantador con fuerzas G elevadas, y zonas de clarificación/separación largas, tales como un Sedicanter, que permiten separar un material de sedimentación lenta y proteínico rico en fosfolípidos sin emulsificación.
11. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la temperatura de la etapa de calentamiento se incrementa en el plazo de segundos, por ejemplo, 1-300 segundos, más preferido 1-100 segundos, aún más preferido 1-60 segundos, lo más preferido 1-10 segundos después de la etapa de disgregación.
12. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la enzima o composición enzimática añadida comprende alcalasa y/o neutrasa y/o enzimas derivadas de microorganismos [*Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger*, etc.] o especies vegetales.
13. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la enzima se desactiva en el plazo de un periodo de 60 minutos, lo más preferido en el plazo de 45 minutos calculados a partir de la adición de la enzima o enzimas.
14. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la enzima o enzimas se desactivan a través del incremento de la temperatura, preferentemente incrementando la temperatura a una temperatura por encima de 90 °C, preferentemente 92 - 98 °C, lo más preferido 92 - 95 °C.
15. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** el crustáceo es kril, lo más preferido kril antártico.

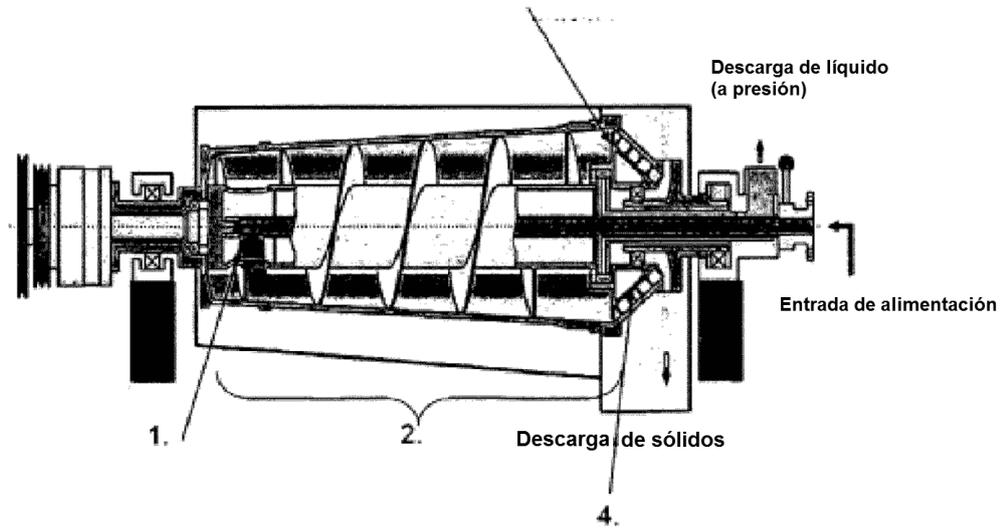


Fig. 1