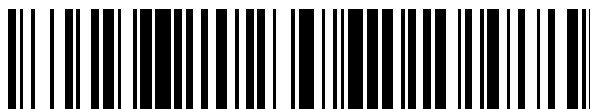


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 661 889**

51 Int. Cl.:

A23D 9/02 (2006.01)

C11C 3/10 (2006.01)

C11C 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.06.2015** **E 15461538 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.10.2017** **EP 2974604**

54 Título: **Un proceso para producir una mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos vegetales con un alto contenido de isómeros cis**

30 Prioridad:

11.06.2014 PL 40850914

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

04.04.2018

73 Titular/es:

**SKOTAN S.A. (100.0%)
Dyrekcyjna 6
41-506 Chorzow, PL**

72 Inventor/es:

**HARASYM, JOANNA;
BASZCZOK, MALGORZATA y
MARYCZ, KRZYSZTOF**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 661 889 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

Un proceso para producir una mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos vegetales con un alto contenido de isómeros cis

La presente invención se refiere a un método de producir una mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos vegetales con un alto contenido de isómeros cis de ácidos grasos insaturados, según la reivindicación 1 (lo que significa una mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos vegetales con un contenido de isómeros cis de ácidos grasos omega que suma al menos el 95% del contenido inicial de isómeros cis de ácidos grasos insaturados: omega 3, omega 6 u omega 9 en el aceite vegetal usado para producir estos ésteres, según la reivindicación 4).

Se conocen suplementos alimenticios que contienen aceites vegetales y animales (particularmente de pescado) que contienen ácidos grasos omega 3, omega 6 y omega 9. Los aceites naturales de hígado de tiburón, bacalao y otros pescados poseen propiedades que fomentan la salud conocidas. Sin embargo, debido al olor y sabor específicos de estos, su vida útil relativamente corta y disponibilidad limitada, su utilidad en la fabricación de nutracéuticos es limitada.

Los ácidos grasos omega naturales pierden su actividad durante el procesamiento y almacenamiento, según se oxidan.

Las solicitudes de patente polacas P-378114, P-386610 y P-386608 se refieren a un método de producir ácidos grasos que fomentan la salud a partir de aceite de linaza.

Se ha encontrado que los ésteres etílicos de ácidos grasos insaturados naturales son particularmente útiles en el suplemento de la dieta, ya que tienen una mayor biodisponibilidad en relación a triglicéridos evaluados hasta ahora y propiedades anti-ateroscleróticas y anti-arritmogénicas más fuertes.

Según la posición de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria / Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, 2008 Borrador lista consolidada de Reivindicaciones de Salud / una dieta que contiene una proporción apropiada de ácidos ω -6 respecto a ω -3 apoya una serie de actividades que fomentan la salud. La proporción apropiada fomenta el funcionamiento del músculo cardíaco, normaliza la presión sanguínea, tiene actividad anticoagulante, contrarresta la aterosclerosis, reduce los niveles de triglicéridos y por tanto ayuda a mantener niveles de colesterol apropiados y ayuda al metabolismo lipídico, tiene un efecto positivo sobre funciones cognitivas, protege el sistema circulatorio a nivel celular, es esencial para el funcionamiento macular, muestra actividad antiinflamatoria, antialérgica y antidepresiva, contrarresta la obesidad, así como asegura el desarrollo y funcionamiento apropiados del cerebro.

Por tanto, para obtener un producto con propiedades deseables, es necesario suministrar una mezcla de ésteres etílicos de varios ácidos grasos insaturados obtenidos de varios aceites naturales, particularmente aceites vegetales.

La actividad biológica deseable de los ácidos grasos insaturados también está afectada por su conformación. Es particularmente beneficioso usar isómeros cis, que se producen en ácidos grasos insaturados naturales. En el caso de ácidos omega 9, el isómero trans puede inducir efectos dañinos. Desafortunadamente, los procesos conocidos de producir mezclas de ésteres etílicos de ácidos grasos insaturados de aceites naturales llevan a isomerización indeseable y cantidades aumentadas de isómeros trans indeseables a expensas de un contenido en isómero cis beneficioso disminuido.

El fin de la presente invención es proporcionar un método de obtener un suplemento alimenticio con propiedades deseables que fomentan la salud compuesto de una mezcla de ésteres etílicos obtenidos de una mezcla de varios ácidos grasos insaturados naturales contenidos en varios aceites vegetales. Al mismo tiempo, es deseable proporcionar tal proceso de producir ésteres que haría posible mantener un alto contenido en isómero cis de ácidos grasos insaturados en la mezcla de ésteres etílicos producida.

Inesperadamente, tales problemas expresados se han resuelto por la presente invención.

El objeto de la presente invención es un método de producir una mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos vegetales con un alto contenido de isómeros cis de ácidos grasos insaturados, caracterizado en que:

- se produce una mezcla homogénea de aceites vegetales usando una técnica de cavitación de flujo, en donde la cavitación se realiza en un cavitador de flujo que posee de 3 a 8 zonas de cavitación,
- la mezcla resultante se usa como una materia prima en la reacción de transesterificación con etanol, en donde la transesterificación se realiza en presencia de un catalizador a una temperatura por debajo de 49°C, a presión atmosférica en un exceso molar de alcohol en relación a triglicéridos, preferiblemente de 13 a 16 veces,
- después de completar la reacción de transesterificación la mezcla se libera de etanol por evaporación, en donde el proceso de evaporación se realiza a una temperatura que no supera 49°C durante un tiempo por debajo de 0,3 horas, preferiblemente en un evaporador de bóveda equipado con boquillas de rociado con difusores de vapor,

d. la fase éster se separa y purifica, particularmente del catalizador restante, jabón y glicerina, y después la mezcla purificada de ésteres etílicos de ácidos grasos vegetales con un alto contenido de isómeros cis de ácidos grasos insaturados se clarifica.

5 Preferiblemente, la reacción de transesterificación se realiza en un cavitador de proceso de flujo continuo en un exceso de etanol de 13 veces.

Preferiblemente, en la reacción de transesterificación, se usa KOH como el catalizador.

10 El método según la presente invención se diseña para producir nutracéuticos (de ésteres etílicos), en donde en particular preferiblemente la temperatura del proceso entero oscila alrededor de 40°C y en ningún punto supera 49°C.

15 El siguiente objeto de la presente invención es una mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos vegetales con un contenido de isómeros cis de ácidos grasos omega de al menos el 95% del contenido inicial de isómeros cis de ácidos grasos insaturados omega 3, omega 6 u omega 9 en el aceite vegetal usado para producir los ésteres.

Ejemplo 1. Un método de producir una mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos vegetales con un alto contenido de isómeros cis de ácidos grasos insaturados

20 Durante el proceso entero, uno se debe adherir a métodos y reglas conocidos del estado de la técnica para el procesamiento de ácidos mono- y poliinsaturados (cámaras de asentamiento, enfriadores, oscuridad, relleno de nitrógeno). Aparte de las excepciones mencionadas en el presente documento, esto también se refiere a las condiciones para realizar las reacciones del éster de ácidos grasos (etanol, KOH, evaporación, métodos de carga).
25 En todos los puntos de la instalación en que había un riesgo de contacto: de reactivos sensibles a la humedad (es decir, etanol al 99,9%) o humedad y dióxido de carbono (es decir, KOH), o productos sensibles a oxígeno (aceites y sus mezclas, ésteres) se usó una atmósfera de nitrógeno gaseoso anhidro generado a partir de N₂ líquido.

30 Compendio de las características físicas y químicas de los aceites seleccionados para la producción de nutracéuticos:

Tipo de aceite	Componentes principales	Gravedad específica	Número de yodo
Aceite de semilla de onagra común	Ácido cis-linoleico (LA) – 73,5-81,9%, ácido gamma-linolénico (GLA) – 6,8-9,4% y ácido oleico – 4,7-10,7%. El contenido de otros ácidos, particularmente los saturados, incluyendo ácido palmítico (5,0-6,7%) y esteárico (1,1-2,9%). También contiene saponinas, polifenoles y glucolípidos	0,915-0,935 g/ml	130-200% de I
Aceite de borraja	Aceite de secado Contiene el 15-25% de ácido gamma-linolénico (GLA), rico en flavonoides (quercetina, isoramnetina, kaemferol), taninos, moco y también contiene ácido linoleico (38%), eicosenoico (4%), docosanoico (3%) (ascórbico, maleico, cítrico), sales minerales y saponinas	0,900-0,940 g/ml	135-175% de I
Aceite de grosella negra	Contiene más del 80% de ácidos grasos poliinsaturados Contiene otros ácidos grasos: ácido linoleico (LA), ácido alfa-linolénico (ALA), y, además, el ácido esteárico raro (SDA) También contiene del 1,5%-2,5% de fitoesteres y tocoferoles	0,910 g/ml	145-185% de I
Aceite de linaza	Aceite de secado Contiene más del 50% de ácido linoleico (omega 3), 15% de ácido linolénico (omega 6), el 15% de ácido oleico (omega 9), así como cantidades ligeras de ácidos grasos saturados	ok. 0,931 g/ml	160-200 de I

En la forma de realización de ejemplo se usó una mezcla de aceites vegetales con la siguiente composición como materia prima:

35 aceite de onagra común (*Oenothera L.*) (desde el 1% al 30%)

aceite de borraja (*Borago officinalis* L.) (desde el 1% al 30%)

aceite de semilla de grosella negra (*Ribes nigrum* L.) (desde el 1% al 10%)

aceite de linaza (*Linum* L) hasta el 100% en masa en varias combinaciones cuantitativas de las proporciones en porcentaje anteriores.

La calidad del producto resultante también está afectada por las condiciones apropiadas de transporte y almacenamiento de las materias primas. Las materias primas y productos se deben mantener en la oscuridad (particularmente fuera de luz UV). Los productores de aceite deben usar técnicas de presión en frío o extracción con CO₂ líquido, y la clarificación debe proceder a través de sedimentación (proceso lento, grados variables de terminación entre los aceites) y, por tanto, la masa de aceite para mezclar puede contener incluso restos de plantas (micropartículas vegetales, materia orgánica, etc.). Los aceites transportados se deben asegurar con un relleno de nitrógeno en condiciones de temperatura y luz controladas.

Obtención de una mezcla de aceites

Los requisitos básicos para el mezclador/mezcladores son: homogenización completa de la masa de aceite destinada para esterificación, y retención de al menos el 95% de isómeros cis contenidos en los aceites componentes.

Según la presente invención, los aceites se mezclaron en un cavitador de flujo que posee de 3 a 8 zonas de cavitación. En la forma de realización de ejemplo se usó una estación DWO en un KAS 3 por Unister Plus Miroslaw Pytilik (para esquemas, véase la figura 1). Mezclar usando un cavitador de flujo hizo posible producir una mezcla homogénea de aceites independientemente de la composición en porcentaje. En cada caso, la mezcla resultante era clara y no se estratificó incluso durante un ensayo de almacenamiento extendido. Además, se alcanzó la retención de más del 95% de los isómeros cis. Cada lote de ésteres de tal mezcla se obtuvo con éxito.

Por razones de comparación, se realizaron ensayos para obtener mezclas de aceites crudos a través de métodos alternativos. Se realizaron las comparaciones usando mezcladores mecánicos (mezcladores de cuadro, centrifugación y tambor). Se realizaron mezclas de prueba, y se inspeccionaron visualmente los aceites y se determinó que después de almacenamiento de varios días, la mezcla se enturbia, estratifica y forma una capa de desperdicios flotante en la parte superior. Los intentos de esterificación en tales aceites en general terminaron con la transesterificación detenida.

También se realizó una mezcla comparativa usando cavitación sónica (Hielscher Ultrasonics). En los ensayos se advirtió la completa homogeneidad de la mezcla (sin estratificación), pero durante el mezclado se perdió una proporción sustancial de los isómeros cis contenidos en los aceites (isomerización espontánea a isómeros trans).

Esterificación por lotes de la masa de aceite homogenizada

En la forma de realización de ejemplo, la producción de ésteres es por lotes, en donde para optimizar la eficacia se usó una organización secuencial del proceso de síntesis de ésteres mediante la introducción de dos reactores alternantes y la selección de tiempos de duración de etapas apropiados. La reacción de transesterificación se realizó a una temperatura por debajo de 49°C (entre 40°C y 49°C, a presión atmosférica en presencia de KOH y un exceso molar de alcohol de 16 veces en relación con los triglicéridos (aceites vegetales).

En el caso de una reacción realizada usando un cavitador de proceso, en las mismas condiciones de proceso, es posible hacer uso de un exceso molar de etanol de 13 veces en relación a los triglicéridos.

Evaporación del alcohol sin reaccionar

Para evaporar el alcohol sin reaccionar, se hizo uso de dos extractores de vacío de capa fina conectados en modo de cascada. El primero es responsable de sacar una mayoría del etanol anhidro de la mezcla post-reacción, y el segundo extrae el etanol restante (al menos parcialmente como una mezcla azeotrópica con agua) de la mezcla restante (del segundo extractor). Para que el proceso de evaporación pueda proceder tan rápido como sea posible a una temperatura que no supera 49°C y por debajo de 0,3 horas, se usaron boquillas de rociado (boquillas de bóveda, axialmente perpendiculares a la superficie de flujo de la bóveda) con un difusor de vapor, que limita la transferencia de gotitas de la mezcla de post-reacción a la salida de vapor en el condensador (Fig. 2).

Separación de la fase éster

Durante la fase de separación se hizo uso de un proceso de purificación de la fase éster de 5 etapas, eliminando el catalizador restante, jabones y glicerina, haciendo uso de:

- separadores a corto plazo de dos cascadas, que separan más o menos la fracción éster de la fracción glicerol,
- una centrifuga de flujo constante que elimina los restos de la fracción glicerol suspendida y emulsionada (purificación). Una centrifuga de ejemplo es una Alfalaval modelo 105, que usa la siguiente configuración:

1. Disco sólido en la primera posición (parte de abajo)
2. Módulo de purificación en lugar de diafragma
- separadores durante la noche, en los que una corriente de nitrógeno elimina los restos de alcohol, y al mismo tiempo la separación gravitacional lenta elimina microcantidades de la fracción glicerol presente en el producto.

A continuación, el producto se dirige a una segunda centrifuga clarificadora, por ejemplo, Alfalaval (modelo 105) configurada como sigue:

1. Todos los discos tienen aperturas
2. Un diafragma en la fracción pesada (seleccionada en relación a la viscosidad del medio) desde donde se transfiere al contenedor de almacenamiento (producto super puro).

El éster etílico de la mezcla de aceite resultante puede ser un producto en si mismo, o también se puede procesar adicionalmente (mezclado con sustancias adicionales, es decir, selenometionina de *Yarrowia lipolytica*, coenzima Q10, vitaminas, etc.), y después repartir y usar como un suplemento alimenticio con las propiedades mencionadas anteriormente.

Recuperación de los desechos

Se puede realizar la recuperación de recursos de los desperdicios de esterificación (lodos, fracción glicerol, etc.) usando *Yarrowia lipolytica* SKOTAN S.A 101 depositada en la base IBPRS con el número de registro KKP 2018 o según el método descrito en la solicitud polaca P.383685.

Ejemplo 2. La composición del producto acabado (contenido en isómeros cis por encima del 95% de los aceites vegetales madre)

Se midió el contenido de los isómeros cis en los aceites fuente y la mezcla de los ésteres etílicos que constituyen el producto acabado. Los resultados de las medidas se presentan en la figura 3.

Un análisis de los resultados muestra que el método propuesto de producir una mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos insaturados hace posible retener al menos el 95% de los isómeros cis de ácidos grasos insaturados contenidos en los triglicéridos naturales de las plantas usadas en la producción de preparación. El proceso de esterificación de un litro de una mezcla de aceite lleva a la producción de 1 litro de ésteres etílicos.

Bibliografía:

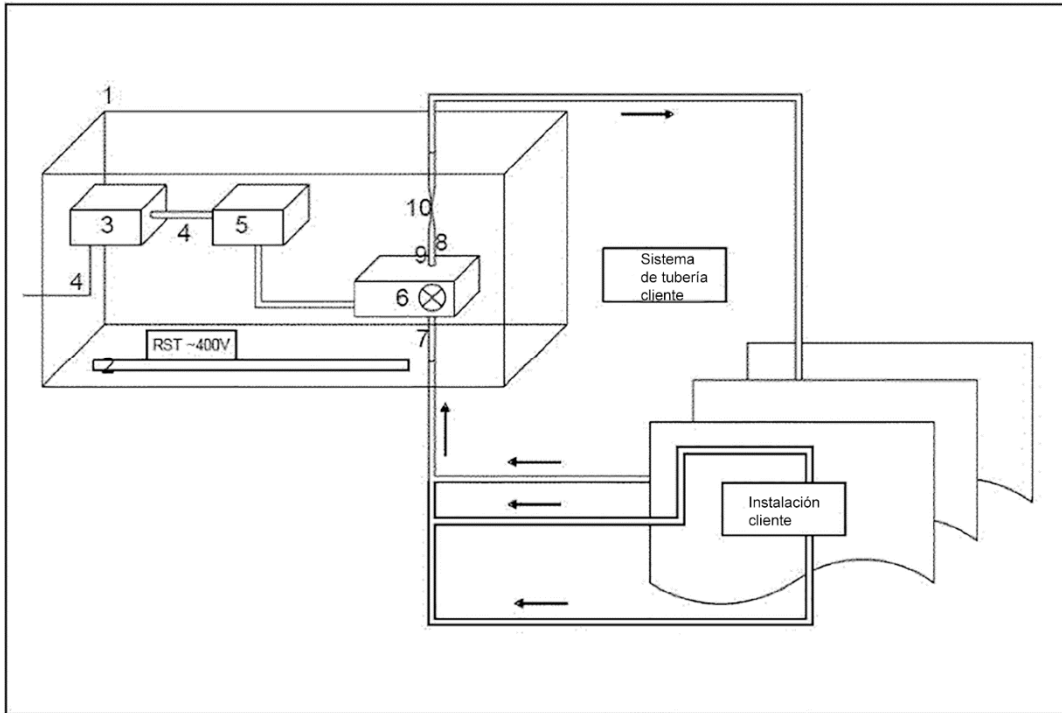
1. Zgłoszenie patentowe P-378114 pt. „Sposob wytwarzania estrow alkilowych wyśszych kwasow tłuszczowych”Zgłaszajcy:Uniwersytet Wrocławski, Wrocław; Kolodziej Hubert, Wrocław; Vogt Andrzej, Wrocław; Strzelecki Stanisław, Wrocław; Fatat Jerzy, Nysa; Sowa, Wrocław;
2. Zgłoszenie patentowe P-386610 pt. „Sposob wytwarzania estrow etylowych lub metylowych wyszych kwasow tłuszczowych oraz instalacji do jego wytwarzania”Zgłaszakcy:Kolodziej Hubert, Wrocław; Vogt Andrzej, Wrocław; Strzelecki; Steinmetz Grzegorz, Wrocław;
3. Zgłoszenie patentowe P-386608 pt. „ Sposob otrzymywania nienasyconych pochodnych wyśszych kwasow tłuszczowych oraz instalacji do realizacji tego sposobu; Zgłaszakcy: Steinmetz Grzegorz, Wrocław;
4. <http://nowasolox.pl/leenlife-koncentrat-omega-3-6-9-iid-75671635>
5. <http://zookraina.pl/pl/p/SANOPET-OMEGA-3-6-9-NUTRACEUTYK-DLA-PSOW-I-KOTOW-120m1/6352>
6. <http://food-forum.pl/estry-etylowe/>
7. <http://www.termidia.pl/Artykul-pooladowy-Rola-kwasow-omega-3-w-optymalizacji-standardowej-farmakoterapii-w-prewencji-wtornej-choroby-wiencowej.35.12683>
1. Burr ML, Feihly AM, Gilbert JF i wsp. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). Lancet 1989; 2: 757-761.
2. He K, Song Y, Daviglus ML i wsp. Accumulated evidence on fish consumption and coronary heart disease mortality: a meta-analysis of cohort studies. Circulation 2004; 109: 2705-2711.
3. Albert CM, Hennekens CH, O'Donnell CJ i wsp. Fish consumption and risk of sudden cardiac death. JAMA 1998; 279: 23-28.
4. Burr ML, Ashfield-Watt PA, Dunstan FD i wsp. Lack of benefit of dietary advice to men with angina: results of controlled trial. Eur J Clin Nutr 2003; 57: 193-200.
5. Nilsen DW, Albreksten G, Landmark K i wsp. Effects of a high-dose concentrate of n-3 fatty acids or corn oil introduced early after an acute myocardial infarction on serum triacylglycerol and HDL cholesterol. Am J Clin Nutr 2001; 74: 50-56.
6. Malasanos T, Stacpoole PW. Biological effects of omega-3 fatty acids in diabetes mellitus. Diabetes Care 1991; 14: 116-179.
7. De Caterina R, Endres S, Kristensen SD, Schmidt EB. n-3 fatty acids and renal diseases. Am J Kidney Dis 1994; 24: 397-410.
8. Knapp HR. Omega-3 fatty acids in respiratory diseases: a review. J Am Coll Nutr 1995; 14: 18-23.

9. Galli C, Butrum R. Dietary omega-3 fatty acids and cancer: an overview. *World Rev Nutr Diet* 1991; 66: 446-461.
10. De Caterina R, Basta G. n-3 fatty acids and the inflammatory response - biological background. *Eur Heart J* 2001; 3 (Supl. D): D42-D49.
11. Bang HU, Dyerberg J, Sinclair HM. The composition of the Eskimo food in north western Greenland. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 2657-2661.
12. Mori TA, Beilin LJ, Burke V i wsp. Interactions between dietary fat, fish and fish oils and their effects on platelet function in men at risk of cardiovascular disease. *Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 279-286.
13. Kristensen SD, Iversen AM, Schmidt EB. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and coronary thrombosis. *Lipids* 2001; 36: S79-S82.
14. Lee KW, Blann AD, Lip GY. Effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids on plasma indices of thrombogenesis and inflammation in patients post-myocardial infarction. *Thromb Res* 2006; 118: 305-312.
15. Goodfellow J, Bellamy MF, Ramsey MW i wsp. Dietary supplementation with marine omega-3 fatty acids improve systemic large artery endothelial function in subjects with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 265-270.
16. Mori TA, Watts GF, Burke V i wsp. Differential effects of eicosapentaenoic acid and decosahexaenoic acid on vascular reactivity of the forearm microcirculation in hyperlipidemic, overweight men. *Circulation* 2000; 102: 1264-1269.
17. Thies F, Garry JM, Yagoob P i wsp. Association of n-3 polyunsaturated fatty acids with stability of atherosclerotic plaques: a randomized controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 477-485.
18. Sacks FM, Stone PH, Gibson CM i wsp. Controlled trial of fish oil for regression of human coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 1492-1498.
19. von Schacky C, Angerer P, Kothny W i wsp. The effect of dietary omega-3 fatty acids on coronary atherosclerosis. A randomized double-blind, placebo controlled trial. *Ann Intern Med* 1999; 130: 554-562.
20. O'Connor GT, Malenka DJ, Olmsted EM i wsp. A meta-analysis of randomized trials of fish oil in prevention of restenosis following coronary angioplasty. *Am J Prev Med* 1992; 8: 186-192.
21. Gapinski JP, VanRuiswyk JV, Heudebert GR, Schectman GS. Preventing restenosis with fish oils following coronary angioplasty. A meta-analysis. *Arch Intern Med* 1993; 153: 1595-1601.
22. Johansen O, Brekke M, Seljeflot I i wsp. N-3 fatty acids do not prevent restenosis after coronary angioplasty: results from the CART study. *Coronary Angioplasty Restenosis Trial*. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 1619-1626.
23. Eritsland J, Arnesen H, Grøntvedt K i wsp. Effect of dietary supplementation with n-3 fatty acids on coronary artery bypass graft patency. *Am J Cardiol* 1996; 77: 31-36.
24. Bhatnagar D, Durrington PN. Omega-3 fatty acids: their role in the prevention and treatment of atherosclerosis related risk factors and complications. *Int J Clin Pract* 2003; 57: 305-314.
25. Mori TA, Woodman RJ. The independent effects of eicosapentaenoic acid and decosahexaenoic acid on cardiovascular risk factors in humans. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006; 9: 95-104.
26. Mori TA. Omega-3 fatty acids and hypertension in humans. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 842-846.
27. Brønsgaard-Schoute HC, von Gent CM, Luten JB, Ruiter A. The effect of various intakes of omega-3 fatty acids on the blood lipid composition in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 1752-1757.
28. Fehily AM, Burr ML, Phillips KM, Deadman NM. The effect of fatty fish on plasma lipid and lipoprotein concentrations. *Am J Clin Nutr* 1983; 38: 349-351.
29. Harris WS. n-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr* 1997; 65 (5 Supl.): 1645S-54S.
30. Harris WS. Omega-3 long-chain PUFA and triglyceride lowering minimum effective intakes. *Eur Heart J* 2001; 3 (Supl. D): D59-D61.
31. Karpe F, Steiner G, Uffelman K i wsp. Postprandial lipoproteins and progression of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1994; 106: 83-97.
32. Yokoyama M, Origasa H, for the JELIS investigators. Effects of eicosapentaenoic acid on cardiovascular events in Japanese patients with hypercholesterolemia: rationale, design, and baseline characteristics of the Japan EPA Lipid Intervention Study (JELIS). *Am Heart J* 2003; 146: 613-620.
33. Davidson MH, Stein EA, Bays HE, i wsp. for the COMBination of prescription omega-3 with simvastation (COMBOS) investigators. Efficacy and tolerability of adding prescription omega-3 fatty acids 4 g/d to simvastatin 40 mg/d in hypertriglyceridemic patients: an 8-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Clin Ther* 2007; 29: 1354-1367.
34. Mackness MJ, Bhatnagar D, Durrington PN i wsp. Effect of a view fish oil concentrate on plasma lipids and lipoproteins in patients with hypertriglyceridaemia. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48: 859-865.
35. Kang JX, Leaf A. Effects of long-chain polyunsaturated fatty acids on the contraction of neonatal rat cardiac monocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 9886-9890.
36. Li Y, Kang JX, Leaf A. Differential effects of various eicosanoids on the production or prevention of arrhythmias in cultured neonatal rat cardiac myocytes. *Prostaglandins* 1997; 54: 511-530.
37. Xiao YF, Kang JX, Morgan JP, Leaf A. Blocking effects polyunsaturated fatty acids on Na⁺ channels of neonatal rat ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 11000-11004.
38. Xiao YF, Gomez AM, Morgan JP i wsp. Suppression of voltage-gated L-type Ca²⁺ currents by polyunsaturated fatty acids in adult and neonatal rat cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 4182-4187.
39. Leaf A. The electrophysiological basis for the antiarrhythmic action of polyunsaturated fatty acids. *Eur Heart J* 2001; 3 (Supl. D): D98-D105.
40. Mozaffarian D, Stein PK, Prineas RJ i wsp. Dietary fish and omega-3 fatty acid consumption and heart rate variability in US adults. *Circulation* 2008; 117: 1130-1137.

41. Billman GE, Kang JX, Leaf A. Prevention of sudden cardiac death by dietary pure omega-3 polyunsaturated fatty acids in dogs. *Circulation* 1999; 99: 2452-2457.
42. Schrepf R, Limmert T, Claus Weber P i wsp. Immediate effects of n-3 fatty acid infusion on the induction of sustained ventricular tachycardia. *Lancet* 2004; 363: 1441-1442.
- 5 43. Calo L, Bianconi L, Colivicchi F i wsp. N-3 fatty acids for the prevention of atrial fibrillation after coronary artery bypass surgery. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1723-1728.
44. Raitt MH, Connor WE, Morris C i wsp. Fish oil supplementation and risk of ventricular tachycardia and ventricular fibrillation in patients with implantable defibrillators. *JAMA* 2005; 93: 884-891.
- 10 45. Brouwer IA, Zock PL, Camm AJ i wsp. Effect of fish oil on ventricular tachyarrhythmia and death in patients with implantable cardioverter defibrillators: the Study on Omega-3 Fatty Acids and Ventricular Arrhythmia (SOFA) randomized trial. *JAMA* 2006; 295: 2613-2619.
46. Leaf A, Albert CM, Josephson M i wsp. Prevention of fatal arrhythmias in high-risk subjects by fish oil n-3 fatty acid intake. *Circulation* 2005; 112: 2762-2768.
- 15 47. Wilhelm M, Tobias R, Asskali F i wsp. Red blood cell omega-3 fatty acids and the risk of ventricular arrhythmias in patients with heart failure. *Am Heart J* 2008; 155: 971-977.
48. Marchioli R, Barzi F, Bomba E i wsp. Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction. Time - course analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell' Infarto Miocardico (GISSI) - Prevenzione. *Circulation* 2002; 105: 1897-1903.
- 20 49. GISSI-HF investigators: Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised; double-blind, placebo-controlled trial. www.thelancet.com (31 Agosto, 2008).
50. Hooper L, Thompson RL, Harrison RA i wsp. Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systemic review. *BMJ* 2006; 332: 752-760.
51. Bucher HC, Hengstler P, Schindler C, Meier G. N-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: a meta-analysis of randomized controlled trial. *Am J Med* 2002; 112: 298-304.
- 25 52. Wagner D, Rupp H, Schule LM, Maisch B. Risk stratification by the 'EPA+DHA level' and the 'EPA/AA ratio' focus on anti-inflammatory and antiarrhythmogenic effects of long-chain omega-3 fatty acids. *Herz* 2004; 29: 673-685.
53. Smith SC Jr, Allen J, Blair SN i wsp. AHA/ACC guidelines for secondary prevention for patients with coronary and other atherosclerotic vascular disease: 2006 update: endorsed by the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Circulation* 2006; 113: 2363-2372.
- 30 54. Secondary prevention in primary and secondary care for patients following a myocardial infarction NHS. www.nice.org.uk
55. Messerli FH, Mancina G, Conti CR, Pepine CJ. Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary. The task force on the management of stable angina pectoris of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2006; 27: 1341-1381.
- 35 56. Van de Werf F, Bax J, Betriu A i wsp. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. The task force on the management of acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2003; 24: 28-66.
57. Fuster V, Ryden LE, Cannon DS i wsp. ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death - executive summary. *Eur Heart J* 2006; 27: 2099-2140.
- 40

REIVINDICACIONES

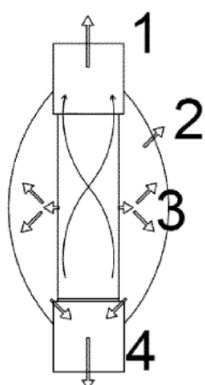
1. Un método de producir una mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos vegetales con un alto contenido de isómeros cis de ácidos grasos insaturados, **caracterizado en que**:
 - a. se obtiene una mezcla de aceites vegetales usando una técnica de cavitación de flujo, en donde la cavitación se lleva a cabo en un cavitador de flujo que posee de 3 a 8 zonas de cavitación,
 - b. la mezcla resultante se usa como una materia prima en la reacción de transesterificación con etanol, en donde la transesterificación se lleva a cabo en presencia de un catalizador a una temperatura por debajo de 49°C, a presión atmosférica y en un exceso molar de alcohol en relación a triglicéridos, preferiblemente de 13 a 16 veces,
 - c. después de completar la reacción de transesterificación, el etanol se evapora de la mezcla de reacción, en donde el proceso de evaporación se lleva a cabo a una temperatura que no supera 49°C, durante un tiempo por debajo de 0,3 horas, preferiblemente en un extractor de bóveda equipado con boquillas de rociado con difusores de vapor,
 - d. la fase éster se separa y purifica, particularmente del catalizador restante, jabones y glicerina, y después la mezcla de los ésteres etílicos de ácidos grasos vegetales con un alto contenido en isómeros cis de ácidos grasos insaturados se clarifica.
2. Un método según la reivindicación 1, **caracterizado en que** la reacción de transesterificación se lleva a cabo usando un método clásico con un exceso de etanol de 16 veces o en un cavitador de proceso de flujo continuo, en un exceso de etanol de 13 veces.
3. Un método según la reivindicación 1, **caracterizado en que** la reacción de transesterificación usa KOH como catalizador.
4. Una mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos vegetales, obtenible por el método según la reivindicación 1, que contiene isómeros cis de ácidos grasos omega en una cantidad de no menos del 95% del contenido inicial de isómeros cis de ácidos grasos insaturados omega 3, omega 6 u omega 9 en el aceite vegetal usado para producir los ésteres, en donde dicha mezcla de ésteres etílicos se produce a partir de una mezcla de aceites vegetales con la siguiente composición:
 - aceite de onagra común (*Oenothera L.*) desde el 1% al 30%,
 - aceite de borraja (*Borago officinalis L.*) desde el 1% al 30%,
 - aceite de semilla de grosella negra (*Ribes nigrum L.*) desde el 1% al 10%,
 - aceite de linaza (*Linum L.*) hasta el 100% en masa.



Elementos básicos de la estación DWO suministrados:

1. Contenedor (opcional cliente)
2. Construcción que lleva carga – (caja de interruptores eléctricos, cables, controlador, bomba, cavitador)
3. Armario de la fuente de alimentación
4. Fuente de alimentación/cables de control
5. Controlador de la forma de onda
6. Bomba con características igualadas a la viscosidad del medio y tamaños de grano del medio
7. Conectores de la bomba
8. Manómetros
9. Sistema de montaje del cavitador (reductores, sellos, etc.)
10. Cavitador de flujo continuo con de 3 a 8 zonas de cavitación, igualado a la viscosidad dinámica y densidad del medio, así como a la granularidad del medio que fluye. Las zonas de cavitación en el cavitador se forman debido a la intersección de al menos dos corrientes de medio que fluye.

Fig. 1



1. Salida de vapor de alcohol
2. Bóveda
3. Boquillas distribuidas alrededor de la circunferencia para echar la solución de éster y alcohol
4. Extracción de la mezcla de ésteres con una mayoría de alcohol eliminado

Fig. 2

Contenido medio (4 ensayos) de isómeros cis en varios ácidos				
Isómero cis	Aceite de linaza	Aceite de onagra común	Aceite de borraja	Aceite de grosella negra
C 16:0	7,10	6,98	10,94	6,23
C 18:0	6,64	2,75	6,47	4,22
C 18:1	24,60	8,21	27,26	21,76
C 18:2	26,53	71,16	3,40	74,00
C 18:3α	46,63	1,10	39,88	1,40
C 18:3γ	0,00	20,20	18,10	6,20
	18,58%	18,40%	17,68%	18,97%
Aceites, contenido medio en isómeros cis	18,41%			
Isómero cis	Contenido medio (4 ensayos) de isómeros cis en ésteres de varias mezclas			
C 16:0	5,40	6,98	6,80	6,55
C 18:0	2,70	5,34	5,30	7,53
C 18:1	10,50	20,04	21,05	16,99
C 18:2	22,90	25,33	22,80	19,42
C 18:3α	34,10	28,30	28,09	27,70
C 18:3γ	9,80	10,06	10,50	11,03
	17,08%	19,21%	18,908%	17,844%
Ésteres de mezclas, media de 4 series	18,26%			
Eficacia de conservación de isómeros cis en ésteres	99,21%			

Fig. 3