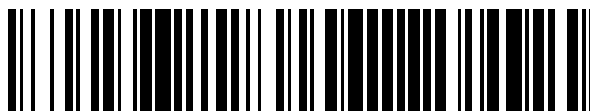


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 497**

51 Int. Cl.:

**A23L 33/10** (2006.01)

**A61K 9/16** (2006.01)

**C07C 403/24** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.11.2014 PCT/EP2014/073954**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.05.2015 WO15067705**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.11.2014 E 14799698 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2019 EP 3065567**

54 Título: **Procedimiento para la purificación de astaxantina**

30 Prioridad:

**07.11.2013 US 201361901136 P**

**12.11.2013 CH 18902013**

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

**13.07.2020**

73 Titular/es:

**DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)**

**Het Overloon 1**

**6411 TE Heerlen, NL**

72 Inventor/es:

**KARRER, PHILIPPE y  
WUESTENBERG, BETTINA**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o  
Bemerkungen) en el folleto original publicado por  
la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 773 497 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 para la purificación de astaxantina

El objeto de la invención es proporcionar una astaxantina (AXN) sintética de calidad alimentaria que no se conoce hasta ahora. "Calidad alimentaria" dentro de la presente invención significa "adecuada para el consumo humano". Una AXN sintética de calidad alimentaria cumple así todos los requisitos reglamentarios relativos a la pureza y puede utilizarse en la producción comercial de alimentos y complementos dietéticos.

La AXN puede fabricarse por síntesis química (véanse los documentos EP-A 908 449, WO 2005/087720, EP-A 733 619), puede producirse por fermentación (véase el documento EP-A 543 023) y aislarse de fuentes naturales tales como desechos de conchas (véase el documento JP-A 11-049 972) o algas *Haematococcus pluvialis* (véase el documento GB-A 2.301.587), en que los ésteres aislados tendrían que escindir a AXN propiamente dicha.

La AXN aislada de fuentes naturales ya se utiliza en productos para el consumo humano: véase, p. ej., el documento US 2009/0297492, en donde se describe que AXN mejora el rendimiento cognitivo; el documento US 2009/0018210, en donde se describe que AXN fomenta la degradación de grasas; el documento EP-A 1 867 327, en donde se describe AXN para prevenir una enfermedad neurodegenerativa, por nombrar solo unos pocos. Hasta ahora, sin embargo, la AXN sintética no se utilizó en productos para el consumo humano.

La AXN sintético es de calidad estandarizada en comparación con AXN de fuentes naturales, ya que es mucho más fácil de utilizar un procedimiento estandarizado para su síntesis química y purificación que depender de la calidad variable de AXN natural que resulta mediante el uso de fuentes naturales que varían también en su composición. Por lo tanto, en el contexto de la presente invención, el término "AXN" significa "AXN sintética".

Procedimientos químicos para la fabricación de AXN se llevan a cabo a menudo en hidrocarburos halogenados tales como diclorometano (véase, por ejemplo, el documento WO 2011/095571), ya que AXN y sus precursores tienen una alta solubilidad en estos disolventes, aunque hubo intenciones en el pasado de evitar el uso de disolventes de este tipo (véanse, por ejemplo, los documentos EP-A 908 449 y WO 2005/087720). También hay métodos de purificación que utilizan cloroformo (véase el documento JP-A 07118226). La AXN obtenida de este modo cristaliza a menudo a partir de alcoholes inferiores, ya que apenas es soluble en este tipo de disolventes.

Por lo tanto, era un objeto de la presente invención proporcionar una AXN sintética que sea de calidad fiable, fácil de obtener también a escala industrial y adecuada para el consumo humano.

Por lo tanto, era un objeto de la presente invención proporcionar una AXN sintética de calidad alimentaria.

Ya existen procedimientos para la purificación de astaxantina:

En el ejemplo 11 del documento WO 2007/072529 la síntesis de astaxantina se lleva a cabo en isopropanol. El producto obtenido se recristaliza en tres rondas sucesivas: una con cloruro de metileno, otra con metanol y otra con heptano. De este modo, toda la astaxantina se disuelve.

De acuerdo con el documento WO 2007/128574 (véase la página 9, línea 25) la torta de filtro de astaxantina se lava con metanol.

De acuerdo con el documento EP-A 633 258 (véase el Ejemplo 2) los cristales de astaxantina han sido lavados con heptano.

El objeto de la presente invención de proporcionar una AXN sintética de calidad alimentaria se cumple mediante el procedimiento de la presente invención que proporciona una AXN con niveles extremadamente bajos de disolvente, preferiblemente con niveles extremadamente bajos de diclorometano, haciendo así esta AXN apta para el consumo humano.

Por lo tanto, la presente invención está especialmente dirigida a proporcionar una AXN sintética con un contenido de diclorometano  $\leq 250$  ppm, preferiblemente con un contenido de diclorometano  $\leq 200$  ppm, más preferiblemente con un contenido de diclorometano  $\leq 100$  ppm, incluso más preferiblemente con un contenido de diclorometano  $\leq 50$  ppm,  $\leq 35$  ppm,  $\leq 30$  ppm,  $\leq 25$  ppm,  $\leq 20$  ppm, lo más preferiblemente con un contenido de diclorometano  $\leq 10$  ppm.

En una forma de realización especialmente preferida de la presente invención, la AXN sintética tiene un contenido de diclorometano en el intervalo de entre 0 y 100 ppm, preferiblemente en el intervalo de entre 10 y 100 ppm.

Preferiblemente, la AXN sintética obtenida por los procedimientos de acuerdo con la presente invención tiene un contenido de metanol  $\leq 500$  ppm, preferiblemente tiene un contenido de metanol  $\leq 350$  ppm, más preferiblemente tiene un contenido de metanol  $\leq 250$  ppm, incluso más preferiblemente tiene un contenido de metanol  $\leq 150$  ppm,  $\leq 100$  ppm, lo más preferiblemente tiene un contenido de metanol  $\leq 50$  ppm,  $\leq 20$  ppm,  $\leq 10$  ppm,  $\leq 5$  ppm.

- 5 En una forma de realización especialmente preferida de la presente invención, la AXN sintética tiene un contenido de metanol en el intervalo de entre 0 y 50 ppm, preferiblemente en el intervalo de entre 0 y 20 ppm, más preferiblemente en el intervalo de 0 a 10 ppm, lo más preferiblemente en el intervalo de 0 a 5 ppm.

En una realización preferida adicional, la AXN sintética tiene un contenido de diclorometano  $< 50$  ppm y un contenido de metanol  $< 100$  ppm.

- 10 La AXN sintética puede utilizarse especialmente en complementos dietéticos. Para estos fines, a menudo se proporciona en forma de una suspensión oleosa o una formulación en polvo tal como una microesfera, protegiendo así la AXN sintética frente a la degradación.

- 15 Por lo tanto, mediante la presente invención es posible proporcionar un complemento dietético humano que comprende astaxantina, fabricado mediante síntesis química (es decir, astaxantina sintética), libre de monoésteres y diésteres de astaxantina, y que comprende  $\leq 250$  ppm de diclorometano. Preferiblemente, estos complementos dietéticos humanos que comprenden este AXN sintético, exento de monoésteres y diésteres de AXN, comprenden  $\leq 200$  ppm de diclorometano,  $\leq 100$  ppm de diclorometano,  $\leq 50$  ppm de diclorometano. Más preferiblemente, estos complementos dietéticos humanos que comprenden AXN sintética de calidad alimentaria, libres de monoésteres y diésteres de AXN, comprenden diclorometano en el intervalo entre 0 y 100 ppm, preferiblemente en el intervalo entre 10 y 100 ppm.
- 20

Además, la presente invención puede proporcionar complementos dietéticos humanos que comprenden AXN sintética de calidad alimentaria, libre de monoésteres y diésteres de AXN y con los niveles reducidos de diclorometano y metanol como se dan arriba, incluyendo todos los intervalos preferidos y combinaciones dadas.

- 25 Dado que es posible con los procedimientos de la presente invención reduzcan significativamente el contenido de disolventes orgánicos halogenados tales como diclorometano, ya no hay necesidad de utilizar una síntesis química, en donde se evita el uso de este tipo de disolventes.

#### Procedimientos

Una AXN sintética de calidad alimentaria puede obtenerse por el siguiente procedimiento que es un objeto de la presente invención.

- 30 Procedimiento 1: Un procedimiento para la fabricación de astaxantina sintética de calidad alimentaria comprende las siguientes etapas:

- a) proporcionar crisales de astaxantina sintética que contienen diclorometano; y
- b) añadir metanol a la astaxantina sintética en una cantidad para obtener una suspensión de astaxantina sintética en metanol, con lo cual la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión está en el intervalo de 5 a 50% en peso, basado en el peso total de la suspensión; y
- 35 c) llevar la suspensión obtenida en la etapa b) a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C, con lo cual la presión está por encima de la presión atmosférica; y
- d) mantener la suspensión a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C y a una presión superior a la presión atmosférica, al tiempo que se separa el diclorometano y el metanol por destilación hasta que la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión esté en el intervalo de 25 a 75% en peso, basado en el peso total de la suspensión; con la condición de que la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión sea mayor que en la suspensión de partida obtenida en la etapa b); y
- 40 e) enfriar la suspensión de astaxantina sintética a una temperatura en el intervalo de 10 a 35°C; y
- f) separar opcionalmente por filtración los crisales de astaxantina sintética; y
- 45 g) secar la suspensión de astaxantina sintética enfriada obtenida en la etapa e) o los crisales de astaxantina sintética filtrados obtenidos en la etapa f);

con lo cual durante el procedimiento la astaxantina sintética no se disuelve por completo en el metanol, y con lo cual se obtiene una astaxantina sintética de calidad alimentaria con un contenido de diclorometano  $\leq 250$  ppm.

- 50 La etapa f) es opcional, lo que significa que puede llevarse a cabo o no.

Si la etapa f) no se lleva a cabo, el procedimiento es como sigue: Procedimiento 2:

Un procedimiento para la fabricación de astaxantina sintética de calidad alimentaria comprende las siguientes etapas:

- 5 i) proporcionar cristales de astaxantina sintética que contienen diclorometano; y
- ii) añadir metanol a la astaxantina sintética en una cantidad para obtener una suspensión de astaxantina sintética en metanol, con lo que la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión está en el intervalo de 5 a 50% en peso, basado en el peso total de la suspensión; y
- 10 iii) llevar la suspensión obtenida en la etapa b) a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C, con lo cual la presión está por encima de la presión atmosférica; y
- iv) mantener la suspensión a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C y a una presión superior a la presión atmosférica mientras se separa el diclorometano y el metanol por destilación hasta que la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión esté en el intervalo de 25 a 75% en peso, basado en el peso total de la suspensión, con la condición de que la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión sea mayor que en la suspensión de partida obtenida en la etapa ii); y
- 15 v) enfriar la suspensión de astaxantina sintética a una temperatura en el intervalo de 10 a 35°C; y
- vi) secar la suspensión de astaxantina sintética enfriada obtenida en la etapa v), con lo cual durante el procedimiento la astaxantina sintética no se disuelve por completo en el metanol, y con lo cual se obtiene una astaxantina sintética de calidad alimentaria con un contenido de diclorometano  $\leq$  250 ppm.

Si se lleva a cabo la etapa f), el procedimiento es como sigue: Procedimiento 3:

20 Un procedimiento para la fabricación de astaxantina sintética de calidad alimentaria comprende las siguientes etapas:

- A) proporcionar cristales de astaxantina sintética que contienen diclorometano; y
- B) añadir metanol a la astaxantina sintética en una cantidad para obtener una suspensión de astaxantina sintética en metanol, con lo cual la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión está en el intervalo de 5 a 50% en peso, basado en el peso total de la suspensión; y
- 25 C) llevar la suspensión obtenida en la etapa b) a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C, con lo cual la presión está por encima de la presión atmosférica; y
- D) mantener la suspensión a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C y a una presión superior a la presión atmosférica al tiempo que se separa el diclorometano y el metanol por destilación hasta que la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión esté en el intervalo de 25 a 75% en peso, basado en el peso total de la suspensión, con la condición de que la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión sea mayor que en la suspensión inicial obtenida en la etapa B); y
- 30 E) enfriar la suspensión de astaxantina sintética a una temperatura en el intervalo de 10 a 35°C; y
- F) separar por filtración los cristales de astaxantina sintética; y
- 35 G) secar los cristales de astaxantina sintética filtrados obtenidos en la etapa F); con lo cual durante el procedimiento la astaxantina sintética no se disuelve por completo en el metanol, y con lo cual se obtiene una astaxantina sintética de calidad alimentaria con un contenido de diclorometano  $\leq$  250 ppm.

Preferiblemente, la astaxantina sintética de calidad alimentaria así obtenida tiene un contenido de diclorometano  $\leq$  100 ppm. Además, dicha astaxantina sintética de calidad alimentaria tiene preferiblemente un contenido de metanol  $\leq$  250 ppm.

Estos procedimientos se describirán ahora con mayor detalle a continuación. Son económicos y pueden realizarse a escala industrial. Durante el procedimiento, la cantidad total de astaxantina no se disuelve por completo en el metanol en ningún momento. Esto contrasta con un procedimiento de cristalización en el que la cantidad total de astaxantina se disuelve por completo al calentarla y se recristaliza cuando la temperatura vuelve a disminuir.

#### 45 Etapa a) / Etapa i) / Etapa A)

Como material de partida se utilizan cristales AXN sintética. Los cristales de AXN sintética son los obtenidos de cualquiera de las síntesis químicas después de separar el disolvente diclorometano, en el que se ha realizado la síntesis. El diclorometano puede haberse separado por destilación o por intercambio de disolvente. Preferiblemente, el diclorometano se ha separado mediante un intercambio de disolvente con metanol. En este caso, la mezcla de astaxantina sintética y diclorometano se calienta a una temperatura de 38 a 40°C a presión atmosférica y el diclorometano se separa por destilación. Simultáneamente se añade metanol de modo que el volumen de la mezcla se mantenga constante. Luego, el disolvente (diclorometano + metanol) se separa por destilación hasta que la temperatura interna se haya elevado a 64°C (punto de ebullición del metanol), lo que significa que solo se separa por destilación el metanol, pero ya no se necesita diclorometano.

55 Estos cristales de AXN sintética todavía contienen diclorometano que no puede ser separado simplemente prolongando el tiempo para el secado de estos cristales de AXN sintética, incluso si se aumentan la temperatura y/o

el vacío. Cantidades típicas de diclorometano restante en los cristales de AXN sintética son de 0,2 a 0,3% en peso, basado en el peso total de los cristales de AXN sintética.

Dado que el procedimiento de la presente invención es muy eficaz en la separación de diclorometano, también es posible utilizar directamente **una solución de la AXN sintética en diclorometano como material de partida** en lugar de cristales de AXN sintética. Luego, la etapa etapa a) / etapa i) / etapa A) es la siguiente:

5 a)/i)/A) proporcionar una solución de astaxantina sintética en diclorometano.

En este caso, es ventajoso reducir primero por destilación la cantidad de diclorometano en la solución. Preferiblemente esto se hace añadiendo simultáneamente metanol.

10 Por lo tanto, si una solución de AXN sintética en diclorometano se utiliza como material de partida, ventajosamente las etapas a2) y a3) se llevan a cabo después de la etapa a) / etapa i) / etapa A) y antes de la etapa b) / etapa ii) / etapa B).

a2) opcionalmente, añadir metanol a la solución de astaxantina sintética de la etapa a1);

a3) separar diclorometano por destilación;

en caso de que la etapa a2) se haya realizado separando diclorometano y metanol por destilación.

15 Etapa b) / Etapa ii) / Etapa B)

Preferiblemente, la etapa b) se lleva a cabo en un reactor cerrado.

Preferiblemente, se añade el metanol para los cristales de astaxantina sintética bajo nitrógeno.

Etapa c) / Etapa iii) / Etapa B)

20 Preferiblemente, la suspensión obtenida en la etapa b) / etapa ii) / etapa B) se lleva a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C, más preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 100 a 120°C, lo más preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 105 a 115°C. Con ello, aumenta la presión.

Etapa d) / Etapa iv) / Etapa D)

25 Cuando se alcanza la temperatura deseada, la temperatura se mantiene constante y diclorometano y metanol se separan por destilación hasta que la cantidad de AXN sintética en dicha suspensión esté en el intervalo de 25 a 75% en peso, preferiblemente en el intervalo de 35 a 65% en peso, incluso más preferiblemente en el intervalo de 45 a 55% en peso, basado en el peso total de la suspensión. Por lo tanto, en cualquier caso, la concentración de la suspensión aumenta, lo que significa que la cantidad de disolvente en dicha suspensión disminuye en comparación con la suspensión de la etapa b) / etapa ii) / etapa B).

Etapa e) / Etapa v) / Etapa E)

30 Preferiblemente, la suspensión astaxantina sintética metanólica, con lo cual su contenido de diclorometano es  $\leq 250$  ppm, se enfría a una temperatura en el intervalo de 15-30°C, más preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 20 a 25°C, que conduce a cristales de astaxantina sintética.

Etapa f) / Etapa F)

35 Opcionalmente, los cristales de astaxantina sintética pueden separarse por filtración. Esta etapa se lleva a cabo preferiblemente. Por lo tanto, preferiblemente se realiza el procedimiento 3.

Etapa g) / Etapa vi) / Etapa G)

El secado de los cristales de AXN sintética obtenidos se lleva a cabo generalmente a una temperatura por debajo de 140°C, preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 40 a 140°C, y en vacío. El vacío está preferiblemente en el intervalo de entre 0 y 20 mbara.

40 En una realización de la presente invención, el secado de los cristales de AXN sintética se lleva a cabo a una temperatura de 80°C y a una presión de 20 mbar. En una realización adicional de la presente invención, el secado de los cristales de AXN sintética se lleva a cabo a una temperatura en el intervalo de 55 a 70°C y a una presión por debajo de 20 mbar.

Realizaciones especialmente preferidas de la presente invención son aquellos procedimientos en los que se realizan una o más de las condiciones preferidas dadas anteriormente. Los procedimientos más preferidos de la presente invención son aquellos en los que se realizan todas las condiciones preferidas arriba dadas.

Suspensiones oleosas

5 La AXN sintética de calidad alimentaria puede mezclarse con un aceite comestible para obtener una suspensión oleosa de AXN sintética de calidad alimentaria. El aceite comestible puede seleccionarse del siguiente grupo que consiste en aceites vegetales, tales como aceite de maíz, aceite de cártamo, aceite de girasol, aceite de triglicéridos de cadena media (MCT), aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite de colza, aceite de palma, aceite de almendra de palma, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva, aceite de coco y aceites sintéticos, y cualquier mezcla de los mismos, pero no se limita a los mismos. Aceites comestibles especialmente preferidos se seleccionan del grupo que consiste en aceite de cártamo, aceite de maíz, aceite de girasol, aceite de triglicéridos de cadena media (MCT) y cualquier mezcla de los mismos.

15 Generalmente, el contenido de AXN sintética de calidad alimentaria en dicha suspensión está en el intervalo de 0,5 a 20% en peso, basado en el peso total de la suspensión. Preferiblemente, el contenido de AXN en dicha suspensión está en el intervalo de 1,0 a 10% en peso, basado en el peso total de la suspensión. Más preferiblemente, se comercializan suspensiones oleosas con un contenido de AXN sintética de calidad alimentaria de 5 y 10% en peso, respectivamente.

20 La suspensión oleosa puede comprender, además, un antioxidante, especialmente un antioxidante liposoluble. Un antioxidante liposoluble especialmente preferido es dl-alfa-tocoferol. La cantidad de un antioxidante de este tipo está preferiblemente en el intervalo de 0,1 a 3% en peso, basado en el peso total de la suspensión. La cantidad de aceite es entonces tanta que la cantidad de los tres ingredientes (AXN sintética de calidad alimentaria; antioxidante, aceite) suma hasta el 100% en peso.

La suspensión oleosa se puede utilizar directamente como tal para la fabricación de complementos dietéticos en forma de cápsulas, especialmente en forma de cápsulas de gelatina blanda.

25 Formas en polvo

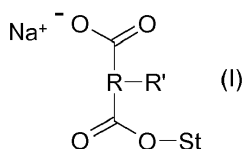
Las formas en polvo se pueden utilizar para la fabricación de tabletas.

Una forma en polvo especialmente preferida es una microesfera que comprende la astaxantina sintética de calidad alimentaria tal como se describe arriba, encapsulada en una matriz que comprende un almidón alimentario modificado.

30 La cantidad de astaxantina sintética de calidad alimentaria en dicha microesfera está preferiblemente en el intervalo de 0,5 a 20% en peso, basado en el peso total de la microesfera.

35 Las microesferas pueden comprender, además, un antioxidante hidrosoluble (tal como ascorbato de sodio) y/o un antioxidante liposoluble (tal como DL-alfa-tocoferol), así como un sacárido como adyuvante. La cantidad de cada uno de los antioxidantes está preferiblemente en el intervalo de 0,5 a 3,0% en peso, basado en el peso total de la microesfera.

Un almidón alimentario modificado particularmente preferido de esta invención tiene la siguiente fórmula (I)



40 en donde St es un almidón, R es un radical alquileo y R' es un grupo hidrofóbico. Preferiblemente, R es un radical alquileo inferior tal como dimetileno o trimetileno. R' puede ser un grupo alquilo o alquenido, preferiblemente con 5 a 18 átomos de carbono. Un compuesto preferido de fórmula (I) es un " almidón OSA" (almidón de octenil-succinato sódico). El grado de sustitución, es decir, el número de grupos hidroxilo esterificados al número de grupos hidroxilo no esterificados libres, varía generalmente en un intervalo de 0,1% a 10%, preferiblemente en un intervalo de 0,5% a 4%, más preferiblemente en un intervalo de 3% a 4%.

5 La expresión "almidón OSA" designa cualquier almidón (de cualquier fuente natural tal como el maíz, maíz ceroso, cereal ceroso, trigo, tapioca y patata, o sintetizado) que fue tratado con anhídrido octenil-succínico (OSA). El grado de sustitución, es decir, el número de grupos hidroxilo esterificados con OSA al número de grupos hidroxilo libres no esterificados varía generalmente en un intervalo de 0,1% a 10%, preferiblemente en un intervalo de 0,5% a 4%, más preferiblemente en un intervalo de 3% a 4%. Los almidones OSA también se conocen bajo la expresión "almidón alimentario modificado".

10 La expresión "almidones OSA" abarca también los almidones que están disponibles comercialmente, p. ej., de National Starch bajo los nombres comerciales HiCap 100, Capsul (octenilbutanodioato de amilodextrina), Capsul HS, Purity Gum 2000, Clear Gum Co03, UNI-PURE, HYLON VII; de National Starch y Roquette Frères, respectivamente; de CereStar bajo el nombre comercial C\*EmCap o de Tate & Lyle.

15 En una realización preferida de la presente invención se utiliza un almidón alimentario modificado comercialmente disponible, tal como, p. ej., HiCap 100 (de National Starch) y ClearGum Co03 (de Roquette Frères). Es especialmente ventajoso que un almidón de este tipo o un almidón OSA en general se mejore adicionalmente de acuerdo con un procedimiento tal como se describe en el documento WO 2007/090614, especialmente de acuerdo con un proceso tal como se describe en los ejemplos 28, 35 y/o 36 del documento WO 2007/090614.

20 Así, en una realización mejorada adicional de la presente invención, un almidón comercialmente disponible de este tipo ha sido centrifugado como una solución o suspensión acuosa antes de su uso. La centrifugación se puede llevar a cabo a 1000 hasta 20000 g dependiendo del contenido de masa seca del polisacárido modificado en la solución o suspensión acuosa. Si el contenido de masa seca del polisacárido modificado en la solución o suspensión acuosa es alto, la fuerza de centrifugación aplicada también es alta. Por ejemplo, para una solución o suspensión acuosa con un contenido de masa seca del polisacárido modificado de 30% en peso, una fuerza de centrifugación de 12000 g puede ser adecuada para lograr la separación deseada.

25 La centrifugación puede llevarse a cabo a contenidos de materia seca en el intervalo de 0,1-60% en peso, preferiblemente en el intervalo de 10-50% en peso, más preferiblemente en el intervalo de 15-40% en peso a temperaturas en el intervalo de 2-99°C, preferiblemente en el intervalo de 10-75°C, lo más preferiblemente en el intervalo de 40-60°C.

El término "sacárido" en el contexto de la presente invención abarca mono-, di-, oligo- y poli-sacáridos, así como cualquiera de sus mezclas.

30 Ejemplos de monosacáridos son fructosa, glucosa (= dextrosa), manosa, galactosa, sorbosa, así como cualesquiera mezclas de los mismos.

Monosacáridos preferidos son glucosa y fructosa, así como cualquier mezcla de los mismos.

El término "glucosa" en el contexto de la presente invención no sólo significa la sustancia pura, sino también un jarabe de glucosa con un DE  $\geq$  90. Esto también se aplica para los otros monosacáridos.

35 La expresión "equivalente de dextrosa" (DE) designa el grado de hidrólisis y es una medida de la cantidad de azúcar reductor calculada como D-glucosa basada en el peso seco; la escala se basa en almidón nativo que tiene un DE cercano a 0 y glucosa que tiene un DE de 100.

Ejemplos de disacáridos son sacarosa, isomaltosa, lactosa, maltosa y nigerosa, así como cualquier mezcla de los mismos.

Un ejemplo de un oligosacárido es maltodextrina.

40 Un ejemplo de un polisacárido es dextrina.

Un ejemplo de una mezcla de mono- y di-sacáridos es azúcar invertido (glucosa + fructosa + sacarosa).

Mezclas de mono- y poli-sacáridos están comercialmente disponibles, p. ej., bajo los nombres comerciales Glucidex IT 47 (de Roquette Frères), Dextrose Monohydrate ST (de Roquette Frères), Sirodex 331 (de Tate & Lyle) y Glucamyl F 452 (de Tate & Lyle).

45 En una realización preferida, la cantidad del almidón alimentario modificado está en el intervalo de 20 a 80% en peso, más preferiblemente en el intervalo de 40 a 60% en peso, y la cantidad del sacárido (adyuvante) está en el intervalo de 5 a 30% en peso, basado en la cantidad total de la composición.

Más preferiblemente, las microesferas se fabrican de acuerdo con el procedimiento descrito a continuación, con lo cual especialmente el almidón de maíz se utiliza como agente atrapador de polvo. Lo más preferiblemente, las microesferas así resultantes contienen de 10 a 25% en peso de almidón de maíz, basado en el peso total de la microesfera.

- 5 Se prefieren microesferas, cuya preparación comprende las siguientes etapas:
- a) proporcionar un almidón alimentario modificado, un sacárido, un antioxidante hidrosoluble/liposoluble y una AXN sintética de calidad alimentaria de acuerdo con la presente invención;
  - b) preparar una nano-emulsión acuosa de dichos ingredientes;
  - 10 c) convertir la nano-emulsión en una microesfera mediante un proceso de captura de polvo.

#### Complementos dietéticos humanos

Para los complementos dietéticos humanos puede utilizarse cualquier AXN de calidad alimentaria sintética tal como se describe arriba (con todas las preferencias dadas).

- 15 "Complementos dietéticos humanos" significan complementos dietéticos a ser administrados y consumidos por los seres humanos.

La invención se ilustra ahora adicionalmente en los siguientes ejemplos no limitativos.

#### **Ejemplos**

##### **Ejemplos 1-2: Procedimientos para obtener astaxantina sintética de calidad alimentaria**

##### **Ejemplo 1**

- 20 120 g de astaxantina (97%) que contenía 2000 mg/kg de diclorometano se introducen en un autoclave de acero de 1000 ml bajo condiciones inertes con 680 ml de metanol. El autoclave se cierra, la mezcla se agita a 350 rpm (rotaciones por minuto) y se calienta a 105°C.

- 25 Una vez que se alcanza la temperatura interna (105°C) deseada, el disolvente se separa por destilación a un caudal de 1,35 ml/min durante 7 horas (lo que significa que 567 ml de metanol se separan por destilación). Después de eso, la mezcla se enfría a 25°C y se diluye con 150 ml de metanol. Los cristales se separan por filtración, se lavan con 150 ml de metanol y se secan en un horno de secado durante 16 horas a 80°C bajo 20 mbara. Se obtienen 117,4 g de astaxantina seca que contienen 55 mg/kg de diclorometano y 57 mg/kg de metanol.

##### **Ejemplo 2**

- 30 120 g de astaxantina (97%) que contenía 2000 mg/kg de diclorometano se introducen en un autoclave de acero de 1000 ml bajo condiciones inertes con 680 ml de metanol. El autoclave se cierra, la mezcla se agita a 350 rpm y se calienta a 110°C. Una vez que se alcanza la temperatura interna (110°C) deseada, el disolvente se separa por destilación a un caudal de 1,4 ml/min durante 7 horas (lo que significa que 588 ml de metanol se separan por destilación). Después de eso, la mezcla se enfría a 25°C y se diluye con 170 ml de metanol. Los cristales se separan por filtración, se lavan con 150 ml de metanol y se secan en un horno de secado durante 16 horas a 80°C bajo 20 mbara. Se obtienen 117,2 g de astaxantina seca que contienen 11 mg/kg de diclorometano y 140 mg/kg de metanol.

En principio es posible realizar el ejemplo 1 o 2 tal como se describe arriba también a cualquier otra temperatura en el intervalo de 80 a 140°C en lugar de 105°C y 110°C, respectivamente. Estas otras temperaturas son, p. ej., 80°C, 85°C, 90°C, 95°C, 100°C, 115°C, 120°C, 125°C, 130°C, 135°C, 140°C y cualquier otra temperatura entremedias. Los Ejemplos 1 y 2 pueden repetirse especialmente a una temperatura de 115°C.

- 40 **Ejemplos 3-6: formas en polvo**

##### **Ejemplo 3: Forma de Microesfera de Astaxantina al 5%**

- 45 10 g de astaxantina cristalina purificada tal como se obtiene en el ejemplo 1 y 1,7 g de dl- $\alpha$ -tocoferol se disuelven en un disolvente apropiado. Esta solución se añade bajo agitación a una solución de 97,7 g de almidón alimentario modificado (p. ej., Capsul HS), 25,0 g de jarabe de glucosa (p. ej., Glucidex IT 47), 3,3 g de ascorbato de sodio y 240 g de agua a una temperatura de 50 a 60°C. Esta pre-emulsión se homogeneiza con un homogeneizador de rotor-estator durante 20 minutos. Finalmente, la emulsión se homogeneiza con un homogeneizador de alta presión. En la



siguiente etapa, el disolvente restante se separa por destilación y la emulsión exenta de disolvente se seca mediante un proceso estándar de captura de polvo. Se obtienen 140 g de microesferas con un contenido de astaxantina de 5,7%.

**Ejemplo 4: Forma de Microesfera de Astaxantina al 5%**

5 El Ejemplo 3 puede repetirse utilizando astaxantina cristalina purificada tal como se obtiene en el ejemplo 2 en lugar de la astaxantina cristalina purificada tal como se obtiene en el ejemplo 1.

**Ejemplo 5: Forma de Microesfera de Astaxantina al 10%**

10 20 g de astaxantina cristalina purificada tal como se obtuvo en el ejemplo 1 y 1,7 g de dl- $\alpha$ -tocoferol se disuelven en un disolvente apropiado. Esta solución se añade bajo agitación a una solución de 81,7 g de almidón alimentario modificado (p. ej., Capsul HS), 13,3 g de jarabe de glucosa (p. ej., Glucidex IT 47), 8,3 g de ascorbato de sodio y 230 g de agua a una temperatura de 50 a 60°C. Esta pre-emulsión se homogeneiza con un homogeneizador de rotor-estator durante 20 minutos. Finalmente, la emulsión se homogeneiza con un homogeneizador de alta presión. En la siguiente etapa, el disolvente restante se separa por destilación y la emulsión exenta de disolvente se seca mediante un proceso estándar de captura de polvo. Se obtienen 140 g de microesferas con un contenido de astaxantina del

15 12,0%.

**Ejemplo 6: Forma de Microesfera de Astaxantina al 10%**

El Ejemplo 5 puede repetirse utilizando astaxantina cristalina purificada tal como se obtiene en el ejemplo 2 en lugar de la astaxantina cristalina purificada tal como se obtiene en el ejemplo 1.

**Ejemplos 7-8: Suspensiones Oleosas**

20 **Ejemplo 7: Suspensión Fluida de Astaxantina al 10%**

Se prepara una suspensión tosca que contiene 60 g de astaxantina cristalina purificada tal como se obtiene en el ejemplo 1, 5,5 g de dl- $\alpha$ -tocoferol y 480 g de aceite de cártamo mezclando a 45°C. Para la reducción del tamaño de partícula, esta suspensión tosca se bombea continuamente a través de un molino de bolas agitado (diámetro de las perlas de dióxido de zirconio: 0,4 mm, molino de bolas Dispermate SL C12; VMA-Getzmann GmbH, Alemania) hasta

25 conseguir el tamaño de partícula medio deseado (< 2 micras). Después de 140 minutos de tiempo de molienda, se obtienen 450 g de una suspensión oleosa con un contenido de astaxantina de 10,7% y un tamaño de partícula medio de 1,8 micras (medido con el equipo Malvern Mastersizer 3000, presentación de Fraunhofer).

**Ejemplo 8: Suspensión Fluida de Astaxantina al 10%**

30 El ejemplo 7 puede repetirse utilizando astaxantina cristalina purificada tal como se obtiene en el ejemplo 2 en lugar de la astaxantina cristalina purificada tal como se obtiene en el ejemplo 1.

## REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la fabricación de astaxantina sintética de calidad alimentaria con un contenido de diclorometano  $\leq 250$  ppm, que comprende las siguientes etapas:
- 5 a) proporcionar cristales de astaxantina sintética que contienen diclorometano; y
  - b) añadir metanol a la astaxantina sintética en una cantidad para obtener una suspensión de astaxantina sintética en metanol, con lo cual la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión está en el intervalo de 5 a 50% en peso, basado en el peso total de la suspensión; y
  - 10 c) llevar la suspensión obtenida en la etapa b) a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C, con lo cual la presión está por encima de la presión atmosférica; y
  - d) mantener la suspensión a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C y a una presión superior a la presión atmosférica, al tiempo que se separa el diclorometano y el metanol por destilación hasta que la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión esté en el intervalo de 25 a 75% en peso, basado en el peso total de la suspensión; con la condición de que la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión sea mayor que en la suspensión de partida obtenida en la etapa b); y
  - 15 e) enfriar la suspensión de astaxantina sintética a una temperatura en el intervalo de 10 a 35°C; y
  - f) separar opcionalmente por filtración los cristales de astaxantina sintética; y
  - 20 g) secar la suspensión de astaxantina sintética enfriada obtenida en la etapa e) o los cristales de astaxantina sintética filtrados obtenidos en la etapa f); con lo cual durante el procedimiento la astaxantina sintética no se disuelve por completo en el metanol, y con lo cual se obtiene una astaxantina sintética de calidad alimentaria con un contenido de diclorometano  $\leq 250$  ppm.
- 2.. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, por el cual en la etapa c) la suspensión se lleva a una temperatura en el intervalo de 100 a 120°C, preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 105 a 115°C.
3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que en la etapa d) el diclorometano y el metanol se separan por destilación hasta que la cantidad de AXN sintética en dicha suspensión esté en el intervalo de 35 a 65% en peso, preferiblemente hasta que la cantidad de AXN sintética en dicha suspensión esté en el intervalo de 45 a 55% en peso, basado en el peso total de la suspensión.
4. Un procedimiento para la fabricación de astaxantina sintética de calidad alimentaria con un contenido de diclorometano  $\leq 250$  ppm, que comprende las siguientes etapas:
- 30 a) proporcionar una solución de astaxantina sintética que contiene diclorometano; y
  - b) añadir metanol a la solución de astaxantina sintética en una cantidad para obtener una suspensión de astaxantina sintética en metanol, con lo cual la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión está en el intervalo de 5 a 50% en peso, basado en el peso total de la suspensión; y
  - 35 c) llevar la suspensión obtenida en la etapa b) a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C, con lo cual la presión está por encima de la presión atmosférica; y
  - d) mantener la suspensión a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C y a una presión superior a la presión atmosférica, al tiempo que se separa el diclorometano y el metanol por destilación hasta que la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión esté en el intervalo de 25 a 75% en peso, basado en el peso total de la suspensión; con la condición de que la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión sea mayor que en la suspensión de partida obtenida en la etapa b); y
  - 40 e) enfriar la suspensión de astaxantina sintética a una temperatura en el intervalo de 10 a 35°C; y
  - f) separar opcionalmente por filtración los cristales de astaxantina sintética; y
  - 45 g) secar la suspensión de astaxantina sintética enfriada obtenida en la etapa e) o los cristales de astaxantina sintética filtrados obtenidos en la etapa f); con lo cual durante el procedimiento la astaxantina sintética no se disuelve por completo en el metanol, y con lo cual se obtiene una astaxantina sintética de calidad alimentaria con un contenido de diclorometano  $\leq 250$  ppm.
5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, en el que en la etapa c) la suspensión se lleva a una temperatura en el intervalo de 100 a 120°C, preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 105 a 115°C.
6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4 o 5, en el que en la etapa d) el diclorometano y el metanol se eliminan por destilación hasta que la cantidad de AXN sintética en dicha suspensión esté en el intervalo de 35 a 65% en peso, preferiblemente hasta que la cantidad de AXN sintética en dicha suspensión esté en el intervalo de 45 a 55% en peso, basado en el peso total de la suspensión.
7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, en el que después de la etapa a) y antes de la etapa b) se realizan las siguientes etapas:
- 55 a2) opcionalmente añadir metanol a la solución de astaxantina sintética de la etapa a); y

a3) separar diclorometano por destilación;  
en caso de que la etapa a2) se haya realizado mediante la separación de diclorometano y metanol por destilación.