

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 684 310**

51 Int. Cl.:

**C07F 9/10** (2006.01)

**B01F 17/00** (2006.01)

**A23D 9/04** (2006.01)

**C11B 1/10** (2006.01)

**A21D 2/32** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.10.2013 PCT/US2013/066590**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.05.2014 WO14066623**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.10.2013 E 13786391 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.07.2018 EP 2912044**

54 Título: **Método para el fraccionamiento de fosfolípidos a partir de material que contiene fosfolípidos**

30 Prioridad:

**24.10.2012 EP 12007299**

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

**02.10.2018**

73 Titular/es:

**CARGILL, INCORPORATED (100.0%)  
15407 McGinty Road West  
Wayzata, MN 55391, US**

72 Inventor/es:

**BRUECHER, TOBIAS;  
DEMEY, JOHAN;  
KATTE, MATTHIAS;  
MOLNAR, JEFF y  
TIROK, SUSANNE**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 684 310 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**

Método para el fraccionamiento de fosfolípidos a partir de material que contiene fosfolípidos

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a un método para un proceso para extraer y separar los fosfolípidos a partir de materiales que contienen fosfolípidos, y a las fracciones así obtenidas.

**Antecedentes de la invención**

10 Los fosfolípidos son componentes importantes de las membranas celulares de plantas, microbios y animales. El término "fosfolípido", se refiere a compuestos derivados de ácidos grasos y un compuesto que contiene fosfato unido a glicerol o el aminoalcohol esfingosina, dando como resultado compuestos con regiones liposolubles y solubles en agua. El término "lecitina" se utiliza aquí para mezclas de fosfolípidos y triglicéridos. Los principales fosfolípidos que contienen glicerol en la lecitina son fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidiletanolamina y ácido fosfatídico, a los que en adelante se hará referencia como PC, PI, PE y PA, respectivamente. La composición real de los fosfolípidos depende de la fuente. Un término adicional empleado para los componentes altamente polares de la lecitina son insolubles en acetona, a los que se hará referencia aquí como AI. Estos son componentes de lecitina que son  
15 generalmente insolubles en acetona saturada de fosfolípidos, que se emplea típicamente para eliminar los triglicéridos neutros de la lecitina bruta.

Se han desarrollado una serie de procesos para fraccionar la lecitina comercialmente disponible, en particular para obtener fracciones enriquecidas en fosfatidilcolina.

20 El documento de Patente US-A-4,235,793 describe un proceso para obtener fosfatidilcolinas oleosas altamente purificadas a partir de fosfátidos oleosos brutos que comprenden extraer un extracto de fosfátido oleoso a partir de un fosfátido oleoso bruto con un disolvente seleccionado de un grupo que consiste en alcoholes inferiores y soluciones acuosas de los mismos que contienen desde aproximadamente 85 a 96 por ciento de alcohol, en contacto directo con dicho extracto de fosfátido oleoso con un adsorbente de óxido de aluminio y recuperar la fosfatidilcolina adsorbida a partir del mismo. El proceso es engorroso ya que requiere el uso de grandes cantidades de óxido de aluminio, y ya que el material tratado necesita también filtrarse para eliminar los finos adsorbentes.

25 El documento de Patente WO-A-2005/072477 describe un método para la separación de fosfolípidos a partir de un material que contiene fosfolípidos, que comprende a) combinar el material que contiene fosfolípidos y un alcohol alifático soluble en agua, para formar una fracción que contiene fosfolípidos; y b) enfriar la fracción que contiene fosfolípidos para precipitar los fosfolípidos. La mezcla así obtenida forma dos fracciones separadas, que se separaron por gravedad, es decir, mediante centrifugación. El material se mezcla después bajo calentamiento, específicamente con isopropanol, n-propanol y mezclas de los mismos, seguido de una etapa de enfriamiento, y las fracciones obtenidas se separan mediante varias etapas de centrifugación. Como un proceso de extracción de una etapa, el rendimiento máximo de extracto de fosfolípidos es relativamente bajo. Además, el proceso no es muy adecuado para un uso continuo, y engorroso debido a las diversas etapas de centrifugación y recalentamiento y/o  
30 enfriamiento requeridas.

El documento de Patente CH475777 A describe un proceso de extracción a contracorriente para fraccionar una corriente que contiene fosfolípidos.

El documento de Patente US5214171 describe un proceso para fraccionar mezclas de fosfátidos.

40 En consecuencia, sigue existiendo la necesidad de un proceso con una eficacia mejorada del fraccionamiento de fosfolípidos, que sea adecuado también para su uso a escala industrial, y en un proceso continuo.

**Compendio de la invención**

Por consiguiente, en un primer aspecto, la presente invención se refiere a un proceso de extracción que implica una pluralidad de etapas de mezclado y separación para fraccionar un material de alimentación que contiene fosfolípidos en dos o más fracciones enriquecidas en uno o más fosfolípidos, que comprende las siguientes etapas:

45 (a) poner en contacto el material de partida que contiene fosfolípidos bajo agitación con un extractante que comprende un alcohol alifático seleccionado de alcoholes de C<sub>1</sub> a C<sub>3</sub> y mezclas de los mismos durante un periodo de tiempo suficiente para efectuar la transferencia de al menos una fracción de los fosfolípidos al extractante;

50 (b) separar la mezcla obtenida en un extracto enriquecido en fosfolípidos de un refinado residual mediante un proceso que comprende aplicar fuerzas centrífugas, en donde el extracto enriquecido en fosfolípidos de cada etapa de separación se devuelve al menos en parte a las etapas de mezclado previas o posteriores, en donde el flujo del proceso general es a contracorriente lo que significa que el material que contiene fosfolípidos se pone en contacto en una primera etapa con el extractante de una segunda etapa o posterior, y así sucesivamente y en donde un

extracto final enriquecido en fosfolípidos se separa de un primer refinado residual; en donde el extracto final comprende al menos un 25% en peso de fosfatidilcolina (PC), y más del 50% en peso de insolubles en acetona (AI).

5 En un segundo aspecto, la descripción se refiere a un extracto enriquecido en fosfolípidos obtenible de acuerdo con el proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores. En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un refinado empobrecido en fosfolípidos obtenible de acuerdo con el proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

10 En un aspecto adicional, la descripción se refiere al uso del extracto enriquecido en fosfolípidos o un refinado empobrecido en fosfolípidos para productos alimenticios, preferiblemente productos de panadería, composiciones neutracéuticas, productos de confitería, alimentos de conveniencia, margarinas, productos para untar; productos de alimentación animal y/o composiciones farmacéuticas, o como agentes de liberación o emulsionantes industriales.

### Breve descripción de las figuras

15 Estas y otras características se pueden recopilar a partir de las reivindicaciones, descripción y dibujos, y las características individuales, tanto solas como en forma de sub-combinaciones, se pueden realizar en una realización de la invención y en otros campos y pueden representar ventajas, construcciones independientemente protegibles para las que se reivindica aquí la protección. Realizaciones de la invención se describen a continuación con mayor detalle en relación con los dibujos, en donde:

La Fig. 1 describe un diagrama esquemático de una realización preferida del proceso de fraccionamiento, que incluye un aparato periférico, como el empleado en los experimentos.

20 La Fig. 2 describe la relación de la velocidad de rotación frente a las fuerzas G aplicadas a mezclas de acuerdo con una realización preferida del presente proceso; se emplearon dos diferentes rotores en un separador centrífugo; el eje X indica las rotaciones, como rotaciones por minuto, y el eje Y la fuerza G.

La Fig. 3 describe un alineamiento esquemático del proceso en un alineamiento de múltiples etapas.

### Breve descripción de la invención

25 En la etapa (a), el material de partida que contiene fosfolípidos se pone en contacto bajo agitación con un extractante que comprende un alcohol alifático seleccionado de alcoholes C<sub>1</sub> a C<sub>3</sub> y mezclas de los mismos durante un periodo de tiempo suficiente para efectuar la transferencia de al menos una fracción de fosfolípidos al extractante. En el presente proceso, el material de partida que contiene fosfolípidos se pone en contacto preferiblemente en (a) con un extractante en una operación de mezclado a contracorriente o en corriente paralela. Aunque el contacto puede ser en corrientes paralelas o en contracorriente, dependiendo de la manera y el aparato en donde se mezclan los dos líquidos, el flujo del proceso general es a contracorriente, es decir, el material de partida que contiene fosfolípidos se pone en contacto en una primera etapa con el extractante de una segunda etapa o posterior, y así sucesivamente.

En la etapa (b) del proceso, la mezcla obtenida en la etapa (a) se separa mediante un proceso que implica fuerzas centrífugas.

35 El término "fuerzas centrífugas" se refiere aquí a la fuerza aparente hacia el exterior que traza un cuerpo giratorio lejos del centro de rotación. El proceso es preferiblemente un proceso mecánico, más preferiblemente aplicando la fuerza centrífuga en un dispositivo giratorio, tal como una centrífuga.

40 El término "mezcla" se refiere aquí a cualquier mezcla que se obtenga en una cualquiera de las etapas del presente proceso de extracción, e incluye emulsiones y dispersiones, y mezclas y combinaciones no homogéneas. El proceso de separación se ejecuta preferiblemente en un dispositivo centrífugo, a una Fuerza Centrífuga Relativa (RCF) en el intervalo de 2 a 25.000 G, más preferiblemente de 10 a 20.000 G, y aún más preferiblemente de 100 a 18.000 G, y aún más preferiblemente de 400 a 15.000 G. Dado que el RCF está relacionado positivamente con el radio del rotor y la velocidad de rotación de una centrífuga, la velocidad de rotación requerida para un radio de rotor dado se puede calcular convenientemente por un experto en la técnica.

45 Los fosfolípidos extraídos comprenden preferiblemente uno o más de fosfatidilcolina (PC), lisofosfatidilcolina (LPC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilinositol (PI) y/o ácido fosfatídico (PA). La composición exacta de los componentes extraídos y residuales depende en gran medida del material de partida, el extractante, y las condiciones bajo las que se extrae el material de partida, pero también de la naturaleza química del extractante, y la composición de la fase extractante, es decir, contenido de agua y valor de pH.

50 El proceso da como resultado preferiblemente una fase de refinado final que comprende menos del 20% en peso de fosfatidilcolina (PC), más preferiblemente menos del 15% en peso, aún más preferiblemente menos del 12% en peso.

Más preferiblemente, la fase de refinado final comprende fosfatidilcolina (PC) en una cantidad en el intervalo de 1 a 10% en peso, más preferiblemente de 2 a 9% en peso, y aún más preferiblemente de 3 a 8% en peso.

La fase de refinado final tiene un contenido insoluble en acetona de 55 a 75% en peso, más preferiblemente de 60 a 70% en peso, aún más preferiblemente de 65 a 70% en peso.

## 5 Descripción detallada de los dibujos

La Fig. 1 representa una realización preferida del presente proceso. Aquí, un depósito de alimentación de fosfolípidos (1) y un depósito de extractante (2) que comprende un intercambiador de calor (no representado) se conectan de manera fluida a un extractor líquido-líquido centrífugo de múltiples etapas (3) que tiene una salida de extractante final (4) y una salida de refinado final (4). La alimentación del extractante se introduce a contracorriente a la alimentación de fosfolípidos en el extractor (3), y el extractante final se recoge en un recipiente de extractante (5) y un recipiente de refinado (6). Ambos depósitos (1) y (2) se suministran con medidores de flujo para ajustar y controlar el flujo necesario para el experimento real y, por lo tanto, la relación de extracción. El equipo de control de temperatura se instala en el intercambiador de calor y en las entradas y salidas del extractor centrífugo.

La lecitina no ajustada y el etanol ajustado al contenido de agua de 0% a 10% en peso se introducen en los depósitos (1) y (2), respectivamente. La temperatura del extractante se puede ajustar por circulación a través del intercambiador de calor.

La Fig. 2 muestra la fuerza centrífuga relativa aplicada para una realización preferida del presente proceso, para el que se empleó un dispositivo centrífugo adecuado. Aquí, dos rotores diferentes produjeron una ligera diferencia en las fuerzas centrífugas que permitieron una rápida separación.

En el proceso de acuerdo con la presente invención, el extracto final obtenido de la fase extractante comprende al menos un 25% en peso de fosfatidilcolina (PC), y más del 50% en peso de insolubles en acetona (AI).

El presente proceso emplea un proceso de múltiples etapas, es decir, que comprende etapas de extracción repetidas, y por lo tanto, da como resultado un mayor rendimiento de los fosfolípidos deseados en la fase de extracción, produciendo simultáneamente una fase de refinado que tiene una composición significativamente diferente de las obtenidas típicamente en los procesos descritos en la técnica anterior.

El material de partida que contiene fosfolípidos puede ser cualquier material adecuado, tal como lecitina bruta de origen vegetal o animal, gomas derivadas de aceites y/o gomas secas que se pueden obtener a partir de aceites vegetales o animales y/o grasas en procesos de desgomado. Típicamente, la composición de fosfolípidos del material de partida está en parte influenciada por el método de preparación, sin embargo está ampliamente definida por el origen del material.

Composiciones de lecitina adecuadas se han descrito en detalle en Kirk-Othmer, Food and Feed Technology, 5<sup>th</sup> Edition, Volume 1, 2007, John Wiley & Sons.

El material que contiene fosfolípidos comprende preferiblemente uno o más fosfolípidos seleccionados del grupo que consiste en formas no modificadas o modificadas químicamente de fosfatidilcolina (PC), LPC, fosfatidiletanolamina (PE), N-acil-fosfatidiletanolamina (NAPE), fosfatidilserina (PS), fosfatidilinositol (PI), fosfatidilglicerol (PG), difosfatidilglicerol (DPG), ácido fosfatídico (PA), plásmalógeno, lecitina y gomas derivadas de aceites vegetales. De éstos, fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), y fosfatidilinositol (PI) forman típicamente la mayoría de los componentes.

El material que contiene fosfolípidos para su uso en el presente proceso puede comprender aceite de triglicéridos, o puede desaceitarse parcial o completamente, por ejemplo mediante extracción con acetona o hexano, como se describe en el documento de Patente DE-A-1234680. Se descubrió que la presencia de triglicéridos no era perjudicial para el presente proceso, ya que los triglicéridos se encontraban apenas solubles en el extractante de alcohol empleado. Por lo tanto, el presente proceso permite ventajosamente el uso de composiciones de fosfolípidos en bruto como componente de partida. Además, la presencia de triglicéridos en el material de partida puede reducir la viscosidad, y por lo tanto puede reducir la energía requerida para lograr un mezclado adecuado de la fase de extractante y la fase de refinado.

Además, la adición de aceite puede reducirse ventajosamente a la fracción de refinado, reduciendo de este modo el volumen total sometido a la etapa de desaceitación.

Preferida debido a la amplia disponibilidad es la lecitina derivada del aceite vegetal, seleccionada del grupo que consiste en lecitina de soja, lecitina de acetite de germen de maíz, lecitina de colza incluyendo lecitina derivada de canola, mostaza de campo y otras variantes e híbridos de colza, lecitina de aceite de arroz, lecitina de girasol, lecitina de semilla de algodón, lecitina de cacahuete, lecitina de aceite de coco, lecitina derivada de aceite de soja, aceite de girasol, aceite de colza, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva, aceite de maíz, aceite de maní o de cacahuete, aceite de cártamo, aceite de linola, aceite de linaza, aceite de palma, aceites marinos, aceites de biomasa derivados de otras fuentes además de las mencionadas aquí y/o aceite de coco, y mezclas de los mismos.

- Fuentes adecuadas de lecitinas de aceite marino incluyen aceites derivados de formas de vida marina tales como microalgas y cianobacterias. Alternativamente, se pueden emplear lecitinas basadas en animales, incluyendo lecitina de yema de huevo, lecitina de leche y/o lecitina cerebral, y/o mezclas de las mismas. El material de partida que se va a fraccionar se elige preferiblemente en función de la fracción o fracciones requeridas. Si se desea una fracción de fosfolípidos que esté virtualmente libre de restos de ácido linolénico, se puede utilizar ventajosamente lecitina de girasol, lecitina de semilla de algodón o lecitina de aceite de germen de maíz. Para aplicaciones que requieren una fracción que no sea demasiado alta en residuos de ácidos grasos insaturados, y por lo tanto una estabilidad oxidativa mejorada, puede emplearse preferiblemente como material de partida lecitina de colza. La lecitina de soja es muy preferida debido a la disponibilidad y a su alto contenido de PC.
- 5
- 10 Si una mezcla que comprende fosfolípidos, que puede además comprender triglicéridos y otros componentes normalmente asociados con su aislamiento y/o preparación, se mezcla con un alcohol alifático bajo agitación, se forma típicamente un sistema de dos fases, que al producirse conduce a una capa superior, más ligera que contiene el alcohol que contiene algunos fosfolípidos y posiblemente triglicéridos y otros componentes solubles en el alcohol, y una fase inferior que contiene fosfolípidos que contiene el resto de los triglicéridos, junto con algo de alcohol.
- 15 Los métodos de análisis estándar para los componentes descritos aquí están de acuerdo con la Directiva del Consejo Europeo No 95/2/EC del 20 de Febrero de 1995 sobre aditivos alimentarios distintos de colorantes y edulcorantes,
- Mientras que las unidades de sedimentador/mezclador se pueden emplear para separar las fases de extractante y refinado, la separación debido a la gravedad normal es lenta, y requiere un control cuidadoso de las temperaturas de los líquidos. Además, la fase más pesada tiende a tener una viscosidad comparativamente alta, lo que dificulta la separación, y conduce a una pérdida en el rendimiento del extracto.
- 20
- Los solicitantes han encontrado ahora que si la separación de densidad en cada etapa se mejora aumentando las fuerzas gravitatorias mediante el uso de uno o más extractores centrífugos, mientras que también aumenta la energía puesta en emulsionar la fase de fosfolípidos, el rendimiento de extracción de los fosfolípidos descritos puede aumentar fuertemente, mientras que al mismo tiempo el tiempo requerido para realizar la extracción y la separación de fases se reduce fuertemente.
- 25
- Además, se encontró que la fracción extraída más ligera así obtenida y la fracción de refinado más pesada tenían composiciones diferentes de las típicamente obtenidas en el proceso de extracción utilizando unidades mezcladoras/sedimentadoras, mejorando así el potencial para diferentes usos.
- 30 Los solicitantes han encontrado también que la distribución de los diversos componentes sobre ambas fases está gobernada principalmente por el material que contiene fosfolípidos; la relación de material que contiene fosfolípidos a extractante, la composición de fosfolípidos, la temperatura y la composición de extractante, especialmente su contenido de agua y/o el índice de ácido, así como las agitaciones mecánicas suministradas para formar la emulsión líquido/líquido.
- 35 El sistema multicomponente dificulta el fraccionamiento selectivo, ya que la extracción de los diferentes componentes del material de partida puede cambiar cuando se varían los diferentes parámetros. En general, la fase de extractante contiene más fosfolípidos a temperaturas elevadas, con contenido de agua reducido.
- El presente proceso emplea preferiblemente un aparato o dispositivo de mezclado de múltiples etapas y separación líquido/líquido. El proceso de acuerdo con la invención se puede llevar a cabo como un proceso por lotes, pero se realiza preferiblemente en una operación continua. Además de los dispositivos centrífugos, también se pueden utilizar ventajosamente sistemas mezcladores/sedimentadores.
- 40
- En el proceso de extracción de dos fases líquido-líquido de acuerdo con la invención, el extractante y el material que se va a extraer se introducen en un aparato de extracción de múltiples etapas. El aparato de extracción de múltiples etapas tiene preferiblemente una primera entrada y una segunda entrada. La introducción de ambos líquidos se realiza preferiblemente en una dirección a contracorriente entre sí, es decir, la fase más ligera se puede introducir ventajosamente en la parte superior del dispositivo de separación de múltiples etapas, en la primera entrada, mientras el material que contiene fosfolípidos puede introducirse ventajosamente en el fondo, es decir, la segunda entrada.
- 45
- En cada etapa, preferiblemente una mezcla de la alimentación que se va a extraer y del extractante se pueden ciclar preferiblemente a través de un mezclador y un recipiente de rebose, y se puede extraer una cantidad de la mezcla de disolvente y sustancia del recipiente de rebose en cada etapa, y se separó en una centrifuga en extracto y refinado.
- 50
- El refinado se introduce después preferiblemente en la siguiente etapa de extracción o se mueve a una etapa de procesamiento adicional de la etapa final, mientras que el extracto se devuelve a una etapa anterior, o se descarga desde la primera etapa a una etapa de procesamiento adicional.
- 55

Por consiguiente, el presente proceso comprende preferiblemente introducir una alimentación que comprende el material que contiene fosfolípidos en un aparato de extracción de múltiples etapas en una primera dirección; introducir un extractante que comprende un alcohol alifático seleccionado de alcoholes de C<sub>1</sub> a C<sub>3</sub> y mezclas de los mismos, cuyo extractante fluye a través del aparato de extracción de múltiples etapas en una segunda dirección y forma una fase de extracción del proceso de fraccionamiento; poner en contacto la alimentación y el extractante bajo agitación; en donde la segunda dirección es a contracorriente a la primera dirección.

Un aparato de extracción de múltiples etapas particularmente adecuado comprende para cada etapa i) un rotor, ii) una cámara de mezclado conectada al rotor, en donde se mezclan las dos corrientes líquidas, y en donde la cámara de mezclado comprende ii) un agitador estacionario colocado en la cámara de mezclado, y iib) una cámara de sedimentación en la que las corrientes de líquido se separan mediante la fuerza centrífuga generada por la cámara de mezclado. El agitador estacionario comprende preferiblemente un disco estacionario, y en donde la mezcla se logra a través del diferencial de velocidad entre el disco estacionario y la cámara de mezclado rotatoria. El disco también puede actuar como una bomba, moviendo de ese modo las fases de extracto y refinado a través del aparato de múltiples etapas.

Se descubrió que tanto el refinado como el extracto comprenden una composición diferente de fosfolípidos, y bastante diferentes de los obtenidos en otros procesos conocidos, y pueden ser útiles para diferentes propósitos, incluyendo productos alimenticios, más preferiblemente productos de panadería, neutracéuticos, confitería, alimentos de conveniencia, margarinas, productos para untar; neutracéuticos y productos farmacéuticos. Usos alternativos preferidos incluyen cosméticos; productos de alimentación animal y/o composiciones farmacéuticas, o como agentes de liberación o emulsionantes industriales.

Por consiguiente la descripción se refiere también al uso del extracto enriquecido en fosfolípidos o el refinado empobrecido en fosfolípidos para productos alimenticios, preferiblemente productos de panadería, neutracéuticos, productos de confitería, alimentos de conveniencia, margarinas, productos para untar; productos de alimentación animal y/o composiciones farmacéuticas, o como agentes de liberación o emulsionantes industriales. Preferiblemente el presente proceso incluye también por lo tanto una o más etapas para el aislamiento del extracto o refinado, y la etapa de incorporar el extracto o refinado en un producto como se describió aquí anteriormente.

El extractante que comprende el alcohol alifático fluye a través del aparato de extracción de múltiples etapas en una primera dirección y contribuye a la fase del extractante. El material que se va a extraer fluye a través del aparato de extracción de múltiples etapas en una segunda dirección, cuya segunda dirección es a contracorriente a la primera dirección, y contribuye a la fase de refinado del proceso de extracción de dos fases.

Las dos fases se ponen en contacto directamente, bajo agitación, para transferir los componentes extraíbles de la alimentación a la fase del extractante, dando como resultado una fase de extracción cada vez más enriquecida, y una fase de refinado cada vez más empobrecida.

Los siguientes ejemplos no limitantes muestran el proceso de acuerdo con la invención. Debe entenderse, sin embargo, que la invención no se limita a los detalles específicos de los Ejemplos.

### Parte experimental

Extractor: Se empleó en los experimentos un extractor líquido-líquido centrífugo de múltiples etapas de Rousselet Robatel (Francia). El extractor comprendía 6 cuencos rotatorios, conectados a un rotor central, con una velocidad de rotación máxima de 2.900 rpm, y una velocidad de flujo máxima (2 fases) de 25 a 30 l/h. Los cuencos tenían un volumen útil de 0,39 l.

El equipo periférico se empleó de acuerdo con el esquema representado en la Fig. 1. El etanol se ajustó a un contenido de agua de 0% a 10% en peso, y se llenó en depósitos de alimentación. La temperatura de la alimentación de etanol se ajustó haciéndola circular a través de un intercambiador de calor, mientras que las temperaturas en las etapas del proceso se controlaron en el intercambiador de calor y tanto en las entradas como salidas del extractor centrífugo. Tanto el depósito de lecitina como de etanol se suministraron con medidores de flujo para ajustar y controlar el flujo necesario para el experimento real y, por lo tanto, la relación de extracción.

Al inicio, el flujo de etanol se ajustó primero, y se estableció una velocidad de rotación. Después se ajustó el flujo de lecitina.

Se permitió estabilizar el sistema durante aproximadamente 5 minutos de flujo de extracto continuo y de salida de refinado, y después los flujos reales se determinaron recogiendo las fases de extracto y refinado que salen del extractor durante 5 minutos y determinando el peso de la cantidad total. 5 l de cada fracción se recogieron para un análisis posterior.

Determinación del rendimiento: Para el cálculo del rendimiento las corrientes de extracto y refinado se recogieron durante 5 minutos y se pesaron. A partir de eso, se calculó el rendimiento en kg/h. Dado que la fase de extracto

todavía contenía una cierta cantidad de fase de refinado, el contenido de la fase de refinado se determinó de la siguiente manera:

5 Una cantidad definida de la fase de extracto bien homogeneizada se pesó en un matraz de centrifuga de peso conocido y se centrifugó a 5.000 rpm durante 10 minutos (10°C). Después la fase de extracto sobrenadante se decantó cuidadosamente y se pesó el sedimento como un refinado de la fase de extracto homogeneizada. El rendimiento de refinado corregido y de extracto se extrapolaron a partir de esta cantidad.

Los insolubles en acetona se determinaron de acuerdo con Lange R., Fiebig H.J. (1999): Separation of Phospholipids, Standard Methods of DGF, Fett/Lipid 101: 77-79.

10 Este método se basa en la solubilidad de los componentes de lecitina tales como triglicéridos, ácidos grasos, esteroides, y otros componentes solubles en acetona, y la insolubilidad de los fosfolípidos y glicofosfolípidos en acetona bajo las condiciones de ensayo. Los últimos se denominan insolubles en acetona (AI).

15 Generalmente, aproximadamente 5 g de una muestra de lecitina se mezclan enérgicamente repetidamente con aproximadamente 40 ml de acetona a 0°C. Los componentes solubles en acetona se disuelven, mientras que los componentes insolubles precipitan. Los precipitados se filtran después, y se lavan con acetona, y el residuo se seca. El método se repite al menos 4 veces, o hasta que no se detectan componentes solubles en la acetona. La cantidad de los residuos combinados se considera como la parte insoluble en acetona de la muestra de lecitina, y se calcula el porcentaje en peso, restando el contenido de componentes solubles en acetona y el contenido de agua.

20 Datos de composición: Una alícuota del extracto bien homogeneizado y del refinado, respectivamente, se pesaron en un matraz de fondo redondo de peso conocido. El disolvente se eliminó en un rotavapor a 50-60°C y presión reducida, ajustando automáticamente la presión de acuerdo con la presión de vapor. Se realizó una etapa final de secado en un liofilizador hasta que se consiguió un peso constante. La masa seca y el rendimiento total se calcularon a partir del rendimiento y la masa seca corregidos.

25 Composición química: Las muestras de extracto secas, con el contenido residual de refinado eliminado, y la fase de refinado se analizaron para su contenido de AI y el valor de ácido. La composición de fosfolípidos se determinó utilizando un método de cromatografía líquida.

30 La identificación y cuantificación de los diversos componentes de fosfolípidos se realizó convenientemente por diferentes métodos, incluyendo cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y espectroscopía de resonancia magnética nuclear de <sup>31</sup>P (<sup>31</sup>P-NMR) solo para los fosfolípidos. Métodos adecuados se describen en London E., Feigenson G.W. (1979): Phosphorous NMR Analysis of Phospholipids in Detergents, J. Lipid Res. 20: 408-412; Aitzetmüller K. (1984): HPLC and Phospholipids, Part I: General Considerations, Fette, Seifen, Anstrichm. 86: 318-322; y Aloisi J.D., Sherma J., Fried B. (1990): Comparison of Mobile Phases for Separation and Quantification of Lipids by One-Dimensional TLC and Preadsorbent High Performance Silica Gel Plates, J. Liq. Chromatogr. 13: 3949-3961.

Ejemplos 1 a 8

35 La lecitina de soja bruta se extrajo con etanol, comprendiendo un 2,5% en peso y un 4,5% en peso de agua, respectivamente. La Tabla 1 muestra las condiciones que fueron resultado de varias series:

Tabla 1: Condiciones aplicadas

Ex.	Etapas de extracción	T [°]	Agua en Etanol (%)	Relación de extracción extractante a refinado	Velocidad de rotación
1	4	30	4,5	1	2.900
2	4	30	4,5	1	2.300
3	6	12	4,5	1	2.300
4	6	12	4,5	1	2.900
5	6	12	2,5	2	2.300
6	6	12	2,5	2	2.900
7	4	12	2,5	1	2.900
8	4	12	2,5	1	2.300

Las fases de extracto y refinado obtenidas se secaron para eliminar los extractos volátiles y el agua, y se analizaron para los insolubles en acetona, el valor de ácido y la composición (véase Tabla 2). La relación de extracción se refiere a la relación en peso del extractante y el refinado empleados en cada etapa.

5 Tabla 2: Composición de extracto y refinado secos

Ex.	Extracto seco			Refinado seco (ISOL)					
	% AI	%PC	Valor de ácido	%AI	%PA	%PC	%PE	%PI	Valor de ácido
1	58,7	40,9	16,6	66,8	5,3	8,0	18,6	15,9	21,2
2	54,2	39,5	18,4	66,1	4,6	13,2	16,9	12,4	19,5
3	57,5	41,1	17,6	66,4	5,0	9,2	17,5	14,6	20,7
4	56,4	39,3	17,2	66,7	5,0	8,6	17,8	13,2	20,5
5	53,4	35,2	16,5	68,1	5,2	9,2	18	14,2	20,8
6	54,1	34,7	15,7	68,7	5,4	6,5	18,7	14,4	21,7
7	53	36	16,9	66,9	4,8	12,8	18,6	12,8	20,1
8	51,5	37,8	17,4	67,1	4,7	12,8	17,5	12,3	20,1

Los ejemplos muestran que utilizando un proceso de extracción centrífuga a contracorriente en múltiples etapas, es posible lograr rendimientos de hasta el 40% de una fracción de lecitina soluble en etanol que muestra un alto contenido de PC y una adecuada relación PC/AI.

- 10 La correspondiente fase de refinado está fuertemente empobrecida en PC, y tiene una composición que solo se lograría típicamente realizando la extracción de etanol en una sola etapa de la lecitina desengrasada previamente.

- 15 Las fracciones de refinado obtenidas se encontraron particularmente útiles como emulsionantes para productos alimenticios. En los experimentos, se encontró que una relación de extracción más alta, es decir, una relación de extracto a refinado aumentaba el contenido de AI en el refinado. Una temperatura de etanol más alta también condujo a un aumento de AI en el refinado, al igual que una menor concentración de agua en el etanol. Ambos factores parecen mejorar la extracción de triglicéridos con el etanol. Mientras que el contenido de PC en el refinado se podría reducir aplicando una relación de extracción más alta, esto también se obtuvo a partir de una temperatura más alta, más etapas de extracción y mayor velocidad del rotor.

- 20 Además, una relación de extracción más alta, una temperatura más alta y una reducción del contenido de agua en el etanol también conducen a un aumento en las concentraciones de PA, PI y PE en el refinado.

Se encontró que la concentración de agua más alta y la temperatura más alta del etanol aumentan el contenido de PC en el extracto, mientras que el aumento de la relación de extracción conduce a un contenido de PC más bajo en el extracto.

**REIVINDICACIONES**

1. Un proceso de extracción a contracorriente que implica una pluralidad de etapas de mezclado y separación para el fraccionamiento de un material alimenticio que contiene fosfolípidos en dos o más fracciones enriquecidas en uno o más fosfolípidos, que comprende las siguientes etapas:
  - 5 i) poner en contacto el material de partida que contiene fosfolípidos bajo agitación con un extractante que comprende un alcohol alifático seleccionado de alcoholes de C<sub>1</sub> a C<sub>3</sub> y mezclas de los mismos durante un periodo de tiempo suficiente para efectuar la transferencia de al menos una fracción de los fosfolípidos al extractante;
  - ii) separar la mezcla obtenida en un extracto enriquecido en fosfolípidos a partir del refinado residual mediante un proceso que comprende aplicar fuerzas centrífugas;
- 10 en donde el extracto enriquecido en fosfolípidos de cada etapa de separación es al menos en parte devuelto a la anterior, o a una etapa de mezclado adicional posterior, en donde el flujo del proceso general es a contracorriente lo que significa que el material que contiene fosfolípidos se pone en contacto en una primera etapa con el extractante de una segunda etapa o posterior, y así sucesivamente y en donde un extracto final enriquecido en fosfolípidos se separa del refinado residual primero;
- 15 en donde el extracto final comprende al menos un 25% en peso de fosfatidilcolina (PC), y más del 50% en peso de insolubles en acetona (AI).
  2. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde en (a) el material de partida que contiene fosfolípidos se pone en contacto con el extractante en una operación de mezclado en paralelo o a contracorriente.
  3. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde los fosfolípidos extraídos comprenden uno o más de fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilinositol (PI) y/o ácido fosfatídico (PA).
  4. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la fase de refinado final comprende menos del 12% en peso de fosfatidilcolina (PC).
  5. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el alcohol alifático es etanol.
  6. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la concentración de agua en el alcohol alifático está en el intervalo de 0 a 10% en peso.
  7. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde las etapas (a) y (b) se realizan al menos en parte en un aparato de extracción de múltiples etapas que comprende para cada etapa:
    - 30 i) un rotor,
    - ii) una cámara de mezclado conectada con el rotor, y en donde las dos corrientes de líquido se mezclan, y en donde la cámara de mezclado comprende
      - 35 iia) un agitador estacionario colocado en la cámara de mezclado, y
      - iib) una cámara de sedimentación en la que se separan las corrientes de líquido mediante la fuerza centrífuga generada por la cámara de mezclado.
  8. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el agitador estacionario comprende un disco estacionario, y en donde el mezclado se logra a través del diferencial de velocidad entre el disco estacionario y la cámara de mezclado rotatoria.
  9. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende al menos dos etapas de extracción y separación, en donde el extractante respectivo se añade al refinado respectivo en una o más etapas de una manera a contracorriente o en paralelo.
  10. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la relación de extracción está en el intervalo de 1 a 5, en donde la fase de extractante comprende agua en una cantidad de 1 a 10% en peso, en donde la fase de extractante tiene una temperatura de 25°C a 70°C, y en donde se emplean de 2 a 10 etapas de extracción utilizando de 2 a 20.000 g para la etapa de separación.
  - 45 11. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la alimentación que contiene fosfolípidos comprende lecitina.

12. El proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la lecitina se selecciona de lecitina de soja, lecitina de maíz, lecitina de colza, lecitina de aceite de arroz, lecitina de girasol, lecitina de semilla de algodón, lecitina de aceite de palma, lecitina de aceite marino, lecitina de biomasa, lecitina de maní, lecitina de yema de huevo, lecitina de leche y/o lecitina cerebral, más preferiblemente lecitina de soja o lecitina de girasol.
- 5 13. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además aislar al menos parte de los fosfolípidos de la fase de refinado y/o extracto.

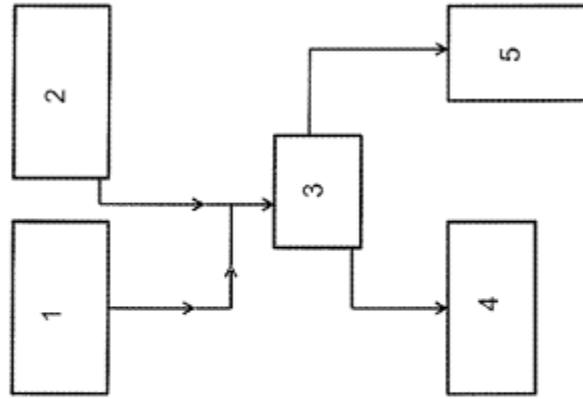


Fig. 1

Velocidad versus Fuerza G

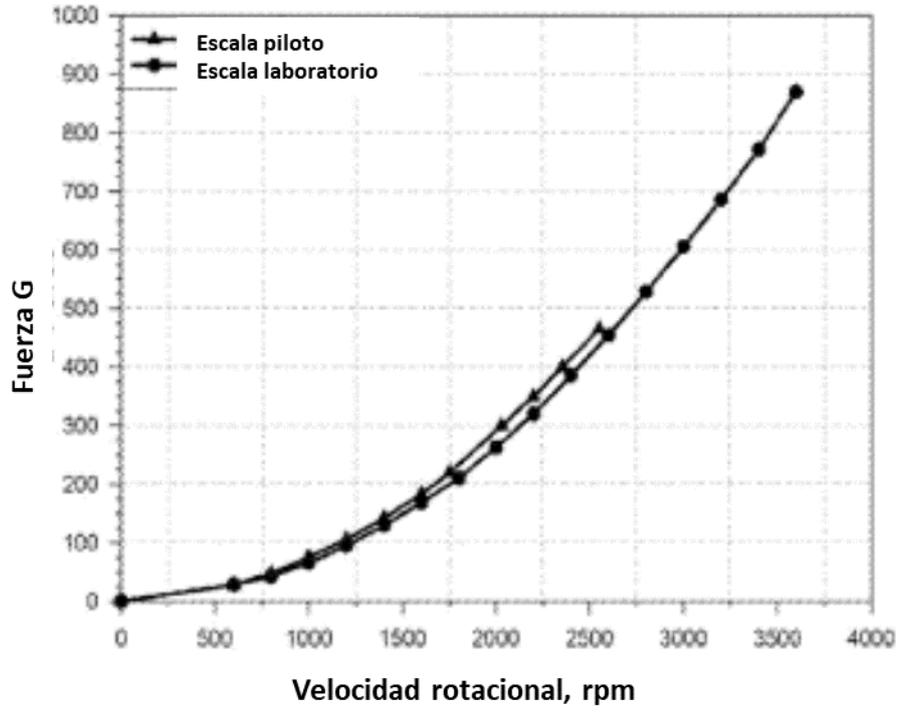


FIGURA 2

