



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 295 783**

51 Int. Cl.:
C11C 3/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **04253966 .8**

86 Fecha de presentación : **01.07.2004**

87 Número de publicación de la solicitud: **1493801**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **05.01.2005**

54 Título: **Proceso para la preparación de ácidos grasos conjugados.**

30 Prioridad: **01.07.2003 EP 03254185**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2008

73 Titular/es: **Lipid Nutrition B.V.**
Hogeweg 1
1521 AZ Wormerveer, NL

72 Inventor/es: **Yan, Youchun;**
Bhaggan, Krishnath;
Schmid, Ulrike y
Taran, Victoria

74 Agente: **Urizar Anasagasti, José Antonio**

ES 2 295 783 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

Proceso para la preparación de ácidos grasos conjugados.

5 Esta invención se refiere a un proceso para la producción de un ácido graso conjugado di- o poli- insaturado que tiene de 12 a 24 átomos de carbono, o una sal o éster de éste, y al producto del proceso.

10 Los isómeros conjugados de ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga son conocidos por sus beneficios potenciales, por ejemplo cuando se utilizan en productos alimenticios. Ejemplos de tales ácidos incluyen los isómeros del ácido linoleico; típicamente, los isómeros cis-9, trans-11 y trans-10 y el cis-12, que son los de presencia más abundante en estos materiales; en general en una relación en peso de 1:1. Los isómeros conjugados pueden producirse a partir de los ácidos grasos no conjugados correspondientes

15 La Patente Europea A-0799033 revela un proceso para la producción de isómeros conjugados en los cuales se utiliza el etilenglicol. El etilenglicol sin embargo tiene la desventaja de que es muy difícil de eliminar totalmente del producto de reacción del proceso de isomerización. Es más, los resultados deseados de los isómeros poli-insaturados conjugados en el producto de reacción de la conversión en presencia de la base, son relativamente bajos.

20 Según la WO 97/46 230, los ácidos linoleicos conjugados pueden obtenerse a partir de la isomerización del ácido linoleico o aceite de alazor sometiendo el material de partida a una base (KOH) en propilenglicol a 180°C. El producto de la reacción contiene cantidades relativamente grandes de isómeros diferentes a los isómeros linoleicos conjugados deseados. Esto puede deberse a la severidad de las condiciones de reacción. La Patente Europea A-0839897 describe también un proceso para la producción de ácidos linoleicos conjugados sometiendo grasas, que contienen ácido linoleico, a una base en propilenglicol.

25 La Patente Europea A-0902082 revela un proceso para la preparación de materiales que comprenden principalmente isómeros conjugados de ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga, en el que un aceite o una composición libre del ácido graso o una composición de éster de alquilo de éste, contentiva de al menos 25% en peso de al menos un isómero diferente de los isómeros conjugados de ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga, se somete a un tratamiento con una base en un solvente, y en el que el solvente es un alcohol con al menos 3 átomos de carbono y al menos dos grupos hidroxilo que tienen: una relación del número de átomos de carbono: número de grupos OH de al menos 1,25 pero menor de 3,5, preferentemente de 1,5 a 2,75, mientras que la reacción se lleva a cabo entre 100 y 180°C, más preferentemente entre 120 y 180°C.

30 Sería apropiado que el proceso para la producción de ácidos grasos conjugados utilizara un sistema de solventes que fuera menos costoso y de más fácil manipulación que los solventes utilizados en la técnica anterior.

35 La Patente de los EE.UU. 2242230 revela un proceso para la producción de conjugación en polienos no conjugados. El proceso se lleva a cabo en condiciones no acuosas y cualquier agua que se forme en el proceso se retira de la reacción. El proceso se lleva a cabo en presencia de una base que es una solución alcohólica de KOH seco en alcohol seco o una solución de un alcóxido de un metal alcalino formado mediante reacción del metal alcalino con el alcohol. Se evita la presencia de agua, ya que el documento enseña que el agua inhibe la reacción y reduce el rendimiento del producto.

40 Sastry *et al*, "Isomerised Safflower Oil", *Paint Manufacture*, vol 40, n° 8, 1 agosto 1970, páginas 32 a 34, describe la isomerización del aceite de alazor seguida de elaidinización para obtener los isómeros trans, trans. La reacción se lleva a cabo a 210-215°C y se obtienen cantidades sustanciales de isómeros trans, trans durante el primer paso de isomerización.

45 Moore, "Spectroscopic changes in fatty acids", *Biochemical Journal*, vol 31, 1937, páginas 138-154, se refiere a los cambios en los espectros de absorción UV de grasas tratadas con hidróxido de sodio. Luego de la saponificación, las grasas se someten a reflujo durante 24 horas.

50 La Patente de los EE.UU. 6479683 revela un proceso para la producción de ésteres de ácidos grasos conjugados mediante la reacción de un éster con un catalizador alcóxido de metal alcalino en un alcohol monohídrico. Es evidente a partir de los materiales utilizados que el proceso se lleva a cabo en ausencia de agua.

55 Hemos descubierto que cuando el proceso se lleva a cabo en condiciones anhídras, la reacción anhídrica puede dar lugar a productos colaterales indeseables, incluyendo dialquil-cetonas (DACs, DAK por sus siglas en inglés). Es más, la mezcla de la reacción se hace muy viscosa y es difícil de remover a gran escala.

60 Ahora hemos encontrado un proceso para la producción de ácidos grasos conjugados di- o poli- insaturados que tienen de 12 a 24 átomos de carbono, o sales o ésteres de éstos, que emplea el etanol como solvente pero que evita las desventajas de los procesos de la técnica anterior descrita más arriba. Contrario a las enseñanzas de la Patente de los EE.UU. 2242230, hemos encontrado que las desventajas disminuyen al incluir agua en el sistema de reacción y, sorprendentemente, que la presencia de agua a ciertos niveles tiene un efecto inhibitorio escaso o ninguno en la formación de los ácidos grasos conjugados. Inesperadamente, la reacción en etanol también procede más rápido que la reacción en otros sistemas de solventes de la técnica anterior. El proceso tiene ventajas si se lleva a cabo a una temperatura en el intervalo de 120°C a 200°C. Esta combinación de condiciones del proceso permite un rendimiento

ES 2 295 783 T3

incrementado, y/o la reducción en la cantidad de isómeros geométricos (tales como isómeros trans, trans) y/o una reducción en la cantidad de productos colaterales indeseables (tales como las dialquil-cetonas (DACs)).

5 Según la presente invención, se proporciona un proceso para la producción de un ácido graso di- o poli- insaturado que tiene de 12 a 14 átomos de carbono, o una sal o éster, de éste que comprende la reacción de un ácido graso no conjugado, o una sal o éster de éste, con una base en presencia de un solvente que comprende un alcohol monohídrico que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, en la que la reacción se lleva a cabo a una temperatura de 120°C a 200°C en presencia de agua en cantidad de al menos 4% en peso en base al alcohol.

10 En otra realización, la invención proporciona el producto del proceso de la presente invención.

Preferentemente la presente invención proporciona un producto que comprende un ácido graso conjugado di- o poli- insaturado que tiene de 12 a 24 átomos de carbono, o una sal o éster de éste y que contiene dialquil-cetonas en cantidad menor que 100 ppm, preferentemente menor que 50 ppm, y ésteres del ácido graso conjugado con el alcohol monohídrico. Preferentemente los ésteres están presentes en una cantidad de 0,01 a 2% en peso.

La presente invención implica el uso de agua en una cantidad de al menos 4% en peso en base al alcohol como un cosolvente con un solvente que comprende un alcohol monohídrico que tiene a 1 a 6 átomos de carbono, en un proceso para la producción de un ácido graso di- o poli- insaturado que tiene de 12 a 24 átomos de carbono, o una sal o éster de éste, que comprende la reacción de un ácido graso libre insaturado o una sal o éster de éste, con una base, para reducir la formación de productos colaterales no deseados en productos alimenticios, tales como las dialquil-cetonas (DACs).

Los ácidos grasos producidos en el proceso de la presente invención son di- o poli-insaturados, i.e., contienen al menos dos enlaces dobles carbono-carbono.

25 Típicamente, los ácidos grasos contienen 2, 3, 4 ó 5 enlaces dobles carbono-carbono, preferentemente dos enlaces dobles carbono-carbono. En los productos de la presente invención, los enlaces dobles carbono-carbono se conjugan entre sí (i.e., están espaciados entre sí en la molécula por un enlace sencillo carbono-carbono). Los materiales de partida utilizados en el proceso comprenden los ácidos grasos no conjugados correspondientes, i.e., los enlaces dobles carbono-carbono están separados entre sí en la molécula por más de un enlace sencillo carbono-carbono y están separados preferentemente entre sí por más de un grupo metileno.

El término ácidos grasos y los términos relacionados utilizados en la presente solicitud se refieren a ácidos carboxílicos que comprenden un grupo alquilo o alquenoilo (que comprende dos o más enlaces dobles carbono-carbono) que pueden estar ramificados o ser de cadena lineal, pero son preferentemente de cadena lineal. El ácido carboxílico contiene de 12 a 24 átomos de carbono, preferentemente de 14 a 22 átomos de carbono, más preferentemente de 16 a 20 átomos de carbono y lo más preferente aún 18 átomos de carbono, incluyendo el átomo de carbono del grupo de ácido carboxílico. El ácido graso no conjugado y el ácido graso conjugado son preferentemente ácidos grasos C18:2, más preferentemente ácido linoleico y ácido linoleico conjugado (CLA). Los ácidos grasos pueden ser mezclas de dos o más ácidos grasos o de isómeros de éstos.

El ácido graso producido en el proceso de la presente invención puede ser un ácido graso libre, o una sal o un éster de éste, o una mezcla de dos o más de estos materiales. Las sales incluyen sales con metales alcalinos y metales alcalino-térreos tales como el sodio, potasio, calcio y magnesio, preferentemente sodio o potasio. Los ésteres incluyen mono, di- y triglicéridos y mezclas de éstos, y ésteres de alquilos C₁ a C₆ (en los que el grupo alquilo puede ser de cadena lineal o ramificada). Típicamente, en el proceso se producen sales y ácidos libres. Las sales pueden convertirse en ácidos libres elevando el pH de la mezcla de reacción al final del proceso. Los ácidos libres pueden convertirse en ésteres mediante reacciones de esterificación bien conocidas en la técnica.

50 El ácido graso libre no conjugado, o la sal o éster de éste, utilizado como material de partida en el proceso, se selecciona entre el grupo que consiste en aceites vegetales, ácidos libres derivados de estos aceites y ésteres de alquilos C₁ a C₆ de estos ácidos libres (en los que el grupo alquilo sea de cadena lineal o ramificada). El ácido graso no conjugado, o sal o éster de éste, puede estar presente en el material de partida en cantidad de 10 a 100% en peso, más preferentemente de 25% a 100% en peso, tal como de 25% a 90% en peso. Los materiales de partida preferidos son los aceites vegetales, y lo más preferente es que el aceite vegetal se seleccione entre el aceite de girasol, de semilla de colza, de soja, de alazor o de linaza y de mezclas de éstos. El aceite de alazor es un aceite vegetal de particular preferencia.

El proceso de la presente invención se lleva a cabo en presencia de un solvente que comprende un alcohol monohídrico que tiene de 1 a 6 átomos de carbono. Preferentemente, el alcohol se selecciona entre etanol, metanol y sus mezclas, más preferentemente etanol. El solvente además incluye agua en cantidad de al menos 4% en peso en base al alcohol. Otros cosolventes pueden estar presentes en cantidades de hasta 50% en peso en base al alcohol, preferentemente hasta 40%, más preferente hasta 30%, tales como hasta 20% o hasta 10% en peso en base al alcohol. Sin embargo, preferentemente el solvente no comprende sustancialmente cosolventes diferentes del alcohol y el agua o comprende dichos otros cosolventes en una cantidad menor que 5%, o más preferente menor que 2%, y aún más preferente menor que 1%, como menos del 0,1% en peso en base al alcohol. Preferentemente, la cantidad de agua es de 5% a 35% en peso en base al alcohol, más preferente del 10% al 30% en peso en base al alcohol, tal como 15% al 25% en peso en base al alcohol. El contenido del agua se refiere al contenido total de agua e incluye el agua presente en los materiales de partida, así como cualquier agua añadida. El agua puede provenir del agua añadida al sistema y/o

ES 2 295 783 T3

puede ya estar presente en el proceso en el solvente de alcohol o en otros materiales de partida, incluyendo la base y el ácido graso. Por tanto, dependiendo del contenido de agua en los materiales de partida, puede o no ser necesario añadir agua al sistema. La cantidad de agua en el proceso de la presente invención puede determinarse por métodos bien conocidos en la técnica, mediante análisis de los materiales de partida y/o de la mezcla de reacción. El método de Karl Fischer es un ejemplo apropiado de un método de determinación del contenido de agua.

El proceso de la presente invención se lleva a cabo en presencia de una base. La base eleva el pH de la mezcla de reacción. La base es apropiadamente por ejemplo, un hidróxido de metal alcalino seleccionado entre hidróxido de potasio, hidróxido de sodio y sus mezclas. La relación molar de la base al ácido graso libre no conjugado, o a la sal o éster de éste empleada en el proceso es preferentemente de 1,07 a 3,5, más preferente de 1,2 a 2,5 y aún más preferente de 1,3 a 1,6.

Las condiciones del proceso para llevar a cabo la reacción pueden variarse dependiendo de la velocidad deseada y del rendimiento del producto. La reacción se lleva a cabo típicamente a una temperatura por encima del punto de ebullición normal del alcohol (i.e., el punto de ebullición a presión atmosférica), aunque pueden emplearse temperaturas más bajas. Generalmente, mientras más elevada sea la temperatura de reacción, más rápida será la velocidad a la que procede la reacción. La reacción se lleva a cabo a una temperatura de 120°C a 200°C, preferentemente de 140°C a 180°C. Cuando la reacción se lleva a cabo a una temperatura superior al punto de ebullición del alcohol, la reacción se lleva a cabo a una presión superior a la atmosférica en un recipiente que pueda resistir presiones superiores a la atmosférica.

El proceso de la invención puede llevarse a cabo en lotes o como un proceso continuo. El proceso es adecuado para utilizarse a gran escala en un aparato apropiado, i.e., capaz de la producción de ácidos grasos conjugados o sales o ésteres de éstos en cantidades superiores a los 100 kg, más preferentemente de más de 1 000 kg diarios. Cuando el proceso se lleva a cabo en tandas preferentemente debe llevarse a cabo entre 1 y 10 horas, más preferentemente de 2 a 6 horas.

El proceso se lleva a cabo preferentemente durante un tiempo a una temperatura para formar un producto que comprenda más del 60% en peso, más preferente más del 70% en peso, en base al ácido graso total y las sales y ésteres de éste, de los isómeros del ácido graso conjugado cis-9, trans-11 y trans-10, y cis-12.

El proceso puede llevarse a cabo durante un tiempo a una temperatura para formar un producto que comprenda menos del 3% en peso de ácido linoleico y sales y ésteres de éste, en base al ácido graso total y las sales y ésteres de éste.

El proceso de la presente invención puede resultar en la formación de cantidades menores de isómeros trans, trans de ácidos grasos que en los procesos correspondientes llevados a cabo utilizando etanol en condiciones anhidras. Preferentemente, la reacción produce isómeros trans, trans de ácidos grasos conjugados en una cantidad inferior al 5%, más preferente menor que 3% y aún la más preferente menor que 1%, dichos porcentajes en peso en base al ácido graso total y la sal y los ésteres de éste. Por tanto, la cantidad de isómeros trans, trans en el ácido graso conjugado que es producto del proceso es preferentemente menor que 5%, más preferente menor que 3% y aún la más preferente menor que 1%, siendo dichos porcentajes en peso basados en el ácido graso total y en las sales y ésteres de éste.

El proceso de la invención se lleva a cabo preferentemente en ausencia sustancial de microorganismos y enzimas añadidos, preferentemente en ausencia de microorganismos y enzimas añadidos.

El proceso de la presente invención comprende opcionalmente uno o dos pasos adicionales. Un paso adicional apropiado en el proceso incluye por ejemplo, la separación del ácido graso conjugado de la mezcla de reacción mediante un método que comprende el tratamiento con un ácido y la separación de la fase acuosa de la fase orgánica. Otro paso adicional opcional en el proceso comprende la purificación del ácido graso conjugado. Aún otro paso opcional adicional comprende la formación de un mono, di- o triglicérido del ácido graso conjugado.

El producto del proceso contiene preferentemente cantidades relativamente bajas de dialquil-cetonas (DACs). Preferentemente, el producto contiene dialquil-cetonas en una cantidad inferior a 100 ppm, más preferente menor que 50 ppm, y aun más preferente menor que 25 ppm. Las dialquil-cetonas son típicamente de la fórmula RR'CO, en la que R y R' son iguales o diferentes y son o grupos alquilo saturados, o grupos alqueno saturados que tienen al menos un enlace doble carbono-carbono (preferentemente uno o dos enlaces dobles), conteniendo el grupo alquilo y alqueno de 12 a 24 (e.g., 12 a 20), preferentemente de 14 a 18 átomos de carbono, siendo de cadena lineal o ramificada, preferentemente de cadena lineal. El producto puede comprender también ésteres del ácido graso conjugado con el alcohol monohídrico utilizado en el proceso, tales como, por ejemplo, ésteres de etilo. El término plural "ésteres" se utiliza para reflejar el hecho de que diferentes isómeros del ácido graso conjugado estarán generalmente presentes y por tanto, el producto contendrá diferentes compuestos ésteres. Típicamente, el producto contiene dichos ésteres en una cantidad del 0,01% al 2% en peso, más preferente de 0,1% al 1% en peso en base al total del ácido graso y sales y ésteres de éste. La determinación del nivel de ésteres en el producto puede llevarse a cabo por métodos conocidos por los expertos en la técnica.

Los productos de la presente invención son apropiados preferentemente para uso en un producto a ingerir, más preferente para uso en un producto comestible, un suplemento alimenticio o un producto farmacéutico.

Los productos de la presente invención pueden utilizarse como tales. Alternativamente, los productos de la presente invención pueden utilizarse como materiales de partida para una modificación posterior, tal como el enriquecimiento de un isómero, tal como el isómero conjugado del ácido linoleico cis-9, trans-11 o el trans-10 y el cis-12.

ES 2 295 783 T3

Los productos de los procesos pueden utilizarse en un producto alimenticio, suplemento alimenticio o producto farmacéutico. Los productos de la invención se utilizan opcionalmente mezclados con una grasa complementaria. Por ejemplo, la mezcla puede contener 0,3-95% en peso, preferentemente 2-80% por peso, más preferente 5-40% en peso del producto de la presente invención y 99,7-5% en peso, preferentemente 98-20% en peso, más preferente 95-60% en peso de una grasa complementaria elegida entre: mantequilla de cacao, equivalentes de la mantequilla de cacao, aceite de palma o fracciones de éste, aceite de palmiche o fracciones de éste, mezclas interesterificadas de dichas grasas o fracciones de éstas, o aceites líquidos, seleccionados entre: aceite de girasol, aceite de girasol altamente oleico, aceite de soya, aceite de semilla de colza, aceite de semilla de algodón, aceite de pescado, aceite de alazor, aceite de alazor altamente oleico, aceite de maíz y aceites MCT. Los productos alimenticios (cuyo término incluye alimentos para animales) contienen una fase grasa, en los que la fase grasa contiene el producto de la presente invención. Los productos alimenticios se seleccionan apropiadamente de entre el grupo que consta de: rellenos, margarinas, cremas, aliños, mayonesas, helados, productos panaderos, alimentos para niños, chocolate, pasteles, salsas, cubiertas, quesos y sopas. Los suplementos alimenticios o productos farmacéuticos pueden tener forma de cápsulas u otras formas, apropiadas para aplicación enteral o parenteral e incluyen un producto de la presente invención.

El producto de la presente invención se describe ahora con referencia a los ejemplos siguientes no limitantes. En los ejemplos y a lo largo de esta solicitud, todos los porcentajes, partes y proporciones se establecen en peso a menos que se indique lo contrario.

Ejemplos

Los ejemplos incluyen la referencia a la Figura 1.

La Figura 1 que muestra la separación por HPLC (por las siglas de la expresión inglesa, *High Pressure Liquid Chromatography*) de DACs utilizando una columna de Sílice de *Econosphere* (150 x 4,6 mm; 3 µm) y Detección por Dispersión Evaporativa de la Luz.

Método General

A un recipiente para presión encamisado de 1 litro se le colocó un agitador mecánico, un conector para nitrógeno y una válvula para extraer la muestra. La temperatura del recipiente se controló mediante un baño de aceite controlado mediante termostato. El tiempo total de calentamiento de la mezcla de reacción fue de aproximadamente 45 minutos.

Los materiales utilizados en el proceso fueron aceite de alazor, base (bolitas de hidróxido de sodio o potasio) y como solventes: etanol (EtOH) o propilenglicol.

Las bolitas de hidróxido, el aceite de alazor y el solvente se añadieron al recipiente de reacción y la mezcla obtenida se calentó hasta la temperatura deseada revolviendo en nitrógeno, a una velocidad promedio. Durante el curso de la reacción, se extrajeron muestras y se sometieron a análisis. Después de 6 horas, la reacción se detuvo enfriando la mezcla de reacción a temperatura ambiente. La mezcla final no se trabajó ulteriormente en términos de separación, secado y destilación.

En las tablas y en los ejemplos se utilizan las siguientes abreviaturas:

	Nombre sistemático	Nombre común
C14:0	Ácido tetradecanoico	Ácido mirístico
C16:0	Ácido hexadecanoico	Ácido palmítico
C16:1C	Ácido cis-9-hexadecenoico	Ácido palmitoléico
C18	Ácido octadecanoico	Ácido esteárico
CLA TT	Ácido total trans-octadecadienoico conjugado	
CL911C	Ácido octadecadienoico cis-9, cis-11	
CL1012	Ácido octadecadienoico cis-10, cis-12	
CL1113	Ácido octadecadienoico cis-11, cis-13	
C18:1C	Ácido octadecenoico cis-9	Ácido oleico
C18:1T	Ácido octadecenoico trans-9	
CLA OX	Ácido octadecadienoico oxidado conjugado	
C18:2T	Ácido octadecadienoico trans-9, trans-12	
C18:2C	Ácido octadecadienoico cis-9, cis-12	Ácido linoleico
C20:0	Ácido eicosoico	Ácido araquídico
C20:1C	Ácido eicosenoico cis-9	Ácido gadoléico
C22:0	Ácido docosoico	Ácido behénico
SAFA	Ácidos grasos saturados	
CT.ISO CLA	Ácido octadecadienoico total cis-9, trans-11 y trans-10, cis-12	
911CT CLA	Ácido octadecadienoico cis-9, trans-11	
1012TC CLA	Ácido octadecadienoico trans-10, cis-12	
TCLA	Ácido octadecadienoico total conjugado	

ES 2 295 783 T3

Ejemplo 1

Se llevó a cabo una comparación entre reacciones realizadas en un 96% de etanol (según la presente invención) y 99,9% de etanol (etanol seco, ejemplo comparativo). Ambas reacciones se catalizaron mediante hidróxido de sodio, utilizado en forma de pequeñas bolas secas. El aceite de alazor se utilizó como fuente del ácido linoleico. La mezcla extraída a t=0 h es la primera muestra tomada al alcanzar la temperatura deseada:

Condiciones de reacción:

10	Aceite de alazor	275 ml
	NaOH	66,45 g
15	96% o EtOH seco	275 ml
	Temperatura °C	150
	Presión	1 x 10 ⁶ N.M ⁻² (10 bar).
20	% [H ₂ O]	12,9* para el ejemplo que utiliza 96% EtOH 0 para el ejemplo que utiliza 99,9% EtOH

* El balance de agua adicional se añadió a los pelets de hidróxido de sodio seco antes de la reacción.

25 Se analizó la mezcla de reacción mediante el método de éster metílico de ácido graso (FAME) utilizando cromatografía gaseosa.

Los resultados del proceso utilizando etanol al 96% se presentan en la siguiente tabla:

30

Tiempo [h]		0	1	2	3	4	5	6
C14:0	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C16:0	0,1	5,3	5,3	5,2	5,3	5,3	5,2	5,3
C16:1C	5,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C18:0	2,2	2,2	2,2	2,2	2,3	2,2	2,2	2,2
CLA TT	0	0,1	0,2	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
CL911 C	0	0,1	0,4	0,7	0,8	0,8	0,9	0,9
CL1012	0	0,1	0,4	0,6	0,7	0,8	0,8	0,9
CL1113	0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
C18:1C	10,5	10,4	10,4	10,5	10,6	10,5	10,5	10,4
CLA OX	0	0,1	0,2	0,2	0,4	0,3	0,3	0,4
C18:2T	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,4	0,5	0,6
C18:2C	80,3	66,1	40,5	23,1	12,5	7,3	4	2,7
C20:0	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3
C20:1 C	0,2	0,2	0,2		0,2	0,2	0,2	0,2
C22:0	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
SAFA		8,2	8,2	8,2	8,4	8,3	8,3	8,3
CT.ISO CLA	0	13,8	38,8	55,6	65,5	70,5	73,5	74,4
911CT CLA	0	6,9	19,3	27,7	32,6	35,1	36,6	37,1
1012TC CLA	0	6,9	19,5	28	32,8	35,4	36,8	37,3
TCLA	0	14,2	39,7	57,5	67,9	73,1	76,3	77,6
Otros		0,3	0,6	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

65

ES 2 295 783 T3

Los resultados del proceso utilizando etanol al 99,9% se muestran en la tabla siguiente:

Tiempo [h]	0	1	2	3	4	5	6
C14:0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C16:0	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3
C 1 6:1 C	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C18:0	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2
CLA TT	0,2	0,3	0,4	0,5	0,7	0,8	1
CL911	0,3	0,7	0,9	1	1	1	1,1
CL1012		0,6	0,7	0,8	0,9	0,9	0,9
CL1113	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,4	0,6
C18:1C	10,4	10,5	10,5	10,4	10,4	10,5	10,4
CLA OX		0,3	0,4	0,3	0,4	0,2	0,2
C18:2T	0,3	0,4	0,5	0,5	0,6	0,7	0,8
C18:2C	57,3	21,9	7,9	2,9	1,3	0,7	0,4
C20:0	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,3	0,3
C20:1C	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
C22:0	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
SAFA	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3	8,2
CT.ISO CLA	22,2	56,5	69,9	74,5	75,7	76,2	76
911 CT CLA	11,1	28,3	35,1	37,4	38	38,4	38,2
1012TC CLA	11,1	28,1	34,9	37,1	37,7	37,8	37,7
TCLA	22,7	58,5	72,5	77,4	78,9	79,4	79,6
Otros	0,6	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2

Cuando se utilizó el etanol al 96% con adición de agua extra, el 96,6% de C18:2c se convirtió en 6 horas. Utilizando el etanol seco arrojó una conversión de 99,5% en 6 horas. Sin embargo, la mezcla de reacción con el contenido de agua menor, produjo cantidades superiores del isómero conjugado trans, trans, era muy viscosa y difícil de revolver, así como de extraer las muestras.

Ejemplo 2

Se llevó a cabo un experimento para comparar los procesos realizados utilizando etanol (EtOH) (según la presente invención) y propilenglicol (MPG) (ejemplo comparativo). Estas reacciones se catalizaron mediante hidróxido de potasio. Se utilizó el aceite de alazor como fuente de ácido linoleico. El agua en el sistema proviene del hidróxido de potasio utilizado.

Condiciones de reacción:

Aceite de alazor 275 ml

Pelets de KOH 108 g

EtOH o MPG 275 ml

Temperatura 150°C

Presión 1 - 1,2 x 10⁶N.M⁻²(bar 10-12)

% (H₂O) EtOH MPG

14,6 5,7

Mol. KOH: mol aceite 1,79 1,89.

ES 2 295 783 T3

Los resultados del análisis FAME de la reacción en etanol fueron como sigue:

Tiempo [h]	0	1	2	3	4	5	6
C14: 0	0,1 1	0,1	0,1	0,1 1	0,1	0,1	0,1
C16: 0	5,5	5,3	5,3	5,3	5,3	5,4	5,4
C16: 1C	0,1 1	0,1 1	0,1	0,1 1	0,1 1	0,1 1	0,1
C 18: 0	2,2	2,3	2,2	2,2	2,3	2,3	2,3
CLA_ TT	0	0,5	0,9	1,2	1,6	1,8	2,2
CL911C	0	0,9	0,9	1	1	1	1
CL1012	0	0,8	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
CL1113	0	0,2	0,3	0,3	0,4	0,4	0,6
C18: 1T	0,1	0	0	0	0,1	0	0,1
C18: 1C	10,5	10,5	10,4	10,5	10,5	10,5	10,4
CLA OX	0	0,3	0,2	0,2		0,2	0,2
C18: 2T	0,3	0,6	0,8	1	1,1	1,1	1,2
C18: 2C	80,3	2,8	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3
C20: 0	0,2	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
C20: 1C	0,3	0,2	0,2	0	0,2	0,2	0,2
C22: 0		0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
SAFA	8,5	8,4	8,3	8,3	8,4	8,4	8,4
CT,ISO CLA	0	74,6	76,3	76	75,1	75	74,3
911CT CLA	0	36,9	37,7	37,5	37,3	37,2	37
1012TC CLA	0	37,6	38,7	38,4	37,9	37,8	37,3
TCLA	0	77,3	79,6	79,5	79	79,3	79,2
Otros		0,1	0,1	0,3	0,3	0,1	0,1

(Tabla pasa a página siguiente)

ES 2 295 783 T3

Los resultados del análisis por FAME de la reacción en propilenglicol fueron como sigue:

Time [hr]	0	1	2	3	4	5	6
C14: 0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C16: 0	5,5	5,4	5,5	5,8	5,5	5,6	5,6
C16: 1C	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C18: 0	2,2	2,3	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2
CLA TT	0	0,2	0,3	0,4	0,5	0,7	0,8
CL911C	0	0,6	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9
CL1012	0	0,6	0,8	0,8	0,9	0,9	0,9
CL1113	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
C18: 1T	0,1	0,1	0	0	0	0,1	0,1
C18: 1C	10,5	10,4	10,5	10,6	10,5	10,5	10,6
CLA OX	0	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3
C18: 2T	0,3		0,5	0,6	0,6	0,7	0,8
C18: 2C	80,3	20,3	7,5	2,7	1,3	0,7	0,5
C20:0	0,2	0,4	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4
C20:1 C	0,3	0,2	0	0	0	0	0
C22:0		0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
SAFA	8,1	8,5	8,6	8,8	8,6	8,6	8,6
CT.ISO CLA	0	58,7	70,2	74,4	75,8	75,9	75,7
911 CT CLA	0	28,9	34,6	36,8	37,4	37,5	37,5
1012TC CLA	0	29,8	35,6	37,6	38,4	38,3	38,2
TCLA	0	60,4	72,6	77	78,6	79	79,1

Quando se utilizó el etanol al 96% como solvente, se convirtió el 99,5% del C18:2c en 2 horas. El uso del propilenglicol arrojó una conversión del 90,7% en 2 horas. La conversión al 99,4% se obtuvo solamente después de revolver la mezcla durante 5 horas.

Ejemplo 3

Se llevó a cabo una serie de cinco experimentos utilizando aceite de alazor (300 g), bolitas de hidróxido de potasio y etanol al 96% (250 ml) como el solvente. La cantidad de hidróxido de potasio varió (72,6 g, 77,5 g, 85,3 g, 103 g y 120,6 g). Como las pequeñas bolas utilizadas contenían alrededor del 15% de agua, también varió el contenido de agua como resultado de variar la cantidad de hidróxido de potasio.

La cantidad de agua utilizada en las muestras fue del 10,9%, 11,3%, 11,9%, 13,3% y 14,6%. Una medición de la conversión del ácido linoleico mostró que la velocidad de reacción aumentaba al incrementar el contenido de agua, a estos niveles del contenido de agua.

Ejemplo 4

(Ejemplo Comparativo)

Se llevó a cabo un ejemplo comparativo para mostrar la formación de isómeros trans, trans a temperaturas fuera del intervalo reivindicado.

El aceite de alazor (200 g), la sosa cáustica (45 g) y el alcohol etílico al 95-97% (450 ml) se calentaron a una presión de $3-3.2 \times 10^6 \text{ N.M}^{-1}$ (30-32 bar) a 210-215°C durante 4 horas. Las muestras de la mezcla de reacción se

ES 2 295 783 T3

tomaron al principio de la reacción, y a las 2 y 4 horas. La mezcla de reacción se analizó por el método del éster metílico de ácido graso (FAME) usando cromatografía de gases. Los resultados para los isómeros conjugados trans, trans, son los siguientes

5	0 horas	0,9%
	2 horas	13,6%
	4 horas	20,9%

10

Ejemplo 5

Análisis de DACs

15

Se analizó un producto según la presente invención y se encontró que contenía 23 ppm de DACs.

Se analizaron siete productos disponibles comercialmente respecto a su contenido de DAC. Los resultados fueron como sigue:

20

Muestra	DACs (ppm)
Invención	23
Producto comercial 1	411
Producto comercial 2	142
Producto comercial 3	135
Producto comercial 4	2365
Producto comercial 5	4118
Producto comercial 6	4713
Producto comercial 7	5340

25

30

35

El siguiente es un método general que se utiliza para el análisis de DACs.

40 *Análisis de Dialquil-cetonas (DACs)*

La muestra se saponifica con una solución etanólica de hidróxido de potasio. Los compuestos no saponificables se extraen con éter de petróleo. Después del lavado se evapora el solvente y el residuo se disuelve en una mezcla de tolueno y hexano. Esta solución se analiza en un sistema HPLC de fase directa en sílice con Detección Evaporativa por Dispersión de la Luz.

45

Reactantes y materiales

50	Etanol	(grado analítico)
	Hidróxido de potasio	(grado analítico)
	Éter de petróleo	(40-65)
55	Agua destilada	
	Cloruro de sodio	(grado analítico)
60	Hexano	(grado analítico)
	Tolueno	(grado analítico)
	Acetato de etilo	(grado analítico)
65	Ácido fórmico	(grado analítico)

ES 2 295 783 T3

2M KOH etanólica: se disuelven 35 gramos KOH en 25 ml de agua bajo flujo suave de nitrógeno. Se permite que la solución se enfríe a temperatura ambiente y diluye con etanol a 250 ml.

5 Solución primaria de DAC: se pesa 25 mg de DAC en un recipiente de 100 ml. Se disuelve el material en una mezcla de tolueno/hexano (1:1). Se registra el peso del solvente.

Dilución 1 de DAC: Pipeta de 2 ml de la solución primaria en un recipiente de 10 ml y se registra el peso de la solución. Diluir con tolueno/hexano (1:1) y registrar el peso del solvente.

10 Dilución 2 de DAC: Pipeta de 2 ml de la dilución 1 de DAC en un recipiente de 10 ml y registrar el peso de la solución. Se diluye con tolueno/hexano (1:1) y se registra el peso del solvente.

Aparatos y equipamiento

15 Tubo de pruebas de 20 ml con tapa roscada

Pipeta Eppendorf de 1000 μ l

20 Balanza analítica

Agitador

25 Viales de 2 y 24 ml

Bloque de calentamiento.

Pretratamiento

30 La muestra tiene que calentarse hasta fusión total. Evitar el sobrecalentamiento de la muestra. En este estado la muestra debe estar clara. Debe eliminarse la humedad añadiendo Na_2SO_4 .

Curva de calibración

35 Transferir parte de las soluciones DAC diluidas 1 y 2 a viales de auto muestreo para la HPLC. Llenar un vial con parte de la mezcla de hexano/tolueno (1:1) para utilizarla como referencia. Establecer el auto muestreo para inyectar la siguiente secuencia: referencia (20 μ l); solución DAC 2 (20, 40, 60 y 80 μ l), solución DAC 1 (20, 40, 60 y 80 μ l).
40 Establecer una curva de calibración trazando la cantidad de DAC *versus* el área pico (ver: Cuantificación).

Saponificación

45 Medir 1000 μ l de la muestra en un tubo de ensayo y registrar el peso. Añadir 10 ml de solución etanólica 2N de KOH y algunas piedras hirvientes. Cerrar el vial firmemente y calentar la solución durante 20 minutos a 90°C. Enfriar el tubo de ensayo a temperatura ambiente, añadir aproximadamente 10 ml de agua y agitar. De ser necesario, la muestra puede calentarse para disolver la sustancia jabonosa.

50 Añadir 5 ml de éter de petróleo y mezclar la solución varias veces con una mezcladora. Medir en una pipeta unos cuantos ml de una solución acuosa saturada de NaCl para obtener una separación clara. Transferir la capa completa de éter de petróleo a un segundo tubo de ensayo. Repetir la extracción dos veces y recolectar todo el éter de petróleo en un tubo de ensayo secundario.

55 Añadir 10 ml de una solución de agua/etanol (1:1) al éter de petróleo combinado y mezclar la solución varias veces con ayuda de una agitadora. Esperar hasta que las dos capas sean visibles antes de añadir 2 x 2 ml de una solución acuosa saturada de NaCl. Transferir la capa superior a un tercer tubo de ensayo de 20 ml y repetir el paso de lavado. Finalmente, transferir la capa de éter de petróleo cuidadosamente a un vial de 20 ml. Colocar el recipiente en un bloque de calentamiento y evaporar el solvente en un flujo suave de nitrógeno. Medir en la pipeta exactamente 4 ml de una
60 mezcla de tolueno/hexano (1:1) en el recipiente y disolver el residuo. Transferir parte de la solución de la muestra a un recipiente de auto muestreo para HPLC.

65

ES 2 295 783 T3

Análisis por HPLC

Las muestras se analizan mediante un sistema HPLC en las siguientes condiciones:

5 Solventes:

A: hexano

B: acetato de etilo

10

C: tolueno (2,5 ml/l de ácido fórmico).

15

Todos los solventes deben ser de grado para HPLC con excepción del ácido fórmico. Mezclar el ácido fórmico totalmente para asegurar que esté bien disuelto.

TABLA

20 *Gradiente empleado en la HPLC para la separación de DAC en no saponificables utilizando una columna Econosphere de Alltech con Sílice para HPLC (150 x 4,6 mm; 3 μm)*

20

Tiempo (min)	Flujo (ml/min)	Solvente			Curva
		A	B	C	
25 0	0,9	50	0	50	6
5	0,9	50	0	50	6
8	0,9	0	25	75	6
30 10	0,9	0	25	75	6
13	0,9	50	0	50	6
25	0,9	50	0	50	6

35

Flujo: 0,9 ml/min

Tiempo del análisis: 25 min.

40

Volumen de inyección: 20 μl.

Detector: ELSD (tubo de deriva: 75°C; nebulizador: 1,75 SLPM nitrógeno).

45

Cuantificación

50

Identificación del pico: véase la Figura 1 que muestra la separación HPLC de la DAC en no saponificables utilizando la columna de *Econosphere* de sílice (150 x 4,6 mm; 3 μm) y la Detección Evaporativa por Dispersión de la Luz.

Cálculo

55

Calcular la cantidad de DAC que ha sido inyectada expresada en ng. Establecer una curva de calibración mediante trazado del área del pico (y) contra la cantidad calculada de DAC (x) utilizando la ecuación siguiente: La cantidad de DAC presente en la muestra (DAC (ng)) puede encontrarse por interpolación del área del pico en la curva de calibración.

60

$$y = a \times x^c$$

La cantidad de DAC puede calcularse mediante:

65

$$\text{DAC(mg/kg)} = (\text{DAC(ng)} \times V(\text{ml})) \div (v(\mu\text{l}) \times \text{muestra (g)})$$

Referencias citadas en la descripción

Esta lista de referencias citadas por el solicitante es solamente para conveniencia del lector. No forma parte del documento de la patente europea. Aunque se ha tomado gran cuidado en la compilación de las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la CEP desconoce cualquier responsabilidad en este sentido.

Documentos de patentes citados en la descripción

- PE 0 799 033 A
- WO 9 746 230 A
- PE 0 839 897 A
- PE 0 902 082 A
- EE.UU. 2 242 230 A
- EE.UU. 6 479 683 B
- WO 9 718 320 A

Literatura no asociada a patentes citada en la descripción

- **SASTRY** *et al.* Isomerised Safflower Oil. *Paint Manufacture*, 01 August 1970, vol. 40 (8), 32-34.
- **MOORE**. Spectroscopic changes in fatty acids. *Biochemical Journal*, 1937, vol. 31, 138-154.

ES 2 295 783 T3

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un proceso para la producción de un ácido graso conjugado di- o poli-insaturado que tiene de 12 a 24 átomos de carbono, o una sal o éster de éste, que comprende la reacción de un ácido graso libre no conjugado, o una sal o éster de éste, con una base en presencia de un solvente que comprenda un alcohol monohídrico que tenga de 1 a 6 átomos de carbono, en el que la reacción se lleva a cabo a una temperatura de 120°C a 200°C en presencia de agua en una cantidad de al menos 4% en peso en base al alcohol.
- 10 2. Proceso tal como se reivindica en la Reivindicación 1, en el que el alcohol se selecciona entre etanol, metano) y mezclas de éstos.
3. Proceso tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la base es un hidróxido de metal alcalino seleccionado entre hidróxido de potasio, hidróxido de sodio y mezclas de éstos.
- 15 4. Proceso tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la cantidad de agua es del 5% al 35% en peso en base al alcohol.
- 20 5. Proceso tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la cantidad de agua es del 10% al 30% en peso en base al alcohol.
- 25 6. Proceso tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el ácido graso conjugado contiene menos del 5% en peso, preferentemente menos del 3% en peso, más preferente menos del 1% en peso de isómeros trans, trans.
- 30 7. Proceso tal como se reivindica en la Reivindicación 6, en el que la reacción se lleva a cabo a una temperatura de 140°C a 180°C.
8. Proceso tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la relación molar de la base al ácido graso libre no conjugado, o sal o éster de éste, es de 1,07 a 3,5, más preferente de 1,2 a 2,5, aún más preferente de 1,3 a 1,6.
- 35 9. Proceso tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el ácido graso libre no conjugado, o sal o éster de éste, se selecciona entre el grupo que consta de aceites vegetales, ácidos libres derivados de estos aceites, y ésteres de alquilos C₁, a C₆ de estos ácidos libres.
- 40 10. Proceso tal como se reivindica en la Reivindicación 9, en el que el aceite vegetal se selecciona entre aceite de girasol, aceite de semilla de colza, aceite de soya, aceite de alazor, aceite de semillas de linaza y mezclas de éstos.
- 45 11. Proceso tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el ácido graso no conjugado y el ácido graso conjugado son ácidos grasos C18:2.
12. Proceso tal como se reivindica en la Reivindicación 11, en el que el proceso se lleva a cabo durante un tiempo y a una temperatura para formar un producto que comprenda más del 70% en peso, más preferente más del 80% en peso, en base al ácido graso total y sal y éster de éste, de isómeros cis- 9, trans-11 y trans-10, y cis-12 del ácido graso conjugado.
- 50 13. Proceso tal como se reivindica en la Reivindicación 11 o la Reivindicación 12, en el que el proceso se lleva a cabo durante un tiempo y a una temperatura para formar un producto que comprenda menos del 3% en peso de ácido linoleico y sales y ésteres de éste, en base al total del ácido graso y sales de éste.
- 55 14. Proceso tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además la separación del ácido graso conjugado de la mezcla de reacción mediante un método que comprenda el tratamiento con un ácido y la separación de la fase acuosa de la fase orgánica.
- 60 15. Proceso tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes que comprende además el paso de purificación del ácido graso conjugado.
16. Proceso tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes que comprende además el paso de formación de un mono-, di- o triglicérido del ácido graso conjugado.
17. Producto del proceso de una cualquiera de las Reivindicaciones de la 1 a la 16.
- 65 18. Producto según la Reivindicación 17 que comprende un ácido graso conjugado di- o poli- insaturado que tiene de 12 a 24 átomos de carbono, o una sal o un éster de éste y que contiene dialquil-cetonas en una cantidad menor que 100 ppm, y ésteres del ácido graso conjugado con el alcohol monohídrico.

ES 2 295 783 T3

19. Producto tal como se reivindica en la Reivindicación 18, en el que las dialquil- cetonas están presentes en una cantidad menor que 50 ppm.

5 20. Producto tal como se reivindica en la Reivindicación 18 o la Reivindicación 19, el que contiene dichos ésteres en una cantidad de 0,01% a 2% en peso.

21. Producto tal como se reivindica en una cualquiera de las Reivindicaciones de la 18 a la 20, en el que los ésteres son ésteres de etilo.

10 22. Producto tal como se reivindica en una cualquiera de las Reivindicaciones de la 18 a la 21, en el que el ácido graso conjugado es ácido linoleico conjugado.

15 23. Producto tal como se reivindica en la Reivindicación 22, que comprende menos del 5% en peso de isómeros trans, trans del ácido linoleico conjugado.

24. Producto tal como se reivindica en una cualquiera de las Reivindicaciones de la 18 a la 23, el cual se puede obtener mediante el proceso de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a la 16.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

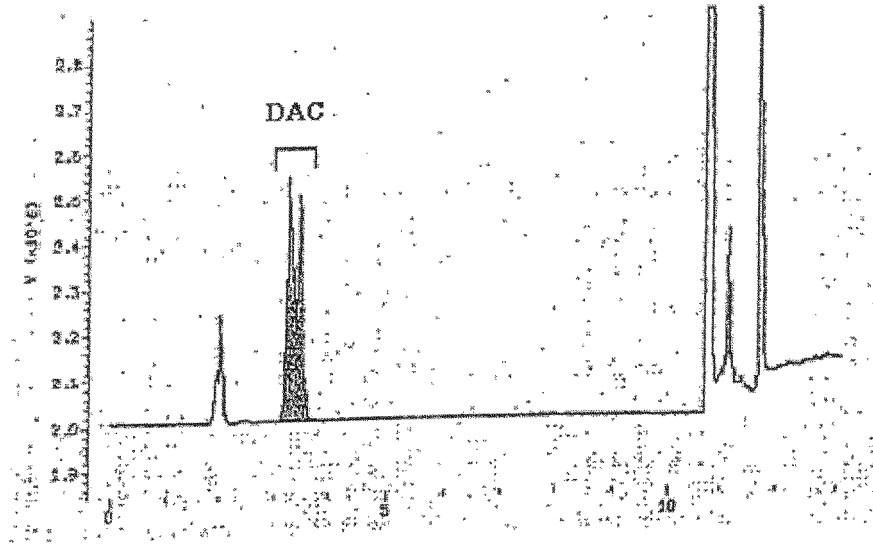


Figura 1