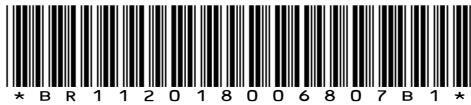




República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,  
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial



**(11) BR 112018006807-1 B1**

**(22) Data do Depósito:** 05/10/2016

**(45) Data de Concessão:** 14/02/2023

**(54) Título:** PROCESSO PARA A SEPARAÇÃO E CONCENTRAÇÃO DE UM ÓLEO COMPREENDENDO ÉSTERES DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS

**(51) Int.Cl.:** A23D 9/02; C11B 3/12.

**(30) Prioridade Unionista:** 05/10/2015 US 62/237,320.

**(73) Titular(es):** DSM IP ASSETS B.V..

**(72) Inventor(es):** ALFRED ROLLE; RALF PROPLESCH; CHRIS LUIGART; JAROSLAV KRALOVEC; MARK OXFORD; ERICK REYES-SUAREZ; MICHAEL LENN STEFANSKI.

**(86) Pedido PCT:** PCT US2016055599 de 05/10/2016

**(87) Publicação PCT:** WO 2017/062523 de 13/04/2017

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 04/04/2018

**(57) Resumo:** COMPOSIÇÕES DE ÓLEO E MÉTODOS DE FABRICAÇÃO. A presente invenção se refere a composições de óleo que são enriquecidas em ácidos graxos poli-insaturados; composições contendo as composições de óleo enriquecidas; e métodos de fabricação e uso de tais composições de óleo enriquecidas. De preferência, o óleo é um óleo microbiano ou marinho.

**"PROCESSO PARA A SEPARAÇÃO E CONCENTRAÇÃO DE UM ÓLEO  
COMPREENDENDO ÉSTERES DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS"  
REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS**

**[0001]** Este pedido reivindica o benefício da data de depósito do pedido de patente americana provisório N° 62/237.320, depositado em 5 de outubro de 2015, cuja divulgação é incorporada aqui por referência na sua totalidade.

**CAMPO DA INVENÇÃO**

**[0002]** São divulgadas aqui composições de óleo que são enriquecidas com ácidos graxos poli-insaturados; composições contendo as composições de óleo; e métodos de fabricação e uso de tais composições de óleo. De preferência, o óleo é um óleo microbiano ou marinho.

**ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

**[0003]** Os ácidos graxos são classificados com base nas características de comprimento e saturação da cadeia de carbono. Os ácidos graxos são denominados ácidos graxos de cadeia curta, de cadeia média ou de cadeia longa com base no número de carbonos presentes na cadeia, são denominados ácidos graxos saturados quando não há ligações duplas ou triplas entre os átomos de carbono e são denominados ácidos graxos insaturados quando estão presentes ligações duplas ou triplas. Os ácidos graxos insaturados de cadeia longa são monoinsaturados quando apenas uma ligação dupla ou tripla está presente e são poli-insaturados quando mais de uma ligação dupla ou tripla está presente.

**[0004]** Os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) são classificados com base na posição da primeira ligação dupla

a partir da extremidade metílica do ácido graxo; os ácidos graxos ômega-3 (n-3) contêm uma primeira ligação dupla no terceiro carbono contando a partir do terminal metílico, enquanto os ácidos graxos ômega-6 (n-6) contêm uma primeira ligação dupla no sexto carbono. Por exemplo, o ácido docosa-hexaenoico ("DHA") é um ácido graxo ômega-3 poli-insaturado de cadeia longa (AGPI-CL), com um comprimento de cadeia de 22 carbonos e 6 ligações duplas, frequentemente designado como "22:6 n-3". Outros AGPI-CL ômega-3 incluem ácido eicosapentaenoico ("EPA"), designado como "20:5 n-3" e ácido ômega-3 docosapentaenoico ("DPA n-3"), designado como "22:5 n-3". Os AGPI-CL ômega-6 incluem ácido araquidônico ("ARA"), designado como "20:4 n-6" e ácido ômega-6 docosapentaenoico ("DPA n-6"), designado como "22:5 n-6".

**[0005]** Os ácidos graxos ômega-3 são moléculas biologicamente importantes, que afetam a fisiologia celular devido à sua presença nas membranas celulares, regulam a produção e a expressão gênica de compostos biologicamente ativos e servem como substratos biossintéticos. Roche, H. M., *Proc. Nutr. Soc.* 58:397-401 (1999). O DHA, por exemplo, é responsável por aproximadamente 15% a 20% dos ácidos graxos que produzem lipídeos no córtex cerebral humano, 30% a 60% dos ácidos graxos que produzem lipídeos na retina, estão concentrados nos testículos e espermatozoides e são um componente importante do leite materno. Bergé, J. P. e Barnathan, G. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 96:49-125 (2005). O DHA é responsável por até 97% dos ácidos graxos ômega-3 no cérebro e até 93% dos ácidos graxos ômega-3 na

retina. Além disso, o DHA é essencial para o desenvolvimento fetal e infantil, bem como para a manutenção das funções cognitivas em adultos. *Id.* Como os ácidos graxos ômega-3 não são sintetizados de novo no corpo humano, esses ácidos graxos devem ser derivados de fontes nutricionais. No entanto, fontes de ácidos graxos ômega-3 podem variar na identidade e quantidade de AGPI-CL produzidos. Como tal, existe uma necessidade continuada por fontes de ácidos graxos ômega-3 com grandes quantidades de AGPI-CL com perfis desejáveis de AGPI-CL e por óleos que contêm concentrações mais elevadas de AGPI-CL. Foi demonstrado que métodos de concentração anteriores requerem várias etapas para alcançar um nível de concentração desejada, resultando em um processo ineficiente, embora muitas vezes não seja obtido o teor ou o perfil de AGPI-CL desejado. Outros métodos conhecidos são caros e demorados. Além disso, métodos de concentração anteriores não proporcionaram um método de separação e concentração em um processo contínuo, que forneça um teor e perfil de AGPI-CL desejado. Surpreendentemente, os inventores descobriram um método de separação e concentração de óleos compreendendo ácidos graxos poli-insaturados para a produção de perfis de AGPI-CL desejáveis, tendo maiores concentrações de AGPI-CL, que é menos dispendioso e menos demorado do que os métodos anteriores.

## **SUMÁRIO DA INVENÇÃO**

**[0006]** A presente invenção se refere a um óleo compreendendo uma fração éster, em que pelo menos cerca de 70% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido

docosa-hexaenoico (DHA) e cerca de 0,5% a cerca de 5% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido docosapentaenoico n-3 (DPA n-3). Em algumas modalidades, menos de cerca de 5% em peso dos ácidos graxos da fração éster é ácido eicosapentaenoico (EPA). Em algumas modalidades, cerca de 0,1% a cerca de 5% em peso dos ácidos graxos na fração éster é EPA. Em algumas modalidades, cerca de 2% a cerca de 8% em peso dos ácidos graxos na fração éster é DPA n-6. Em algumas modalidades, a fração éster compreende pelo menos cerca de 70% em peso do óleo.

**[0007]** A presente invenção se refere a um óleo compreendendo uma fração éster, em que pelo menos cerca de 70% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido docosa-hexaenoico (DHA) e cerca de 3% a cerca de 13% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido docosapentaenoico n-3 (DPA n-3) e ácido docosapentaenoico n-6 (DPA n-6). Em algumas modalidades, cerca de 1% a cerca de 5% em peso dos ácidos graxos na fração éster é DPA n-3. Em algumas modalidades, cerca de 2% a cerca de 8% em peso dos ácidos graxos na fração éster é DPA n-6. Em algumas modalidades, menos de cerca de 5% em peso dos ácidos graxos da fração éster é ácido eicosapentaenoico (EPA). Em algumas modalidades, cerca de 0,1% a cerca de 5% em peso dos ácidos graxos na fração éster é EPA. Em algumas modalidades, a fração éster compreende pelo menos cerca de 70% em peso do óleo.

**[0008]** A presente invenção também se refere a um óleo compreendendo uma fração éster, em que pelo menos cerca de 70% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido

docosa-hexaenoico (DHA) e a quantidade de DHA na fração éster é, pelo menos, cerca de 65% em peso do total de ácidos graxos ômega-3 na fração éster. Em uma modalidade, pelo menos 8% em peso dos ácidos graxos na fração éster é EPA. Em algumas modalidades, a quantidade de EPA na fração éster é de pelo menos cerca de 2% em peso do total de ácidos graxos ômega-3 na fração éster.

**[0009]** A presente invenção também se refere a um óleo compreendendo uma fração éster, em que pelo menos cerca de 20% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido docosa-hexaenoico (DHA) e pelo menos cerca de 20% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido eicosapentaenoico (EPA). Em algumas modalidades, cerca de 0,1% a cerca de 5% em peso dos ácidos graxos na fração éster é DPA n-3.

**[0010]** A presente invenção também se refere a um óleo compreendendo uma fração éster, em que pelo menos cerca de 30% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido docosa-hexaenoico (DHA) e pelo menos cerca de 30% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido eicosapentaenoico (EPA). Em algumas modalidades, cerca de 0,1% a cerca de 5% em peso dos ácidos graxos na fração éster é DPA n-3.

**[0011]** A presente invenção também se refere a um óleo compreendendo uma fração éster, em que pelo menos cerca de 65% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido docosa-hexaenoico (DHA) e pelo menos cerca de 15% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido eicosapentaenoico (EPA). Em algumas modalidades, cerca de 0,1% a cerca de 5% em peso dos ácidos graxos na fração éster é DPA n-3.

**[0012]** A presente invenção também se refere a um óleo

compreendendo uma fração éster, em que pelo menos cerca de 50% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido docosa-hexaenoico (DHA) e pelo menos cerca de 25% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido eicosapentaenoico (EPA). Em algumas modalidades, cerca de 0,1% a cerca de 5% em peso dos ácidos graxos na fração éster é DPA n-3.

**[0013]** A presente invenção também se refere a um processo para a separação e concentração de um óleo compreendendo ésteres de ácidos graxos poli-insaturados, o processo compreendendo submeter o óleo a pelo menos uma etapa de destilação, em que uma primeira etapa de destilação compreende a alimentação do óleo a pelo menos um aparelho e submetendo o óleo a condições para remover compostos com baixo ponto de ebulação em um destilado.

**[0014]** Em algumas modalidades, o óleo é um óleo microbiano ou marinho.

**[0015]** Em algumas modalidades, o óleo é um óleo microbiano produzido a partir de um microrganismo. Em algumas modalidades, o microrganismo é selecionado a partir do grupo compreendendo microalgas, bactérias, fungos e protistas.

**[0016]** A presente invenção se refere a um alimento, suplemento, ou composição farmacêutica compreendendo um óleo da invenção.

#### **DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO**

**[0017]** As características e vantagens da invenção podem ser mais prontamente entendidas por técnicos no assunto ao ler a seguinte descrição detalhada. Deve ser apreciado que certas características da invenção que são, para fins de

clareza, descritas aqui no contexto de modalidades separadas, também podem ser combinadas para formarem subcombinações destas.

**[0018]** As modalidades identificadas aqui como exemplares se destinam a ser ilustrativas e não limitantes.

**[0019]** Neste relatório descritivo e nas reivindicações a seguir, será feita referência a diversos termos que serão definidos como tendo os significados seguintes:

O uso dos termos "um" e "uma" e "a/o" e referências similares no contexto da descrição da invenção (especialmente no contexto das seguintes reivindicações) deve ser entendido como abrangendo tanto o singular como o plural, salvo indicação em contrário neste documento ou se for claramente desmentido pelo contexto. Os termos "compreendendo", "tendo", "incluso" e "contendo" devem ser interpretados como termos abertos (isto é, significando "incluso, mas não limitado a"), salvo indicação em contrário. Aqui, a listagem de intervalo de valores se destina unicamente a servir como um método abreviado de se referir individualmente a cada valor separado que está compreendido dentro do intervalo, salvo indicação em contrário no presente documento, e cada valor separado é incorporado na especificação como se fosse individualmente listado aqui.

**[0020]** São divulgadas aqui composições de óleo enriquecidas com ácidos graxos poli-insaturados; composições contendo as composições de óleo enriquecidas; e métodos de fabricação e uso de tais composições de óleo enriquecidas.

**[0021]** Os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) são classificados com base na posição da primeira ligação dupla a partir da extremidade metílica do ácido graxo; os ácidos graxos ômega-3 (n-3) contêm uma primeira ligação dupla no terceiro carbono contado a partir da extremidade metílica, enquanto os ácidos graxos ômega-6 (n-6) contêm uma primeira ligação dupla no sexto carbono. Por exemplo, o ácido docosa-hexaenoico ("DHA") é um ácido graxo ômega-3 poli-insaturado de cadeia longa (AGPI-CL) com um comprimento de cadeia de 22 carbonos e 6 ligações duplas, frequentemente designado como "22:6 n-3". Em uma modalidade, o AGPI é selecionado a partir de um ácido graxo ômega-3, um ácido graxo omega-6 e misturas destes. Em outra modalidade, os AGPI são selecionados a partir do ácido docosa-hexaenoico (DHA), ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosapentaenoico (DPA), ácido araquidônico (ARA), ácido gama-linolênico (GLA), ácido di-homo-gama-linolênico (DGLA), ácido estearidônico (SDA) e misturas destes. Em outra modalidade, o AGPI é selecionado dentre DHA, DPA, EPA e misturas destes. Em outra modalidade, o AGPI é DHA. Em uma modalidade adicional, o AGPI é DPA. Ainda em outra modalidade adicional, o AGPI é EPA.

**[0022]** Em algumas modalidades, o óleo compreende um ou mais AGPI. Em algumas modalidades, o óleo compreende pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de

97%, pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% de AGPI. Em outra modalidade preferida, o AGPI está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do AGPI é o % em peso do óleo. Em uma modalidade mais preferida, o % em peso do AGPI é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0023]** Em uma modalidade, o óleo compreende pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% de DHA. Em uma modalidade preferida, o DHA está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso de DHA é o % em peso do óleo. Em uma modalidade mais preferida, o % em peso do DHA é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0024]** Em algumas modalidades, o óleo compreende cerca de 3% a cerca de 13%, cerca de 4% a cerca de 12%, cerca de 5% a cerca de 11%, cerca de 6% a cerca de 10%, ou cerca de 7% a cerca de 9% de DPA n-3 e DPA n-6. Em uma modalidade preferida, o DPA n-3 e DPA n-6 estão na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do DPA n-3 e DPA n-6 é o % em peso do óleo. Em uma modalidade mais preferida, o % em peso do DPA n-3 e DPA n-6 é o % em peso dos ácidos graxos na fração éster.

**[0025]** Em algumas modalidades, o óleo compreende cerca de 0,5% a cerca de 5%, cerca de 1% a cerca de 5%, ou cerca de 3% a cerca de 4% de DPA n-3. Em uma modalidade preferida, o DPA n-3 está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do DPA n-3 é o % em peso do óleo. Em uma modalidade mais preferida, o % em peso do DPA n-3 é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0026]** Em algumas modalidades, o óleo compreende cerca de 2% a cerca de 8%, cerca de 3% a cerca de 7%, ou cerca de 4% a cerca de 6% de DPA n-6. Em uma modalidade preferida, o DPA n-6 está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do DPA n-6 é o % em peso do óleo. Em uma modalidade mais preferida, o % em peso do DPA n-6 é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0027]** Em algumas modalidades, o óleo compreende menos de cerca de 5%, menos de cerca de 4%, menos de cerca de 3%, menos de cerca de 2,5%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 1,5%, menos de cerca de 1%, ou menos de cerca de 0,5% de EPA. Em uma modalidade preferida, o EPA está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do EPA é o % em peso do óleo. Em uma modalidade mais preferida, o % em peso do EPA é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0028]** Em algumas modalidades, o óleo compreende cerca de 0,1% a cerca de 5%, cerca de 0,5% a cerca de 3%, ou

cerca de 1% a cerca de 2% de EPA. Em uma modalidade preferida, o EPA está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do EPA é o % em peso do óleo. Em uma modalidade mais preferida, o % em peso do EPA é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0029]** Em algumas modalidades, o óleo compreende menos de cerca de 5%, menos de cerca de 4%, menos de cerca de 3%, menos de cerca de 2,5%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 1,5%, menos de cerca de 1%, ou menos de cerca de 0,5% de ARA. Em uma modalidade preferida, o ARA está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do ARA é o % em peso do óleo. Em uma modalidade mais preferida, o % em peso do ARA é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0030]** Em algumas modalidades, o óleo compreende menos de cerca de 5%, menos de cerca de 4%, menos de cerca de 3%, menos de cerca de 2,5%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 1,5%, menos de cerca de 1%, ou menos de cerca de 0,5% de GLA. Em uma modalidade preferida, o GLA está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do GLA é o % em peso do óleo. Em uma modalidade mais preferida, o % em peso do GLA é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0031]** Em algumas modalidades, o óleo compreende menos de cerca de 5%, menos de cerca de 4%, menos de cerca de 3%, menos de cerca de 2,5%, menos de cerca de 2%, menos de

cerca de 2%, menos de cerca de 1,5%, menos de cerca de 1%, ou menos de cerca de 0,5% de DGLA. Em uma modalidade preferida, o DGLA está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do DGLA é o % em peso do óleo. Em uma modalidade mais preferida, o % em peso do DGLA é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0032]** Em algumas modalidades, o óleo compreende menos de cerca de 5%, menos de cerca de 4%, menos de cerca de 3%, menos de cerca de 2,5%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 1,5%, menos de cerca de 1%, ou menos de cerca de 0,5% de SDA. Em uma modalidade preferida, o SDA está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do SDA é o % em peso do óleo. Em uma modalidade mais preferida, o % em peso do SDA é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0033]** Em algumas modalidades, o compreende menos de cerca de 5%, menos de cerca de 4%, menos de cerca de 3%, menos de cerca de 2,5%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 1,5%, menos de cerca de 1%, ou menos de cerca de 0,5% de um ácido graxo poli-insaturado tendo uma cadeia com mais de 22 carbonos (AGPI de cadeia muito longa). Em algumas modalidades, o AGPI de cadeia muito longa é ácido 7,10,13,16,19,22,25 octacosaoctenoico (C28:8). Em uma modalidade preferida, o óleo compreende 0% de ácido 7,10,13,16,19,22,25 octacosaoctenoico (C28:8). Em uma modalidade preferida, o AGPI de cadeia muito longa está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o

éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do AGPI de cadeia muito longa é o % em peso do óleo. Em uma modalidade preferida, o % em peso do AGPI de cadeia muito longa é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0034]** Em uma modalidade, o óleo compreende pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% de EPA. Em uma modalidade preferida, o EPA está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do EPA é o % em peso do óleo. Em uma modalidade preferida, o % em peso do EPA é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0035]** Em algumas modalidades, o óleo compreende menos de cerca de 5%, menos de cerca de 4%, menos de cerca de 3%, menos de cerca de 2,5%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 1,5%, menos de cerca de 1%, ou menos de cerca de 0,5% de DHA. Em uma modalidade preferida, o DHA está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do DHA é o % em peso do óleo. Em uma modalidade mais preferida, o % em peso do DHA é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0036]** Em algumas modalidades, o óleo compreende menos de cerca de 5%, menos de cerca de 4%, menos de cerca de 3%, menos de cerca de 2,5%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 1,5%, menos de cerca de 1%, ou menos de cerca de 0,5% de DPA n-3 e DPA n-6. Em uma modalidade preferida, o DPA n-3 e DPA n-6 estão na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do DPA n-3 e DPA n-6 é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0037]** Em algumas modalidades, o óleo compreende menos de cerca de 5%, menos de cerca de 4%, menos de cerca de 3%, menos de cerca de 2,5%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 1,5%, menos de cerca de 1%, ou menos de cerca de 0,5% de DPA n-3. Em uma modalidade preferida, o DPA n-3 está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em uma modalidade preferida, o % em peso do DPA n-3 é o % em peso do óleo. Em uma modalidade mais preferida, o % em peso do DPA n-3 é o % em peso dos ácidos graxos em uma fração éster.

**[0038]** Em algumas modalidades, o óleo compreende menos de cerca de 5%, menos de cerca de 4%, menos de cerca de 3%, menos de cerca de 2,5%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 1,5%, menos de cerca de 1%, ou menos de cerca de 0,5% de DPA n-6. Em uma modalidade preferida, o DPA n-6 está na forma de éster. Em uma modalidade mais preferida, o éster é um éster etílico. Em

uma modalidade preferida, o % em peso do DPA n-6 é o % em peso do óleo. Em uma modalidade preferida, o % em peso do DPA n-6 é o % em peso dos ácidos graxos na fração éster.

**[0039]** Em algumas modalidades, o óleo compreende uma fração éster em que pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% em peso dos ácidos graxos na fração éster é ácido docosa-hexaenoico (DHA) e a quantidade de DHA na fração éster é de pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90% em peso do total de ácidos graxos ômega-3 na fração éster. Em algumas modalidades, pelo menos cerca de 8%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40% em peso dos ácidos graxos na fração éster é EPA. Em algumas modalidades, a quantidade de EPA na fração éster é de pelo menos cerca de 2%, pelo menos cerca de 3%, pelo menos cerca de 4%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25% em peso do total de ácidos graxos ômega-3 na fração éster.

**[0040]** Em algumas modalidades, o óleo compreende uma

fração éster de pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% em peso do óleo. Em algumas modalidades, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% em peso dos ácidos graxos na fração éster é DHA. Em algumas modalidades, de cerca de 0,5% a cerca de 5%, de cerca de 1% a cerca de 5%, de cerca de 3% a cerca de 4% em peso dos ácidos graxos na fração éster é DPA n-3.

**[0041]** Em algumas modalidades, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% em peso dos ácidos graxos na fração éster é DHA e DPA n-3.

**[0042]** Em algumas modalidades, o teor de DHA dos ácidos graxos na fração éster é de pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos

cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% em peso da quantidade do teor de DHA e DPA n-3 dos ácidos graxos na fração éster.

**[0043]** Em algumas modalidades, o teor de DPA n-3 dos ácidos graxos na fração éster é de cerca de 0,5% a cerca de 5%, cerca de 1% a cerca de 5%, ou cerca de 3% a cerca de 4% do teor de DHA e DPA n-3 dos ácidos graxos na fração de éster.

**[0044]** Em algumas modalidades, o teor de DHA, DPA n-3 e DPA n-6 dos ácidos graxos da fração éster é de pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% da quantidade total de ácidos graxos na fração éster.

**[0045]** Em algumas modalidades, o teor de DHA dos ácidos graxos na fração éster é de pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% do teor de DHA, DPA n-3 e DPA n-6 dos ácidos graxos na fração éster.

**[0046]** Em uma modalidade preferida, a fração éster é um éster etílico.

**[0047]** Em algumas modalidades, o teor de DHA e EPA dos ácidos graxos na fração éster é de pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% da quantidade total de ácidos graxos na fração éster. Em algumas modalidades, o teor de DHA dos ácidos graxos na fração éster é uma quantidade de pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% em peso da quantidade total de ácidos graxos na fração éster. Em algumas modalidades, o teor de EPA dos ácidos graxos na fração éster é de menos de cerca de 5%, menos de cerca de 4%, menos de cerca de 3%, menos de cerca de 2,5%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 1,5%, menos de cerca de 1%, ou menos de cerca de 0,5% da quantidade total de ácidos graxos na fração éster. Em uma modalidade preferida, a fração éster é um éster etílico.

**[0048]** Em algumas modalidades, o teor de DHA e EPA dos ácidos graxos na fração éster é de pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo

menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% da quantidade total de ácidos graxos na fração éster. Em algumas modalidades, o teor de EPA dos ácidos graxos na fração éster é uma quantidade de pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92%, pelo menos cerca de 93%, pelo menos cerca de 94%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, ou pelo menos cerca de 99% em peso da quantidade total de ácidos graxos. Em algumas modalidades, o teor de DHA dos ácidos graxos na fração éster é de menos de cerca de 5%, menos de cerca de 4%, menos de cerca de 3%, menos de cerca de 2,5%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 2%, menos de cerca de 1,5%, menos de cerca de 1%, ou menos de cerca de 0,5% da quantidade total de ácidos graxos na fração éster. Em uma modalidade preferida, a fração éster é um éster etílico.

**[0049]** Em algumas modalidades, o valor total de isômeros do óleo é menos de 5%, menos de 4,5%, menos de 4%, menos de 3,5%, menos de 3%, menos de 2,5%, menos de 2%, menos de 1,5%, menos de 1%, menos de 0,5%, menos de 0,1%, ou 0%.

**[0050]** Em algumas modalidades, o valor do isômero EPA do óleo é menos de 5%, menos de 4,5%, menos de 4%, menos de 3,5%, menos de 3%, menos de 2,5%, menos de 2%, menos de 1,5%, menos de 1%, menos de 0,5%, menos de 0,1%, ou 0%.

**[0051]** Em algumas modalidades, o valor do isômero DHA do óleo é menos de 5%, menos de 4,5%, menos de 4%, menos de 3,5%, menos de 3%, menos de 2,5%, menos de 2%, menos de 1,5%, menos de 1%, menos de 0,5%, menos de 0,1%, ou 0%.

**[0052]** Em algumas modalidades, a quantidade de DHA no óleo por grama de óleo é de cerca de 100 mg a cerca de 300 mg, cerca de 100 mg a cerca de 600 mg, cerca de 100 mg a cerca de 800 mg, cerca de 100 mg a cerca de 900 mg, cerca de 100 mg a cerca de 950 mg, cerca de 800 a cerca de 950 mg, ou 0 a cerca de 100 mg.

**[0053]** Em algumas modalidades, a quantidade de EPA no óleo por grama de óleo é de cerca de 100 mg a cerca de 300 mg, cerca de 100 mg a cerca de 600 mg, cerca de 100 mg a cerca de 800 mg, cerca de 100 mg a cerca de 900 mg, cerca de 100 mg a cerca de 950 mg, cerca de 800 a cerca de 950 mg, ou 0 a cerca de 100 mg.

**[0054]** Em algumas modalidades, o óleo é um óleo microbiano ou marinho.

**[0055]** O óleo produzido por um microrganismo ou obtido a partir de uma célula microbiana é referido como "óleo microbiano". O óleo produzido por algas e/ou fungos é referido como um óleo de algas e/ou um óleo fúngico, respectivamente.

**[0056]** Conforme usado neste documento, um "microrganismo" se refere aos organismos como algas, bactérias, fungos, protistas, leveduras e combinações destes, por exemplo, organismos unicelulares. Um microrganismo inclui, sem limitação, algas douradas (por exemplo, microrganismos do reino *Stramenopiles*); algas verdes; diatomáceas; dinoflagelados (por exemplo, microrganismos da ordem *Dinophyceae*, incluindo membros do gênero *Cryptocodinium* como, por exemplo, a *Cryptocodinium cohnii* ou *C. cohnii*); microalgas da ordem dos

*Thraustochytriales*; leveduras (Ascomicetes ou Basidiomicetes); e fungos do gênero *Mucor*, *Mortierella*, incluindo, sem limitação, *Mortierella alpina* e *Mortierella sect. schmuckeri* e *Pythium*, incluindo, sem limitação, *Pythium insidiosum*.

**[0057]** Em uma modalidade, os microrganismos são do gênero *Mortierella*, gênero *Cryptothecodinium*, gênero *Thraustochytrium* e misturas destes. Em outra modalidade, os microrganismos são de *Cryptothecodinium cohnii*. Em outra modalidade, os microrganismos são de *Mortierella alpina*. Em ainda outra modalidade, os microrganismos são de *Schizochytrium sp.* Em outra modalidade adicional, os microrganismos são selecionados dentre *Cryptothecodinium cohnii*, *Mortierella alpina*, *Schizochytrium sp.* e misturas destes.

**[0058]** Ainda em outra modalidade adicional, os microrganismos incluem, sem limitação, microrganismos pertencentes ao gênero *Mortierella*, gênero *Conidiobolus*, gênero *Pythium*, gênero *Phytophthora*, gênero *Penicillium*, gênero *Cladosporium*, gênero *Mucor*, gênero *Fusarium*, gênero *Aspergillus*, gênero *Rhodotorula*, gênero *Entomophthora*, gênero *Echinosporangium* e gênero *Saprolegnia*.

**[0059]** Ainda em outra modalidade adicional, os microrganismos são microalgas da ordem *Thraustochytriales*, o que inclui, sem limitação, os gêneros *Thraustochytrium* (espécies incluem *arudimentale*, *aureum*, *benthicola*, *globosum*, *kinnei*, *motivum*, *multirudimentale*, *pachydermum*, *proliferum*, *roseum*, *striatum*); o gênero *Schizochytrium* (espécies incluem *aggregatum*, *limnaceum*, *mangrovei*,

*minutum, octosporum*); o gênero *Ulkenia* (espécies incluem *amoeboides, kerguelensis, minuta, profunda, radiate, sailens, sarkariana, schizochytrops, visurgensis, yorkensis*); o gênero *Aurantiacochytrium*; o gênero *Oblongichytrium*; o gênero *Sicyoidochytrium*; o gênero *Parientichytrium*; o gênero *Botryochytrium*; e combinações destes. As espécies descritas dentro de *Ulkenia* serão consideradas membros do gênero *Schizochytrium*. Em outra modalidade, os microrganismos são da ordem dos *Thraustochytriales*. Ainda em outra modalidade, os microrganismos são do *Thraustochytrium*. Em ainda outra modalidade, os microrganismos são do gênero *Schizochytrium sp.*

**[0060]** Em algumas modalidades, o óleo pode compreender um óleo marinho. Exemplos de óleos de peixe adequados incluem, sem limitação, óleo de peixe do Atlântico, óleo de peixe do Pacífico ou óleo de peixe do Mediterrâneo, ou qualquer mistura ou combinação destes. Em exemplos mais específicos, um óleo de peixe adequado pode ser, sem limitação, óleo de pollock, óleo de bonito, óleo de sardinha europeia, óleo de tilápia, óleo de atum, óleo de badejo, óleo de linguado, óleo de peixe-espada, óleo de barracuda, óleo de bacalhau, óleo de savelha, óleo de sardinha, óleo de anchova, óleo de capelin, óleo de arenque, óleo de cavala, óleo de salmonídeo, óleo de atum e óleo de tubarão, incluindo qualquer mistura ou combinação destes. Outros óleos marinhos adequados para uso aqui incluem, sem limitação, óleo de lula, óleo de peixe choco, óleo de polvo, óleo de krill, óleo de foca, óleo de baleia

e semelhantes, incluindo qualquer mistura ou combinação destes.

**[0061]** Em algumas modalidades, um ácido graxo, conforme descrito aqui, pode ser um éster ou éster de ácido graxo. Em algumas modalidades, um éster de ácido graxo inclui um éster de um ácido graxo ômega-3, ácido graxo ômega-6 e combinações destes. Em algumas modalidades, o éster de ácido graxo é um éster de DHA, um éster de EPA ou uma combinação destes. Em algumas modalidades, um óleo ou fração deste, conforme descrito aqui, é esterificado para produzir um óleo ou uma fração deste compreendendo ésteres de ácidos graxos. O termo "éster" se refere à substituição do hidrogênio no grupo ácido carboxílico da molécula de ácido graxo por outro substituinte. Exemplos de ésteres incluem éster metílico, etílico, propílico, butílico, pentílico, t-butílico, benzílico, nitrobenzílico, metoxibenzílico, benzidrílico e tricloroetílico. Em algumas modalidades, o éster é um grupo éster protetor do ácido carboxílico, ésteres com aralquila (por exemplo, benzílico, fenetílico), ésteres com alquenila inferior (por exemplo, alílico, 2-butenílico), ésteres com alcoxi inferior-alquila inferior (por exemplo, metoximetílico, 2-metoxietílico, 2-etoxietílico), ésteres com alcanoiloxi inferior-alquila inferior (por exemplo, acetoximetílico, pivaloiloxyimetílico, 1-pivaloiloxyetílico), ésteres com alcoxicarbonila inferior-alquila inferior (por exemplo, metoxicarbonilmetílico, isopropoxicarbonilmetílico), ésteres com carboxi-alquila inferior (por exemplo, carboximetílico), ésteres com alcoxicarboniloxi inferior-

alquila inferior (por exemplo, 1- etoxicarboniloxi)etílico, 1-(ciclo-hexiloxicarboniloxi)etílico, ésteres com carbamoiloxi-alquila inferior (por exemplo, carbamoiloximetílico) e semelhantes. Em algumas modalidades, o substituinte adicionado é um grupo hidrocarboneto linear ou cíclico, por exemplo, uma C1-C6 alquila, C1-C6 cicloalquila, C1-C6 alquenila ou C1-C6 éster arílico. Em algumas modalidades, o éster é um éster alquílico, por exemplo, um éster metílico, éster etílico ou éster propílico. Em algumas modalidades, o substituinte éster é adicionado à molécula de ácido graxo livre quando o ácido graxo está em um estado purificado ou semipurificado.

**[0062]** Ésteres de ácidos graxos, em especial os ésteres de ácidos graxos poli-insaturados, podem ser fabricados em formas que são conhecidas por técnicos no assunto.

**[0063]** Por exemplo, tri-acil glicerídeos, di-acil glicerídeos e/ou mono-acil-glicerídeos que contêm ácidos graxos, particularmente ácidos graxos poli-insaturados, podem reagir com um álcool na presença de um ácido ou de uma base para produzir ésteres. A divulgação do Pedido de Patente US N° 12/163.555, que foi publicada como publicação de pedido de Patente US pré-concedida N° 2009/0023808, é incorporada aqui por referência na sua totalidade.

**[0064]** Os álcoois podem incluir, por exemplo, álcoois alquílicos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, por exemplo, etanol, metanol, n-propanol, iso-propanol, n-butanol, iso-butanol, sec-butanol, terc-butanol, n-pentanol e n-hexanol. O álcool pode ser usado como solvente e correagente da reação, sozinho ou com um co-solvente. A quantidade de álcool pode variar de 25% a

50% em peso da mistura de reação, incluindo todos os valores e intervalos entre eles, como se estes fossem explicitamente listados. Por exemplo, a quantidade de álcool na mistura de reação pode ser de 30%, 35%, 40% ou 45% em peso da mistura de reação.

**[0065]** A base pode ser, por exemplo, um alquilóxido de metal. Os alquilóxidos de metais incluem etóxido de sódio, metóxido de sódio, n-propóxido de sódio, iso-propóxido de sódio, n-butóxido de sódio, iso-butóxido de sódio, sec-butóxido de sódio, terc-butóxido de sódio, n-pentóxido de sódio, n-hexóxido de sódio, etóxido de lítio, metóxido de lítio, n-propóxido de lítio, iso-propóxido de lítio, n-butóxido de lítio, iso-butóxido de lítio, sec-butóxido de lítio, terc-butóxido de lítio, n-pentóxido de lítio, n-hexóxido de lítio, etóxido de potássio, metóxido de potássio, n-propóxido de potássio, iso-propóxido de potássio, n-butóxido de potássio, iso-butóxido de potássio, sec-butóxido de potássio, terc-butóxido de potássio, n-pentóxido de potássio e/ou n-hexóxido de potássio.

**[0066]** Em algumas situações, a base pode ser produzida pela adição de sódio metálico, potássio metálico ou lítio metálico a uma solução alcoólica.

**[0067]** Em algumas situações, a base pode ser produzida pela adição de um hidreto metálico, tal como hidreto de lítio, hidreto de sódio ou hidreto de potássio, a uma solução alcoólica.

**[0068]** A proporção de base para óleo, em uma base peso:peso pode estar na faixa de, por exemplo, 1:1 a 1000:1, incluindo todos os valores e intervalos entre eles,

como se estes fossem explicitamente listados. Por exemplo, a proporção de base para óleo em uma base peso:peso pode ser de 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 20:1, 30:1, 40:1, 50:1, 60:1, 70:1, 80:1, 90:1, 100:1, 200:1, 300:1, 400:1, 500:1, 600:1, 700:1, 800:1, ou 900:1.

**[0069]** A reação de esterificação pode ser realizada a uma temperatura variando de 10 °C a 100 °C, incluindo todos os valores e intervalos entre eles, como se estes fossem explicitamente listados. Por exemplo, a reação de esterificação pode ser realizada a 20 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C, ou 90 °C.

**[0070]** A reação de esterificação pode ser realizada em atmosfera aberta, ou em uma atmosfera inerte, tal como nitrogênio ou argônio.

**[0071]** O processamento e o isolamento dos ésteres de ácidos graxos podem ser feitos de maneiras conhecidas por técnicos no assunto, por exemplo, por extração com um solvente orgânico e/ou água. O solvente orgânico pode ser, por exemplo, pentano, hexano, éter dietílico, acetato de etila ou uma combinação destes. Opcionalmente a água pode conter outras substâncias tais como bicarbonato de sódio, carbonato de sódio, cloreto de amônio e/ou ácido mineral diluído.

**[0072]** Em algumas modalidades, o óleo é transesterificado para converter pelo menos parte da fração éster no óleo a uma fração triglicerídeo. A transesterificação, em particular a transesterificação dos ésteres de ácidos graxos poli-insaturados, pode ser realizada de maneiras conhecidas por um técnico no assunto.

**[0073]** Na presente invenção, qualquer técnica de concentração, reação e/ou purificação pode ser combinada com qualquer outra técnica de concentração, reação e/ou purificação para produzir óleos microbianos enriquecidos em: ácidos graxos poli-insaturados, seus ésteres, seus sais, aldeídos e/ou de álcoois destes. As técnicas de enriquecimento podem ser usadas em qualquer ordem e combinação.

**[0074]** Em algumas modalidades, a presente invenção é um alimento, suplemento, ou composição farmacêutica compreendendo um óleo da invenção. A composição farmacêutica pode conter um veículo farmaceuticamente aceitável.

**[0075]** Em algumas modalidades, a composição é um produto alimentar. Um produto alimentar é qualquer alimento para animais não humanos ou para consumo humano e inclui composições sólidas e líquidas. Um produto alimentar pode ser um aditivo para alimentos animais e humanos. Alimentos incluem, sem limitação, alimentos comuns; produtos líquidos, incluindo leites, bebidas, bebidas terapêuticas e bebidas nutricionais; alimentos funcionais; suplementos; produtos nutracêuticos; fórmulas infantis, incluindo fórmulas para bebês prematuros; alimentos para gestantes ou lactantes; alimentos para adultos; alimentos geriátricos; e alimentos para animais.

**[0076]** Em algumas modalidades, a composição é uma ração animal. Um “animal” inclui organismos não humanos pertencentes ao reino Animalia, e inclui, sem limitação, animais aquáticos e animais terrestres. O termo “ração

animal" ou "alimento para animal" se refere a qualquer alimento destinado a animais não humanos, quer sejam peixes; peixes comerciais; peixes ornamentais; larvas de peixe; bivalves; moluscos; crustáceos; mariscos; camarão; larvas de camarão; artemia; rotíferos; camarão de salmoura; animais filtradores; anfíbios; répteis; mamíferos; animais domésticos; animais de fazenda; animais de zoológico; animais para esportes; animais reprodutores; animais de corrida; animais de espetáculos; raças crioulas; espécies raras ou ameaçadas de extinção; animais de companhia; animais de estimação como cães, gatos, porquinhos da Índia, coelhos, ratos, camundongos ou cavalos; primatas, como macacos (por exemplo, cebus, rhesus, verde africano, patas, cynomolgus e cercopithecus), símios, orangotangos, babuínos, chimpanzés e gibões; canídeos, como cães e lobos; felídeos, como gatos, leões e tigres; equídeos, como cavalos, burros e zebras; animais para alimentação, como vacas, gado bovino, suíños e ovinos; ungulados, como veados e girafas; ou roedores, como camundongos, ratos, hamsters e porquinhos da Índia; e assim por diante. Uma ração animal inclui, sem limitação, uma ração para aquicultura, uma ração para animais domésticos incluindo alimentos para animais de estimação, uma ração para animais de zoológico, uma ração para animais de trabalho, uma ração para gado e suas combinações.

**[0077]** Em algumas modalidades, a composição é uma ração ou suplemento para ração para qualquer animal cuja carne ou produtos sejam consumidos por seres humanos, tal como qualquer animal do qual a carne, ovos ou leite é derivado

para consumo humano. Quando alimentados a tais animais, nutrientes como AGPI-CL podem ser incorporados na carne, leite, ovos ou outros produtos de tais animais, para aumentar o seu teor desses nutrientes.

**[0078]** A presente invenção também é direcionada a um processo para separação e concentração de um óleo compreendendo ésteres de ácidos graxos poli-insaturados para produzir um óleo.

**[0079]** Em algumas modalidades, o processo compreende submeter o óleo a pelo menos uma etapa de destilação, em que uma primeira etapa de destilação compreende alimentar o óleo a pelo menos um aparelho e submeter o óleo a condições para remover compostos de baixo ponto de ebulação em um destilado. Em uma modalidade preferida, pelo menos uma porção de ácido eicosapentaenoico (EPA) é removida no destilado. Em algumas modalidades, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20% de EPA está no destilado da primeira etapa de destilação.

**[0080]** Em algumas modalidades, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75% de um ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa (AGPI-CL) é separado de um segundo AGPI-CL na segunda etapa de destilação. Em uma modalidade preferida, o AGPI-CL é DPA. Em uma modalidade preferida, o segundo AGPI-CL é DHA. Em uma modalidade mais preferida, um AGPI-CL é EPA e o segundo AGPI-CL é DHA.

**[0081]** Em algumas modalidades, pelo menos cerca de 50%,

pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75% de um ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa (AGPI-CL) é separado de um segundo AGPI-CL na terceira etapa de destilação. Em uma modalidade preferida, o AGPI-CL é DPA. Em uma modalidade preferida, o segundo AGPI-CL é DHA. Em uma modalidade mais preferida, um AGPI-CL é EPA e o segundo AGPI-CL é DHA.

**[0082]** Em algumas modalidades, o processo compreende destilação de caminho curto, destilação fracionada, evaporador de película descendente, evaporador por película deslizante ou combinações destes. Em uma modalidade preferida, o processo compreende destilação fracionada.

**[0083]** Em algumas modalidades, o aparelho é uma coluna de fracionamento.

**[0084]** Em algumas modalidades, a coluna compreende uma seção de retificação. Em algumas modalidades, a coluna tem pelo menos cerca de 1 metro, pelo menos cerca de 2 metros, ou pelo menos cerca de 3 metros de recheio estruturado, tendo pelo menos cerca de 3-4, pelo menos cerca de 4-5, pelo menos cerca de 5-6, pelo menos cerca de 6-7, pelo menos cerca de 7-8, pelo menos cerca de 8-9, pelo menos cerca de 9-10, pelo menos cerca de 10-11, pelo menos cerca de 11-12, ou pelo menos cerca de 12-13 estágios teóricos.

**[0085]** Em algumas modalidades, a coluna é ligada a um vácuo. Em algumas modalidades, a pressão no topo da coluna é inferior a cerca de 400 Pa (4 mbar), inferior a cerca de 350 Pa (3,5 mbar, inferior a cerca de 300 (Pa 3 mbar), inferior a cerca de 250 Pa (2,5 mbar), inferior a cerca de

200 Pa (2 mbar) ou inferior a cerca de 150 Pa (1,5 mbar). Em algumas modalidades, a queda de pressão da coluna é inferior a cerca de 1000 Pa (10 mbar), inferior a cerca de 900 Pa (9 mbar), inferior a cerca de 800 Pa (8 mbar), inferior a cerca de 700 Pa (7 mbar), inferior a cerca de 600 Pa (6 mbar), inferior a cerca de 500 Pa (5 mbar), inferior a cerca de 400 Pa (4 mbar), ou inferior a cerca de 300 Pa (3 mbar).

**[0086]** Em algumas modalidades, o aparelho é uma coluna de fracionamento ou de destilação de caminho curto. Em uma modalidade preferida, a coluna de fracionamento é ligada a um evaporador por película deslizante. Em algumas modalidades compreendendo mais de uma etapa de destilação, o aparelho de cada etapa de destilação pode ser o mesmo aparelho ou pode ser em série.

**[0087]** Em algumas modalidades, a alimentação do óleo a pelo menos um aparelho compreende uma alimentação no meio da coluna. Em algumas modalidades, a alimentação do óleo a pelo menos um aparelho compreende uma alimentação a um evaporador.

**[0088]** Em uma modalidade preferida, o óleo submetido a uma primeira etapa de destilação é separado na extremidade do resíduo e na extremidade do destilado em uma quantidade de pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, ou pelo menos cerca de 80% em peso. Em uma modalidade preferida, o óleo coletado na extremidade do resíduo compreende de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos

cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, ou pelo menos cerca de 90% em peso de EPA e DHA. Em uma modalidade preferida, o óleo coletado na extremidade do destilado compreende de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, ou pelo menos cerca de 90% em peso de ácidos graxos poli-insaturados tendo menos de 20 carbonos.

**[0089]** Em uma modalidade preferida, o óleo submetido à segunda etapa de destilação é separado na extremidade do resíduo e na extremidade do destilado em uma quantidade de pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, ou pelo menos cerca de 80% em peso. Em uma modalidade preferida, o óleo coletado na extremidade do resíduo compreende de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, ou pelo menos cerca de 90% em peso de EPA. Em uma modalidade preferida, o óleo coletado na extremidade do destilado compreende de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, ou pelo menos cerca de 90% em peso de DHA.

**[0090]** Em uma modalidade preferida, o óleo submetido à

terceira etapa de destilação é separado na extremidade do resíduo e na extremidade do destilado em uma quantidade de pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, ou pelo menos cerca de 80% em peso. Em uma modalidade preferida, o óleo coletado na extremidade do resíduo compreende de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, ou pelo menos cerca de 90% em peso de EPA. Em uma modalidade preferida, o óleo coletado na extremidade do destilado compreende de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, ou pelo menos cerca de 90% em peso de DHA.

**[0091]** Em algumas modalidades, a pelo menos uma etapa de destilação compreende aquecimento, em que a temperatura é inferior a cerca de 275°C, inferior a cerca de 250°C, inferior a cerca de 225°C, inferior a cerca de 200°C, inferior a cerca de 190°C, inferior a cerca de 180°C, ou inferior a cerca de 170°C, de cerca de 100°C a cerca de 250°C, de cerca de 125°C a 225°C, de cerca de 150°C a 200°C, ou de cerca de 160°C a 190°C.

**[0092]** Em algumas modalidades, a proporção de refluxo é inferior a cerca de 5, inferior a cerca de 4,5, inferior a cerca de 4, inferior a cerca de 3, inferior a cerca de 3,5, inferior a cerca de 2,5, inferior a cerca de 2, inferior a

cerca de 1,5, inferior a cerca de 1, ou inferior a cerca de 0,5.

**[0093]** A presente invenção também é direcionada para um óleo produzido por qualquer dos processos divulgados aqui.

#### **EXEMPLOS**

**[0094]** Os seguintes exemplos são estabelecidos abaixo para ilustrar os métodos e os resultados de acordo com a matéria divulgada. Estes exemplos não se destinam a ser inclusivos de todos os aspectos da matéria divulgada aqui, mas sim para ilustrar os métodos e os resultados representativos. Estes exemplos não se destinam a excluir equivalentes e variações que são aparentes para um técnico no assunto.

**[0095]** Métodos analíticos: A determinação da composição de ácidos graxos foi realizada usando cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama (GC/FID) de acordo com a Farmacopeia Europeia, método 2.04.29.

Exemplo 1

**[0096]** Um óleo bruto foi produzido através da fermentação de *Schizochytrium sp.* A Tabela 1 mostra o perfil de ácidos graxos do óleo de partida.

Tabela 1: Perfil de ácidos graxos - óleo de partida

<b>Ácidos Graxos</b>	<b>Percentual da área (%)</b>
C14:0	1,3
C16:0	18,3
C18:0	1,1
C18:1 n-9	2,1
C20:4 n-6	1,3
C20:5 n-3 (EPA)	9,5
C22:5 n-6	4,0
C22:5 n-3	1,2

C22:6 n-3 (DHA)	58,1
-----------------	------

**[0097] Transesterificação:** Para converter o óleo de partida de um triglicerídeo para um éster etílico, um balão de um litro de fundo redondo foi carregado com 400 g do óleo bruto seco e foi adicionada uma solução de etóxido de sódio (3,2 g) dissolvida em etanol (120 g). A mistura foi aquecida a 75°C com agitação em uma atmosfera de N<sub>2</sub> e, em seguida, mantida a esta temperatura durante 1 hora. A mistura de reação foi deixada resfriar até 30°C, transferida para um funil de separação e a camada de glicerol do fundo foi drenada. A camada de óleo do topo foi então transferida para um balão de fundo redondo limpo de foi adicionado 1 l de uma solução de etóxido de sódio (0,32 g) em etanol (12,0 g). A mistura foi novamente aquecida a 75°C com agitação em atmosfera de N<sub>2</sub> e depois mantida a esta temperatura durante 1 hora. O etanol foi removido usando um evaporador rotativo, o resíduo foi lavado com uma solução de ácido cítrico (1% p/p) até o pH das porções aquosas de lavagem deixar de ser básico, lavado com água e seco a vácuo.

**[0098] Métodos analíticos:** A determinação de oligômeros e da classe lipídica foi realizada usando cromatografia de exclusão de tamanho com detecção do índice de refração (SEC/RI). Foram usadas colunas Tosahaas TSK-GEL à base de polímero para a cromatografia de permeação em gel. O aparelho foi montado com duas colunas TSK-GEL + uma coluna de guarda e equilibrado com tetra-hidrofurano (THF) a uma vazão de 0,600 ml/min. As amostras de óleo foram

dissolvidas em THF a uma concentração de 15 mg/ml e injetadas no cromatógrafo em 10,0 µl de volume de injeção. A Tabela 2 mostra o perfil da classe lipídica do óleo de partida após a transesterificação.

Tabela 2: Classe lipídica - óleo de partida

<b>Classe lipídica</b>	<b>%</b>
Éster etílico	96
Monoglicerídeo	2,6
Diglycerídeo	1,2
Triglycerídeo	0,1

**[0099]** Purificação e concentração, Ensaio 1: O óleo foi fracionado por meio de três passagens através de um aparelho de destilação de caminho curto, usando uma faixa de temperatura de 120°C a 180°C e vácuo de aproximadamente 0,0027 kPa (20 mtorr). Na primeira passagem, o óleo de partida foi passado através do aparelho de destilação de caminho curto. O destilado continha 110 mg/g de EPA e 322 mg/g de DHA (Amostra 1D) e o resíduo continha 70 mg/g de EPA e 759 mg/g de DHA (Amostra 1R). Na segunda passagem, o resíduo da primeira passagem foi alimentado através do aparelho de destilação de caminho curto, resultando em 72 mg/g de EPA e 789 mg/g de DHA no destilado (Amostra 2D). O resíduo não pode ser amostrado devido à viscosidade da amostra (Amostra 2R). Na terceira passagem, o destilado da segunda passagem foi alimentado através do aparelho de destilação de caminho curto, resultando em 126 mg/g de EPA e 715 mg/g de DHA no destilado (Amostra 3D) e 43 mg/g de EPA e 811 mg/g de DHA no resíduo (Amostra 3R). Os resultados são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3: Resultados da destilação de caminho curto, Ensaio

1

<b>Amostra</b>	<b>EPA (mg/g)</b>	<b>DHA (mg/g)</b>	<b>Ômega-3 total (mg/g)</b>
Óleo de Partida	87	548	646
Primeira passagem - destilado (Amostra 1D)	110	322	451
Primeira passagem - resíduo (Amostra 1R)	70	759	853
Segunda passagem - destilado (Amostra 2D)	72	789	887
Segunda passagem - resíduo (Amostra 2R)	-----	-----	-----
Terceira passagem - destilado (Amostra 3D)	126	715	868
Terceira passagem - resíduo (Amostra 3R)	43	811	877

**[0100]** Purificação e concentração, Ensaio 2: O óleo foi fracionado por meio de quatro passagens através de um aparelho de destilação de caminho curto, usando uma faixa de temperatura de 120°C a 180°C e vácuo de aproximadamente 0,0027 kPa (20 mtorr). Na primeira passagem, o óleo de partida foi passado através do aparelho de destilação de caminho curto. O destilado continha 69 mg/g de EPA e 154 mg/g de DHA (Amostra 1D) e o resíduo continha 94 mg/g de EPA e 641 mg/g de DHA (Amostra 1R). Na segunda passagem, o destilado da primeira passagem foi alimentado através do aparelho de destilação de caminho curto, resultando em 131 mg/g de EPA e 373 mg/g de DHA no destilado (Amostra 2D) e 84 mg/g de EPA e 717 mg/g de DHA no resíduo (Amostra 2R). Na terceira passagem, o resíduo da segunda passagem foi alimentado através do aparelho de destilação de caminho curto, resultando em 86 mg/g de EPA e 742 mg/g de DHA no

destilado (Amostra 3D). O resíduo não pode ser amostrado devido à viscosidade da amostra (Amostra 3R). Na quarta passagem, o destilado da terceira passagem foi alimentado através do aparelho de destilação de caminho curto, resultando em 117 mg/g de EPA e 722 mg/g de DHA no destilado (Amostra 4D) e 26 mg/g de EPA e 785 mg/g de DHA no resíduo (Amostra 4R). Os resultados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4: Resultados da destilação de caminho curto, Ensaio

2

<b>Amostra</b>	<b>EPA (mg/g)</b>	<b>DHA (mg/g)</b>	<b>Ômega-3 total (mg/g)</b>
Óleo de Partida	87	548	646
Primeira passagem - destilado (Amostra 1D)	69	154	234
Primeira passagem - resíduo (Amostra 1R)	94	641	758
Segunda passagem - destilado (Amostra 2D)	131	373	527
Segunda passagem - resíduo (Amostra 2R)	84	717	825
Terceira passagem - destilado (Amostra 3D)	86	742	853
Terceira passagem - resíduo (Amostra 3R)	-----	-----	-----
Quarta passagem - destilado (Amostra 4D)	117	722	867
Quarta passagem - resíduo (Amostra 4R)	26	785	832

**[0101]** Purificação e concentração, Ensaio 3: Para este exemplo foi usado um óleo de partida diferente dos usados nos Ensaios 1 e 2. O óleo foi produzido através da

fermentação de *Schizochytrium sp.* e foi submetido ao mesmo processo de transesterificação como acima. O óleo foi fracionado por meio de três passagens através de um aparelho de destilação de caminho curto, usando uma faixa de temperatura de 120°C a 180°C e vácuo de aproximadamente 0,0027 kPa (20 mtorr). Na primeira passagem, o óleo de partida foi passado através de um aparelho de destilação de caminho curto. O destilado continha 112 mg/g de EPA e 332 mg/g de DHA (Amostra 1D) e o resíduo continha 60 mg/g de EPA e 733 mg/g de DHA (Amostra 1R). Na segunda passagem, o resíduo da primeira passagem foi alimentado através do aparelho de destilação de caminho curto, resultando em 76 mg/g de EPA e 766 mg/g de DHA no destilado (Amostra 2D). O resíduo não pode ser amostrado devido à viscosidade da amostra (Amostra 2R). Na terceira passagem, o destilado da segunda passagem foi alimentado através do aparelho de destilação de caminho curto, resultando em 96 mg/g de EPA e 786 mg/g de DHA no destilado (Amostra 3D) e 22 mg/g de EPA e 805 mg/g de DHA no resíduo (Amostra 3R). Os resultados são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5: Resultados da destilação de caminho curto, Ensaio

3

<b>Amostra</b>	<b>EPA (mg/g)</b>	<b>DHA (mg/g)</b>	<b>Ômega-3 total (mg/g)</b>
Óleo de Partida	86	525	630
Primeira passagem destilado (Amostra 1D)	112	332	462
Primeira passagem resíduo (Amostra 1R)	60	733	815
Segunda passagem destilado (Amostra 2D)	62	766	851

<b>Amostra</b>	<b>EPA (mg/g)</b>	<b>DHA (mg/g)</b>	<b>Ômega-3 total (mg/g)</b>
Segunda passagem - resíduo (Amostra 2R)	-----	-----	-----
Terceira passagem - destilado (Amostra 3D)	96	786	907
Terceira passagem - resíduo (Amostra 3R)	22	805	848

Exemplo 2

**[0102]** Um óleo bruto foi produzido através da fermentação de *Schizochytrium sp.*

**[0103]** Transesterificação: Um balão de um litro de fundo redondo foi carregado com 400 g do óleo bruto seco, filtrado e foi adicionada uma solução de etóxido de sódio (3,2 g) dissolvida em etanol (120 g). A mistura foi aquecida a 75°C com agitação em uma atmosfera de N<sub>2</sub> e, em seguida, mantida a esta temperatura durante 1 hora. A mistura de reação foi deixada resfriar até 30 °C, transferida para um funil de separação e a camada de glicerol do fundo foi drenada. A camada de óleo do topo foi então transferida para um balão de fundo redondo limpo de foi adicionado 1 l de uma solução de hidróxido de sódio (0,32 g) em etanol (12,0 g). A mistura foi novamente aquecida a 75°C com agitação em atmosfera de N<sub>2</sub> e depois mantida a esta temperatura durante 1 hora. O etanol foi removido usando um evaporador rotativo, lavado com uma solução de ácido cítrico (1% p/p) até o pH das porções aquosas de lavagem deixar de ser básico, lavado com água e seco a vácuo.

**[0104]** Purificação e Concentração: O óleo foi fracionado a uma temperatura não superior a 210°C, com uma queda de

pressão da coluna de 230 Pa (2,3 mbar). A fração pesada foi adicionalmente refinada usando destilação de caminho curto a uma pressão de 1 Pa (0,01 mbar) e uma temperatura de 140°C. O concentrado de DHA foi isolado na quantidade de 225 mg e pureza de 890 mg/g.

#### Exemplo 3

**[0105]** Um óleo de peixe bruto foi submetido a um processo de separação e concentração.

**[0106]** Transesterificação: Uma reação de esterificação entre o óleo marinho purificado e álcool etílico, usando etóxido de sódio como catalisador, foi usada para produzir um éster etílico de óleo marinho. Foram adicionados etanol e etóxido de sódio a um óleo marinho purificado que havia sido aquecido. O glicerol foi separado do óleo marinho. Foram então adicionados novamente etanol e etóxido de sódio ao óleo marinho (após a remoção do glicerol). O éster etílico do óleo marinho formado foi centrifugado para a remoção adicional de glicerol. O etóxido de sódio foi neutralizado pela adição de 5% em peso do óleo marinho de uma solução de ácido cítrico a 9%. A camada de lavagem ácida foi separada do éster etílico do óleo marinho, foi adicionada água e o éster etílico do óleo marinho foi seco.

**[0107]** Os ésteres etílicos de óleos marinhos usados nos Exemplos 4-9 foram preparados como neste Exemplo 3.

#### Exemplo 4

**[0108]** Um óleo de peixe bruto foi submetido a um processo de separação e concentração. Um evaporador de película descendente com uma coluna de retificação, seguido por destilação de caminho curto (SPD) foi avaliado. A

coluna continha aproximadamente 1 metro de recheio com aproximadamente 3-4 estágios teóricos. Um éster etílico de óleo marinho foi alimentado através a corrente de refluxo a uma temperatura de 205°C. Os resultados da concentração são apresentados na Tabela 7. Os resultados dos isômeros são mostrados na Tabela 8.

**[0109]** Métodos analíticos: Isômeros e impurezas relacionadas foram medidos usando cromatografia em fase gasosa. Cerca de 25 mg da amostra foram pesados e dissolvidos em 25 ml de hexanos. Um cartucho SPE de íon prata foi montado no coletor; o cartucho foi condicionado com 4 ml de acetona e equilibrado com 4 ml de hexano. 1 ml da solução da amostra foi carregado no cartucho e puxado. O cartucho foi lavado com 6 ml de acetona. Em um novo tubo de ensaio de 15 ml, a amostra foi lavada do cartucho com 2 ml de acetona/acetonitrila (3:2). O tubo de ensaio foi removido do coletor e o solvente extraído em uma corrente de nitrogênio. Foi adicionado 1 ml de hexano ao tubo de ensaio. A solução foi transferida para um frasco de GC. Uma coluna Agilent DB Wax 30 m X 0,25 mm X 0,25 µm usando hélio a 1 ml/min foi usada. O volume de injeção foi de 1 µl e o detector foi FID a 260°C. O gradiente foi de 100°C por 1,0 min, rampa a 20/min até 210°C, mantendo por 40 minutos.

Tabela 7: Coluna seguida por destilação de caminho curto, 1 m de recheio, concentração de EPA/DHA

Amostra	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
Óleo de Partida	176	85
Coluna-destilado	70,7	0,3
Coluna-resíduo	323,4	191,7
SPD-destilado	378	210,2

SPD-resíduo	19,7	21,9
-------------	------	------

Tabela 8: Coluna seguida por destilação de caminho curto, 1

m de recheio, isômeros

Amostra	Isômeros de EPA (%)	Isômeros de DHA (%)	Isômeros totais (%)
Óleo de Partida	0,3	0,8	0,5
Coluna-resíduo	0,4	2,6	2,0
SPD-destilado	2,6	5,1	3,8

Exemplo 5

**[0110]** Um óleo de peixe bruto foi submetido a um processo de separação e concentração. Um evaporador de película descendente com uma coluna de retificação, seguido por destilação de caminho curto foi avaliado. A coluna continha aproximadamente 2 metros de recheio e tinha um distribuidor de líquido em posição intermediária na coluna. Um óleo marinho foi alimentado através a corrente de reciclo a uma temperatura de 170°C. Os resultados da concentração são apresentados na Tabela 9. Os resultados dos isômeros são mostrados na Tabela 10.

Tabela 9: Coluna seguida por destilação de caminho curto, 2

m de recheio, concentração de EPA/DHA

Amostra	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
Óleo de Partida	175,7	85
Coluna-destilado	15,0	0,0
Coluna-resíduo	361,1	177,7
SPD-destilado	382,4	184,2
SPD-resíduo	35,5	28,9

Tabela 10: Coluna seguida por destilação de caminho curto,

2 m de recheio, isômeros

<b>Amostra</b>	<b>Isômeros de EPA (%)</b>	<b>Isômeros de DHA (%)</b>	<b>Isômeros totais (%)</b>
Óleo de Partida	0,3	0,8	0,5
Coluna-destilado	3,7	n/d	3,7
Coluna-resíduo	3,0	6,7	4,9
SPD-destilado	2,1	5,7	4,1

Exemplo 6

**[0111]** Um óleo de peixe bruto foi submetido a um processo de separação e concentração. 2 colunas em série (cada uma constituída por um evaporador de película descendente com uma coluna de retificação) seguidas por destilação de caminho curto foram avaliadas. A amostra de resíduo da coluna no Exemplo 4 foi alimentada através de um segundo evaporador de película descendente com uma coluna de retificação com aproximadamente 2 metros de recheio e distribuidor de líquido em posição intermediária na coluna, nas mesmas condições do Exemplo 4. Os resultados da concentração são mostrados na Tabela 11. Os resultados dos isômeros são mostrados na Tabela 12.

Tabela 11: Coluna seguida por destilação de caminho curto, 2 m de recheio, concentração de EPA/DHA

<b>Amostra</b>	<b>EPA (mg/g)</b>	<b>DHA (mg/g)</b>
Óleo de Partida	175,7	85
Coluna 1-destilado	15,0	0,0
Coluna 1-resíduo	361,1	177,7
Coluna 2-destilado	653,1	20,8
Coluna 2-resíduo	0,0	145,5
SPD-destilado	2,1	227,5
SPD-resíduo	0,0	10,7

Tabela 12: Coluna seguida por destilação de caminho curto, 2 m de recheio, isômeros

Amostra	Isômeros de EPA (%)	Isômeros de DHA (%)	Isômeros totais (%)
Óleo de Partida	0,3	0,8	0,5
Coluna 1-destilado	3,7	n/d	3,7
Coluna 1-resíduo	3,0	6,7	4,9
Coluna 2-destilado	0,8	3,3	1,1
Coluna 2-resíduo	6,6	24,4	23,6
SPD-destilado	17,6	29,4	29,2

Exemplo 7

**[0112]** Um óleo de peixe bruto foi submetido a um processo de separação e concentração. Uma coluna de destilação fracionada com um condensador externo, seguida por destilação de caminho curto (SPD) foi avaliada. O condensador externo era um evaporador por película deslizante. A coluna foi carregada com 3 metros de recheio, com aproximadamente 8-9 estágios teóricos de separação, com uma alimentação no meio da coluna. Os resultados da concentração são mostrados na Tabela 13. Os resultados dos isômeros são mostrados na Tabela 14.

Tabela 13: Coluna seguida por destilação de caminho curto,

3 m de recheio, concentração de EPA/DHA

Amostra	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
Óleo de Partida	173	88,2
Coluna 1-destilado	13	0,0
Coluna 1-resíduo	402,2	206,2
SPD-destilado	450,3	228,1
SPD-resíduo	56,9	51,7

Tabela 14: Coluna seguida por destilação de caminho curto,

3 m de recheio, isômeros

Amostra	Isômeros de EPA (%)	Isômeros de DHA (%)	Isômeros totais (%)

Óleo de Partida	0,9	1,2	1,0
Coluna 1-resíduo	0,6	0,7	0,6
SPD-destilado	0,5	0,4	0,5

Exemplo 8

**[0113]** Um óleo de peixe bruto foi submetido a um processo de separação e concentração. Uma coluna de destilação fracionada com um condensador externo, seguida por destilação de caminho curto (SPD) foi avaliada. O condensador externo era um evaporador por película deslizante. A coluna foi carregada com 3 metros de recheio, com aproximadamente 8-9 estágios teóricos de separação, com uma alimentação por evaporador. Os resultados da concentração são mostrados na Tabela 15. Os resultados dos isômeros são mostrados na Tabela 16.

Tabela 15: Coluna seguida por destilação de caminho curto,

3 m de recheio, concentração de EPA/DHA

Amostra	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
Óleo de Partida	173	88,2
Coluna 1-destilado	11	0,0
Coluna 1-resíduo	409	224,3

Tabela 16: Coluna seguida por destilação de caminho curto,

3 m de recheio, isômeros

Amostra	Isômeros de EPA (%)	Isômeros de DHA (%)	Isômeros totais (%)
Óleo de Partida	0,9	1,2	1,0
Coluna 1-resíduo	0,3	0,6	0,5

Exemplo 9

**[0114]** Um óleo de peixe bruto foi submetido a um processo de separação e concentração. Uma coluna de destilação fracionada com um condensador externo, seguida por uma segunda coluna de destilação fracionada com um

condensador externo, seguida por uma destilação de caminho curto (SPD) foi avaliada. O condensador externo era um evaporador por película deslizante. Ambas as colunas foram carregadas com 2 metros de recheio, com aproximadamente 8-9 estágios teóricos de separação, com uma alimentação no meio da coluna. Os resultados da concentração são mostrados na Tabela 17. Os resultados dos isômeros são mostrados na Tabela 18.

Tabela 17: Coluna seguida por segunda coluna, seguida por destilação de caminho curto, 2 m de recheio, concentração de EPA/DHA

<b>Amostra</b>	<b>EPA (mg/g)</b>	<b>DHA (mg/g)</b>
Óleo de Partida	175,2	83,7
Coluna 1-destilado	15,0	0,0
Coluna 1-resíduo	402,2	206,2
Coluna 2-alimentação	407	211,1
Coluna 2-destilado	825,1	0,0
Coluna 2-resíduo	33	396,6
SPD-destilado	21,9	493,2
SPD-resíduo	0,0	64,4

Tabela 18: Coluna seguida por segunda coluna, seguida por destilação de caminho curto, 2 m de recheio, isômeros

<b>Amostra</b>	<b>Isômeros de EPA (%)</b>	<b>Isômeros de DHA (%)</b>	<b>Isômeros totais (%)</b>
Coluna 2-alimentação	0,5	0,6	0,6
Coluna 2-destilado	0,3	0,0	0,3
Coluna 2-destilado	0,8	1,0	1,0
SPD-destilado	4,4	0,5	0,6

Exemplo 10

**[0115]** Óleos de peixe brutos de diferentes concentrações foram submetidos a um processo de separação e concentração.

As concentrações dos óleos de partida listadas nas Tabelas 19-21 são valores de concentração representativos com base no tipo de peixe usado (por exemplo, 22:08 é um peixe contendo cerca de 20% de EPA e 8% de DHA). Uma coluna de destilação fracionada com um condensador externo, seguida por uma segunda coluna de destilação fracionada com um condensador externo, seguida por uma destilação de caminho curto (SPD) foi avaliada. O condensador externo era um evaporador por película deslizante. Depois da passagem pela primeira coluna, as concentrações de EPA e DHA no resíduo foram medidas (Tabela 19). O resíduo foi passado através de uma segunda coluna e as concentrações de EPA e DHA no destilado foram medidas (Tabela 20). O resíduo da segunda coluna foi passado através de uma coluna de destilação de caminho curto e as concentrações de EPA e DHA no resíduo foram medidas (Tabela 21).

Tabela 19: Primeira coluna, concentração de EPA/DHA

<b>Amostra</b>	<b>Material de partida</b>	<b>EPA de partida (% em peso)</b>	<b>DHA de partida (% em peso)</b>	<b>EPA do resíduo (% em peso)</b>	<b>DHA do resíduo (% em peso)</b>
1	22:8	17,5	8,4	39,5-42,8	20,6-21,8
2	22:8	17,5	8,4	40,5-41,5	21,0-21,2
3	18:12	14,3	12,6	29,5-32,4	29,9-31,6
4	18:12	14,3	12,6	30,4-32,6	29,8-30,8
5	22:8	17,5	8,4	40,6-41,0	21,1
6	12:18	13,9	13,0	28,7-31,7	30,8-32,4
7	12:18	13,9	13,0	28,5-31,8	30,4-32,4

Tabela 20: Segunda coluna, concentração de EPA/DHA, destilado

Amostra	<b>Material de partida</b>	<b>EPA de partida (% em peso)</b>	<b>DHA de partida (% em peso)</b>	<b>EPA do destilado (% em peso)</b>	<b>DHA do destilado (% em peso)</b>
1	22:8	40,7	21,1	79,8-82,2	0,0
2	18:12	31,1	30,6	75,5-78,8	0,0-0,04
3	12:18	30,6	31,3	74,4-76,0	0,0
4	12:18	30,6	31,3	73,9-74,6	0,0
5	22:8	39,9	20,6	75,1-77,8	0,0-0,66

Tabela 21: Coluna de destilação de caminho curto,  
concentração de EPA/DHA, resíduo

Amostra	<b>Material de partida</b>	<b>EPA de partida (% em peso)</b>	<b>DHA de partida (% em peso)</b>	<b>EPA do resíduo (% em peso)</b>	<b>DHA do resíduo (% em peso)</b>
1	22:8	1,8	41,0	2,1-2,2	48,5-50,1
2	18:12	0,3	50,0	0,3-0,5	59,6-59,9
3	12:18	0,2	50,7	0,2	60,0

Exemplo 11

**[0116]** Óleo de peixe bruto com um perfil de EPA:DHA de 14,9% em peso de EPA e 10,1% em peso de DHA foi submetido a um processo de separação e concentração. Uma coluna de destilação fracionada com um condensador externo, seguida por uma segunda coluna de destilação fracionada com um condensador externo, seguida por uma destilação de caminho curto (SPD) foi avaliada. O condensador externo era um evaporador por película deslizante. Depois da passagem pela primeira coluna, as concentrações de EPA e DHA no destilado e no resíduo foram medidas (Tabela 22). O resíduo foi passado através de uma segunda coluna e as concentrações de EPA e DHA no destilado e no resíduo foram medidas (Tabela 23). O resíduo da segunda coluna foi passado através de uma

coluna de destilação de caminho curto e as concentrações de EPA e DHA no destilado e no resíduo foram medidas (Tabela 24). As concentrações de EPA e de DHA de cada amostra foram medidas em diferentes intervalos de tempo durante o processamento.

Tabela 22: Primeira coluna, concentração de EPA/DHA

Amostra	EPA de partida (% em peso)	DHA de partida (% em peso)	EPA do destilado (% em peso)	DHA do destilado (% em peso)	EPA do resíduo (% em peso)	DHA do resíduo (% em peso)
1	14,9	10,1	5,8	---	30,2	27,6
2	14,9	10,1	2,4	---	33,7	26,0
3	14,9	10,1	1,9	---	33,9	25,7
4	14,9	10,1	0,2	---	35,0	24,4
5	14,9	10,1	0,2	---	34,8	24,4

Tabela 23: Segunda coluna, concentração de EPA/DHA

Amostra	EPA da alimentação (% em peso)	DHA da alimentação (% em peso)	EPA do destilado (% em peso)	DHA do destilado (% em peso)	EPA do resíduo (% em peso)	DHA do resíduo (% em peso)
1	35,6	24,9	61,3	0,1	---	46,8
2	35,6	24,9	73,9	---	---	46,2
3	35,6	24,9	73,3	0,3	---	46,3
4	35,6	24,9	74,0	---	0,2	46,0
5	35,6	24,9	76,4	---	0,3	45,5
6	35,6	24,9	76,7	---	0,2	45,2
7	35,6	24,9	77,5	---	0,3	44,2
8	35,6	24,9	77,0	---	0,3	44,8

Tabela 24: Coluna de destilação de caminho curto, concentração de EPA/DHA

Amostra	EPA da alimentação (% em peso)	DHA da alimentação (% em peso)	EPA do destilado (% em)	DHA do destilado (% em)	EPA do resíduo (% em)	DHA do resíduo (% em)

			<b>peso)</b>	<b>peso)</b>	<b>peso)</b>	<b>peso)</b>
1	0,2	45,5	0,2	55,9	---	0,5
2	0,2	45,5	0,2	57,5	---	1
3	0,2	45,5	0,2	56,5	---	1,1
4	0,2	45,5	0,2	56,6	---	2,3
5	0,2	45,5	0,2	56,7	---	2,6
6	0,2	45,5	0,2	57	---	3,3
7	0,2	45,5	0,2	58,4	---	1,2

Exemplo 12

**[0117]** Óleo de peixe bruto foi submetido a um processo de separação e concentração. Uma coluna de destilação fracionada com um condensador externo, seguida por uma segunda coluna de destilação fracionada com um condensador externo, seguida por uma destilação de caminho curto (SPD) foi avaliada. O condensador externo era um evaporador por película deslizante. Os níveis de isômeros foram medidos nestas amostras. Os resultados são mostrados na Tabela 25.

Tabela 25: Resultados dos isômeros

<b>Amostra</b>	<b>Isômero A</b>	<b>Isômero B</b>	<b>Isômero C</b>	<b>Isômero D + E</b>	<b>Isômeros totais</b>
Óleo de partida (Óleo de peixe 18:12)	0,26	0,07	0,12	0,34	0,79
Destilado, primeira coluna	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Resíduo, primeira coluna	0,29	0,12	0,11	0,45	0,96
Destilado, segunda coluna (~77% em peso de EPA)	0,33	0,16	0,16	0,51	1,16
Destilado, coluna de	Nenhum ou	Nenhum ou	Nenhum ou	Nenhum ou	Nenhum ou

Amostra	Isômero A	Isômero B	Isômero C	Isômero D + E	Isômeros totais
destilação de caminho curto (~56% em peso de DHA)	traços	traços	traços	traços	traços

Exemplo 13

**[0118]** Um óleo bruto foi produzido através da fermentação de *Schizochytrium sp.* O óleo foi submetido a uma etapa de transesterificação para produzir ésteres etílicos de ácidos graxos poli-insaturados.

**[0119]** Purificação e Concentração: Uma coluna de destilação fracionada com um condensador externo, seguida por uma coluna de destilação de caminho curto foi avaliada. O condensador externo era um evaporador por película deslizante. O perfil de ácidos graxos do óleo de partida é mostrado na Tabela 26. O perfil de ácidos graxos do óleo produzido é mostrado na Tabela 27.

Tabela 26: Perfil de ácidos graxos, óleo de partida

Ácidos Graxos	Percentual em peso (%)
C14:0	1,5
C16:0	22,9
C18:0	1,7
C18:1 n-9	2,1
C20:4 n-6	1,7
C20:5 n-3 (EPA)	19,9
C22:5 n-6	1,9
C22:5 n-3	3,3
C22:6 n-3 (DHA)	41,4

Tabela 27: Perfil de ácidos graxos, óleo

Ácidos Graxos	Percentual em peso (%)
C16:0	12,3

C18:0	1,5
C18:1 n-9	1,9
C20:4 n-6	1,8
C20:5 n-3 (EPA)	21,8
C22:5 n-6	2,4
C22:5 n-3	4,1
C22:6 n-3 (DHA)	50,6

Exemplo 14

**[0120]** Um óleo bruto foi produzido através da fermentação de *Schizochytrium sp.* O óleo foi submetido a uma etapa de transesterificação para produzir ésteres etílicos de ácidos graxos poli-insaturados.

**[0121]** Purificação e Concentração: O óleo foi fracionado por uma primeira passagem através de uma coluna de destilação fracionada. O destilado continha 222 mg/g de EPA e 218 mg/g de DHA (Amostra 1D). O resíduo continha 175 mg/g de EPA e 611 mg/g de DHA (Amostra 1R). O destilado desta primeira passagem foi fracionado por uma segunda passagem através de uma coluna de destilação fracionada. O destilado desta etapa continha 77 mg/g de EPA e 34 mg/g de DHA (Amostra 3D) e o resíduo continha 291 mg/g de EPA e 331 mg/g de DHA (Amostra 3R). O resíduo da primeira passagem foi fracionado por uma segunda passagem através de uma coluna de destilação fracionada. O destilado desta etapa continha 181 mg/g de EPA e 624 mg/g de DHA (Amostra 2D) e o resíduo não pode ser amostrado devido à viscosidade. A Amostra 2D foi passada através de uma destilação de caminho curto. O destilado desta etapa continha 256 mg/g de EPA e 559 mg/g de DHA (Amostra 4D) e o resíduo continha 105 mg/g de EPA e 697 mg/g de DHA (Amostra 4R). Todas as passagens

através da coluna de fracionamento e/ou de um aparelho de destilação de caminho curto usaram uma faixa de temperatura de 110 °C a 180 °C e vácuo de aproximadamente 0,0027- 0,0033 kPa (20-25 mtorr). Os resultados são mostrados na Tabela 28.

Tabela 28: Concentração de EPA/DHA

<b>Amostra</b>	<b>EPA (mg/g)</b>	<b>EPA (% em peso)</b>	<b>DHA (mg/g)</b>	<b>DHA (% em peso)</b>	<b>Ômega- 3 total (mg/g)</b>	<b>Ômega- 3 total (%)</b>
Óleo de Partida	193	19,3	392	39,2	624	62,4
Coluna 1-destilado (Amostra 1D)	222	22,2	218	21,8	465	46,5
Coluna 1-resíduo (Amostra 1R)	175	17,5	611	61,1	842	84,2
Coluna 2-destilado (Amostra 2D)	181	18,1	624	62,4	864	86,4
Coluna 2-resíduo (Amostra 2R)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Coluna 3-destilado (Amostra 3D)	77	7,7	34	3,4	116	11,6
Coluna 3-resíduo	291	29,1	331	33,1	650	65,0

<b>Amostra</b>	<b>EPA (mg/g)</b>	<b>EPA (% em peso)</b>	<b>DHA (mg/g)</b>	<b>DHA (% em peso)</b>	<b>Ômega- 3 total (mg/g)</b>	<b>Ômega- 3 total (%)</b>
(Amostra 3R)						
SPD- destilado (Amostra 4D)	256	25,6	559	55,9	857	85,7
SPD- resíduo (Amostra 4R)	105	10,5	697	69,7	860	86,0

Exemplo 15

**[0122]** Um óleo bruto foi produzido através da fermentação de *Cryptochodinium cohnii*. O óleo foi submetido a uma etapa de transesterificação para produzir ésteres etílicos de ácidos graxos poli-insaturados.

**[0123]** Purificação e Concentração: Uma coluna de destilação fracionada com um condensador externo, seguida por destilação de caminho curto foi avaliada. O condensador externo era um evaporador por película deslizante. O perfil de ácidos graxos do óleo de partida é mostrado na Tabela 29. Dois ensaios foram concluídos. O perfil de ácidos graxos do óleo produzido é mostrado nas Tabelas 30 e 31.

Tabela 29: Perfil de ácidos graxos, óleo de partida

<b>Ácidos Graxos</b>	<b>Percentual em peso (%)</b>
C12:0	5,09
C14:0	9,10
C16:0	6,74
C18:1 n-9	6,42

C20:5 n-3 (EPA)	0,0
C22:5 n-6	0,0
C22:5 n-3	0,87
C22:6 n-3 (DHA)	48,7

Tabela 30: Perfil de ácidos graxos, óleo

<b>Ácidos Graxos</b>	<b>Percentual em peso (%)</b>
C12:0	0,0
C14:0	0,0
C16:0	0,0
C18:1 n-9	0,0
C20:5 n-3 (EPA)	0,0
C22:5 n-6	0,0
C22:5 n-3	1,7
C22:6 n-3 (DHA)	96,9

Tabela 31: Perfil de ácidos graxos, óleo

<b>Ácidos Graxos</b>	<b>Percentual em peso (%)</b>
C12:0	0,0
C14:0	0,0
C16:0	0,0
C18:1 n-9	0,0
C20:5 n-3 (EPA)	0,0
C22:5 n-6	0,0
C22:5 n-3	1,36
C22:6 n-3 (DHA)	96,6

**[0124]** Todas as referências, incluindo publicações, pedidos de patentes e patentes citados aqui, são incorporadas por referência na mesma medida, como se cada referência fosse indicada individualmente e especificamente para ser incorporada por referência, e foram estabelecidas

em sua totalidade.

**[0125]** Modalidades preferidas da presente invenção são descritas aqui, incluindo o melhor modo conhecido pelos inventores para realizar a invenção. Variações destas modalidades preferidas podem se tornar evidentes para os técnicos no assunto após a leitura da descrição anterior. Os inventores esperam que técnicos experientes utilizem tais variações, conforme apropriado, e os inventores pretendem que a invenção seja praticada de modo diferente do que é especificamente descrito aqui. Por conseguinte, a presente invenção inclui todas as modificações e equivalentes da matéria citada nas reivindicações em anexo, conforme permitido pela lei aplicável. Além disso, qualquer combinação dos elementos acima descritos em todas as suas variações possíveis é englobada pela presente invenção, salvo indicação em contrário aqui ou de outro modo claramente contradito pelo contexto.

## REIVINDICAÇÕES

1. Processo para a separação e concentração de um óleo compreendendo ésteres de ácidos graxos poli-insaturados, o processo **caracterizado por** compreender submeter o óleo a pelo menos uma etapa de destilação, em que uma primeira etapa de destilação compreende a alimentação do óleo a pelo menos um aparelho e submeter o óleo a condições para remover compostos com baixo ponto de ebulação em um destilado e em que uma segunda etapa de destilação compreende submeter o óleo a condições para separar pelo menos uma porção de um ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa (AGPI-CL), que é ácido eicosapentaenoico (EPA), de pelo menos uma porção de um segundo AGPI-CL, que é ácido docosa-hexaenoico (DHA), em que o referido pelo menos um aparelho compreende uma coluna de fracionamento ligada a um evaporador por película deslizante.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que uma terceira etapa de destilação compreende submeter o óleo a condições para separar pelo menos uma porção adicional de um ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa (AGPI-CL) de um segundo AGPI-CL.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado pelo** fato de que a etapa de destilação compreende destilação de caminho curto, destilação fracionada, evaporador de película descendente, evaporador por película deslizante ou combinações destes.

4. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado pelo** fato de que o

aparelho na primeira etapa de destilação é uma coluna de destilação de caminho curto ou uma coluna de fracionamento.

5. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizado pelo** fato de que o aparelho em uma segunda etapa de destilação comprehende uma coluna de destilação de caminho curto ou uma coluna de fracionamento.

6. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizado pelo** fato de que o óleo submetido a uma primeira, segunda e/ou terceira etapa de destilação é separado na extremidade do resíduo e na extremidade do destilado em uma quantidade de pelo menos 30% em peso.

7. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, **caracterizado pelo** fato de que o óleo submetido a uma primeira etapa de destilação é coletado na extremidade do resíduo e o óleo coletado na extremidade do resíduo comprehende pelo menos 10% em peso de EPA e DHA.

8. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, **caracterizado pelo** fato de que o óleo submetido a uma primeira etapa de destilação é coletado na extremidade do destilado e o óleo coletado na extremidade do destilado comprehende pelo menos 10% em peso de ácidos graxos poli-insaturados com menos de 20 carbonos.

9. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizado pelo** fato de que pelo menos 5% do ácido eicosapentaenoico (EPA) é removido no destilado da primeira etapa de destilação.

10. Processo, de acordo com qualquer uma das

reivindicações 1 a 9, **caracterizado pelo** fato de que o óleo submetido a segunda e/ou terceira etapa de destilação é coletado na extremidade do resíduo e o óleo coletado na extremidade do resíduo compreende pelo menos 10% em peso de EPA.

11. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, **caracterizado pelo** fato de que o óleo submetido a segunda e/ou terceira etapa de destilação é coletado na extremidade do destilado e o óleo coletado na extremidade do destilado compreende pelo menos 10% em peso de DHA.

12. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, **caracterizado pelo** fato de que pelo menos um AGPI-CL é separado de um segundo AGPI-CL em uma quantidade de pelo menos 50%.

13. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, **caracterizado pelo** fato de que o % em peso do pelo menos um AGPI-CL é aumentado no óleo em pelo menos 20% em peso, em comparação com o % em peso no óleo de partida.

14. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, **caracterizado pelo** fato de que o óleo após a separação e concentração compreende pelo menos 70% de um AGPI desejado em uma fração de éster etílico, preferencialmente, pelo menos 80% de um AGPI desejado em uma fração de éster etílico, mais preferencialmente, pelo menos 90% de um AGPI desejado em uma fração de éster etílico.

15. Processo, de acordo com qualquer uma das

reivindicações 1 a 14, **caracterizado pelo** fato de que o AGPI-CL é um ácido graxo ômega-3, um ácido graxo ômega-6 e combinações destes, preferencialmente, em que o AGPI-CL é ácido araquidônico (ARA), ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosa-hexaenoico (DHA) e combinações destes.

16. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, **caracterizado pelo** fato de que o óleo é um óleo microbiano ou marinho.

17. Processo, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado pelo** fato de que o óleo é um óleo microbiano, preferencialmente, em que o óleo foi produzido por um microrganismo, e em que o microrganismo é selecionado a partir do grupo compreendendo microalgas, bactérias, fungos e protistas.

18. Processo, de acordo com a reivindicação 17, **caracterizado pelo** fato de que o microrganismo é uma microalga.

19. Processo, de acordo com a reivindicação 18, **caracterizado pelo** fato de que a microalga é do gênero *Cryptochodinium*, preferencialmente, em que a microalga é da espécie *Cryptochodinium cohnii*.

20. Processo, de acordo com a reivindicação 18, **caracterizado pelo** fato de que a microalga é do gênero *Thraustochytrium*, preferencialmente, em que a microalga é da espécie *Schizochytrium sp.*

21. Processo, de acordo com a reivindicação 17, **caracterizado pelo** fato de que o microrganismo é um fungo.

22. Processo, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado pelo** fato de que o microrganismo é do gênero

*Mortierella*, preferencialmente, em que o microrganismo é da espécie *Mortierella alpina*.

23. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 22, **caracterizado pelo** fato de que o óleo tem um valor de isômeros não superior a 1% em peso.

24. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 23, **caracterizado pelo** fato de que o óleo é produzido por um organismo geneticamente modificado.

25. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 24, **caracterizado por** compreender adicionalmente a transesterificação do óleo, para converter pelo menos parte da fração éster no óleo a uma fração triglicerídeo.