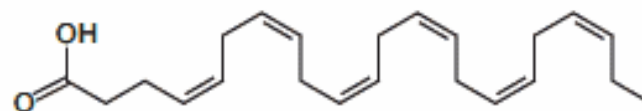
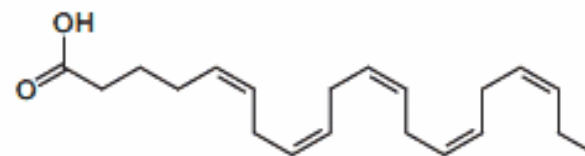




Tecnologías para el enriquecimiento de aceites de pescado en EPA y DHA



DHA (22:6n-3)



EPA (20:5n-3)

José Luis Guil Guerrero

Área de Tecnología de Alimentos
Universidad de Almería





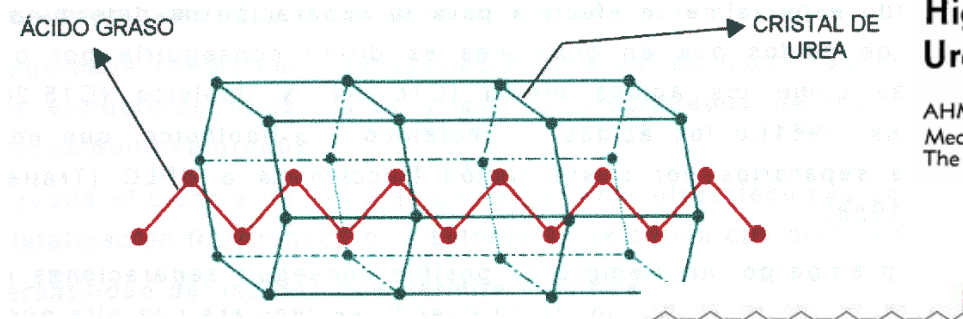
Vs.



	EPA+DHA%	Ventajas	Inconvenientes
ACEITE	≈25	- Estructura de triglicérido - Menor alteración - Más barato - ¿Presencia de insaponificable/colecsterol?	- Más calorías/dosis - Sensorialmente pobre - ¿Metales pesados? - ¿Presencia de insaponificable/colecsterol?
CONCENTRADO	≈40-90	- Menos calorías - Ausencia de metales pesados - Eliminación de saturados	- Mayor coste - Posibilidad de alteración oxidativa - No suele estar en forma de triglicéridos
PURIFICADO	≈ 100% EPA ó DHA	Se trata de un producto para ensayos farmacológicos, tratamientos de algunos casos de cáncer, o de uso como reactivo de laboratorio	

Un poco de historia...

Uno de los primeros procedimientos para concentrar EPA y /o DHA fue el método de formación de cristales con urea



Highly Unsaturated Fatty Acids. II. Fractionation by Urea Inclusion Compounds¹

AHMED M. ABU-NASR,^{1,2} WILLIAM M. POTTS, and RALPH T. HOLMAN,² Agricultural and Mechanical College of Texas, College Station, Texas, and The Hormel Institute, Austin, Minnesota

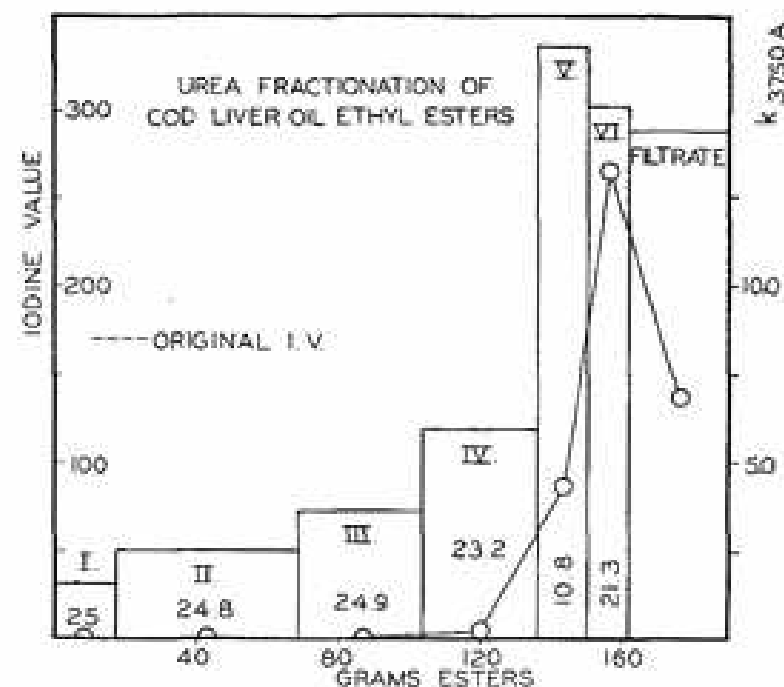
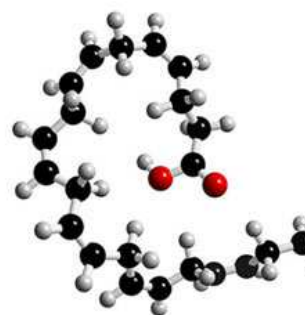


FIG. 1. Urea fractionation of cod liver oil ethyl esters. Widths of bars indicate weights of fractions, heights indicate iodine values. Circles indicate relative hexaene acid content as measured at 3750 Å after alkaline isomerization. Numbers within bars refer to ester content (%) of total precipitate.

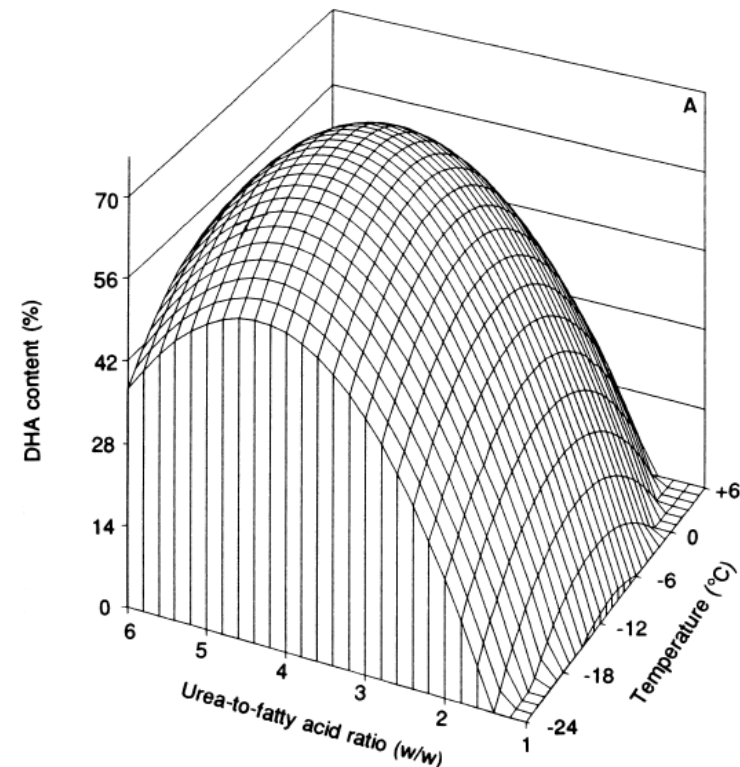
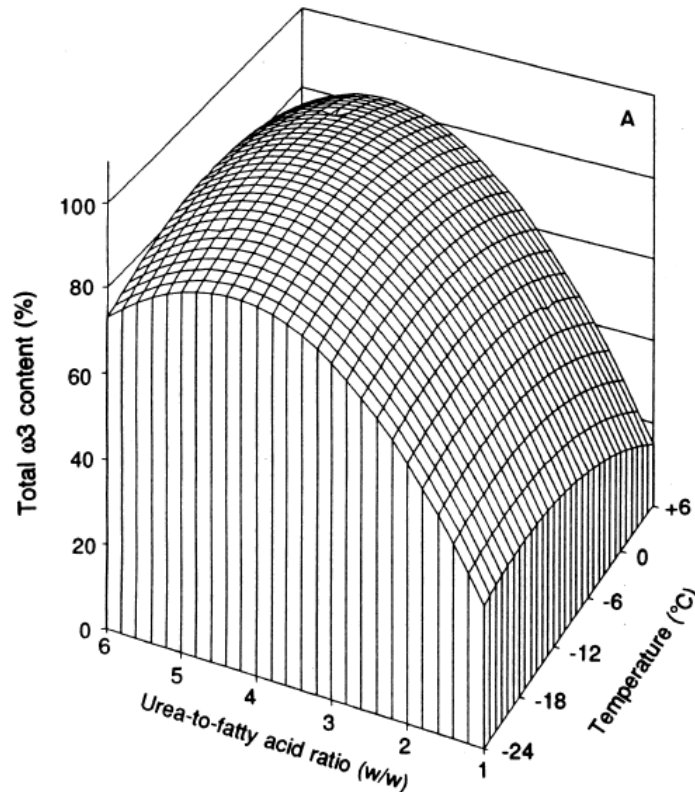
JAN. 1954

Concentration of omega 3-polyunsaturated fatty acids of seal blubber oil by urea complexation: optimization of reaction conditions

Food Chemistry 65 (1999) 41–49

Udaya N. Wanasundara, Fereidoon Shahidi*

Response Surface Methodology



Canas BI, Yurawecz MP (1999) Ethyl carbamate formation during urea complexation for fractionation of fatty acids. J Am Oil Chem Soc 76:537

Proceso tóxico debido a la presencia de metil / etil-carbamatos

- 14223** *Real Decreto 1101/2011, de 22 de julio, por el que se aprueba la lista positiva de los disolventes de extracción que se pueden utilizar en la fabricación de productos alimenticios y de sus ingredientes.*

ANEXO

Disolventes de extracción cuya utilización está autorizada para el tratamiento de materias primas, de productos alimenticios o de componentes de productos alimenticios o de sus ingredientes

PARTE I

Disolventes de extracción que pueden utilizarse respetando las buenas prácticas de fabricación para todos los usos (1)

Nombre:

Propano.

Butano.

Acetato de etilo.

Etanol.

Anhídrido carbónico.

Acetona (2).

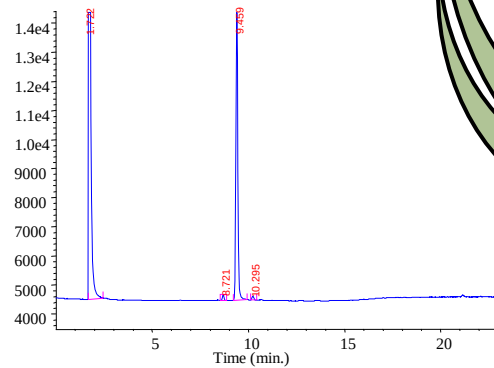
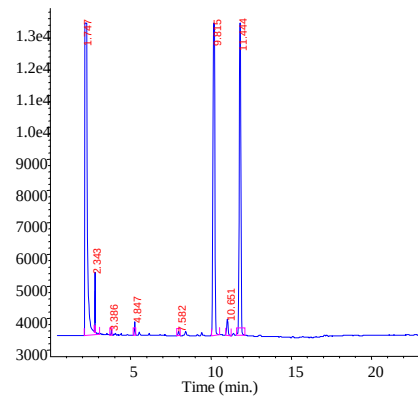
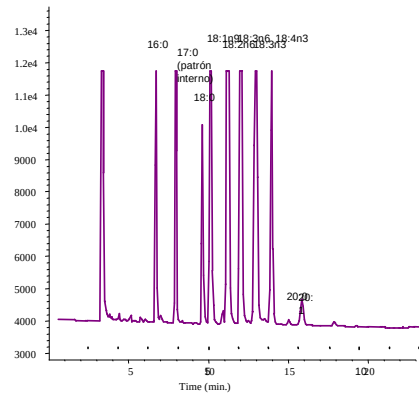
Protóxido de nitrógeno.

14223 *Real Decreto 1101/2011, de 22 de julio, por el que se aprueba la lista positiva de los disolventes de extracción que se pueden utilizar en la fabricación de productos alimenticios y de sus ingredientes.*

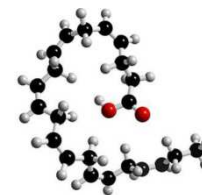
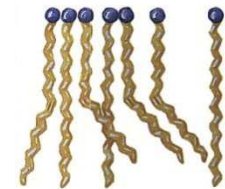
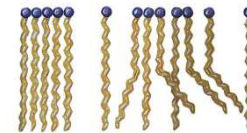
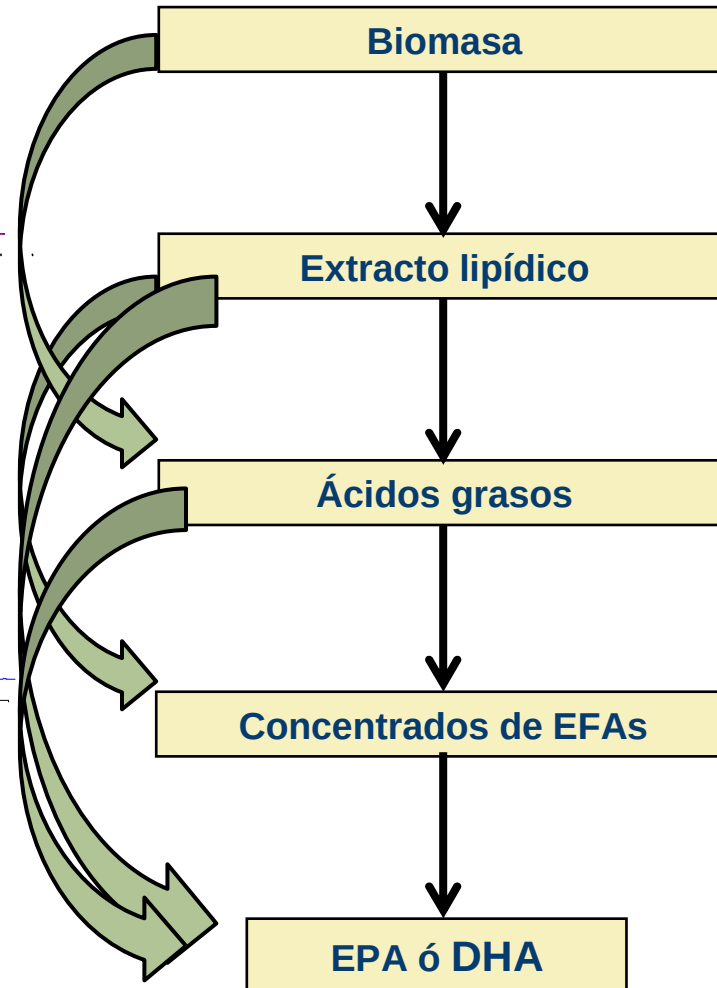
Disolventes de extracción cuyas condiciones de utilización se especifican

Nombre	Condiciones de utilización (descripción sucinta de la extracción)	Residuos máximos en los productos alimenticios o en los ingredientes extraídos	Observaciones
Hexano.	Producción o fraccionamiento de grasas y de aceites y producción de manteca de cacao.	1 mg/kg en la grasa, en el aceite o en la manteca de cacao.	Producto comercial compuesto esencialmente de hidrocarburos acíclicos saturados que contiene 6 átomos de carbono y se destila entre 64 °C y 70 °C. Se prohíbe el empleo conjunto de hexano y metiletilcetona.
	Preparación de productos a base de proteínas desgrasadas y harinas desgrasadas.	10 mg/kg en los productos alimenticios que contengan el producto a base de proteínas desgrasadas y en las harinas desgrasadas.	
		30 mg/kg en los productos desgrasados de soja tal como se venden al consumidor final.	
	Preparación de semillas de cereales desgrasados.	5 mg/kg en las semillas de cereales desgrasados.	
Acetato de metilo	Descafeinado o supresión de los elementos irritantes y amargos del café y del té.	20 mg/kg en el café o en el té.	
	Producción de azúcar a partir de melazas.	1 mg/kg en el azúcar.	
Metiletilcetona	Fraccionamiento de grasas y aceites.	5 mg/kg en la grasa o en el aceite.	El nivel de hexano en este disolvente no deberá exceder 50 mg/kg. Se prohíbe el empleo conjunto de hexano y metiletilcetona.
	Descafeinado o supresión de los elementos irritantes y amargos del café y del té.	20 mg/kg en el café o en el té.	
Diclorometano	Descafeinado o supresión de los elementos irritantes y amargos del café y del té.	2 mg/kg en el café torrefacto y 5 mg/kg en el té.	
Metanol	Todos los usos.	10 mg/kg.	
Propan-2-ol	Todos los usos.	10 mg/kg.	
Éter dimetilico	Preparación de productos a base de proteínas animales desgrasadas.	0,009 mg/kg en el producto a base de proteínas desgrasadas.	

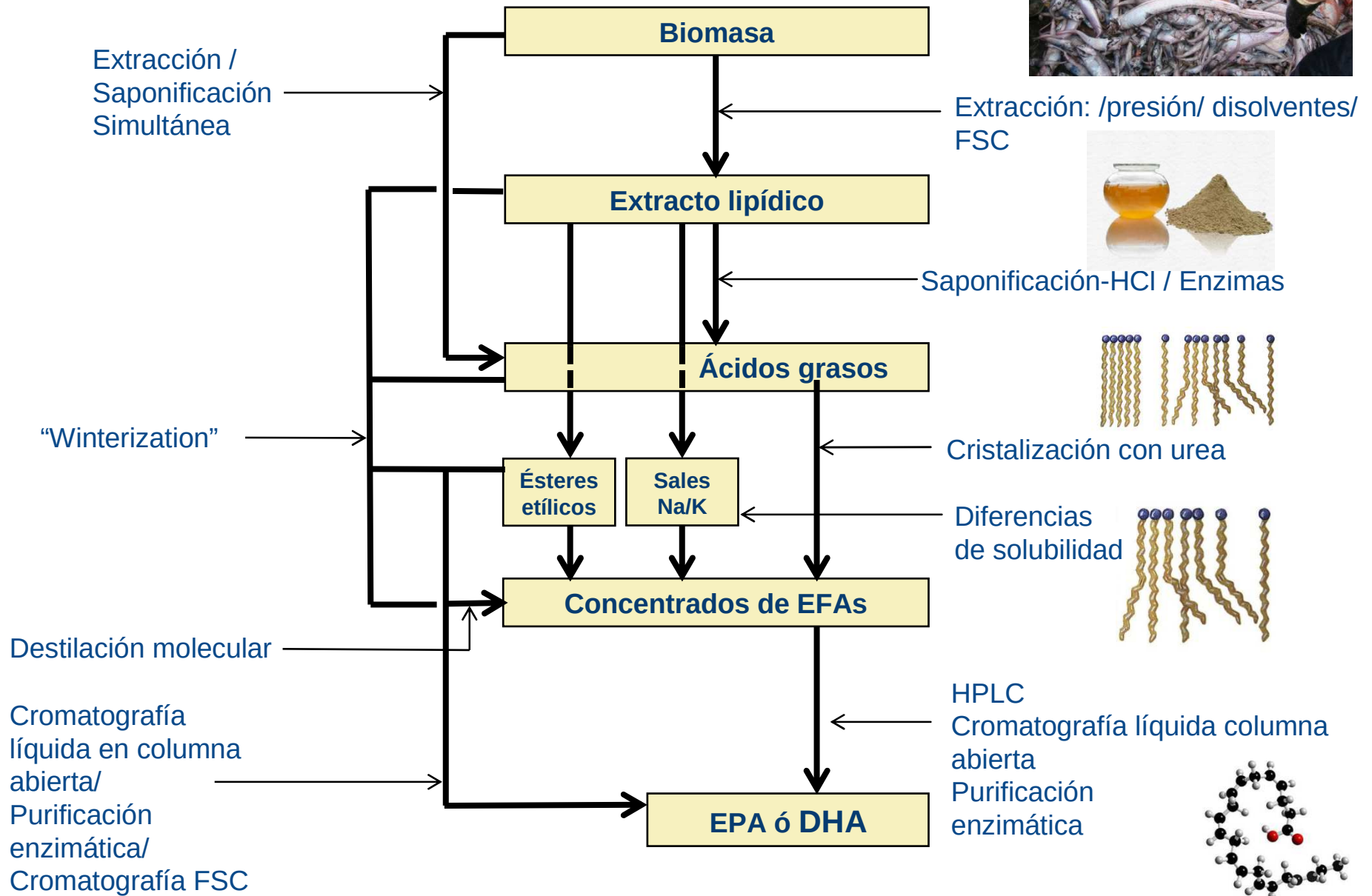
Obtención de EPA / DHA



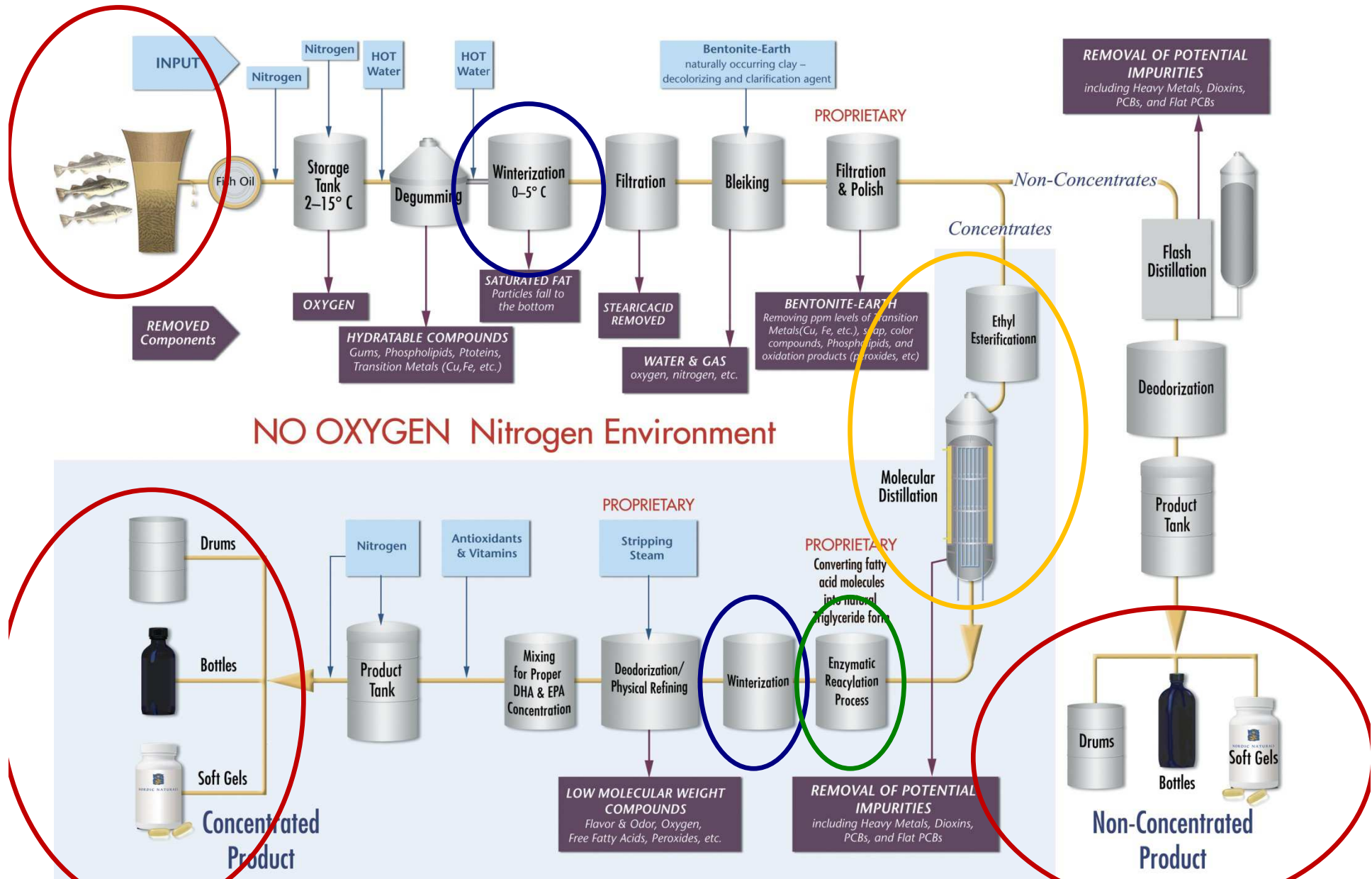
EFA 98% pureza



Obtención de EFAs



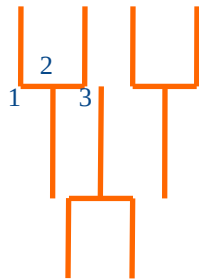
Procesado de pescado para obtener concentrados de DHA y EPA



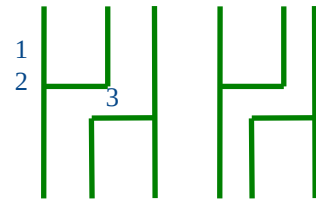
Concentración de EPA/DHA: “Winterization”



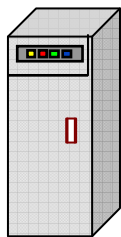
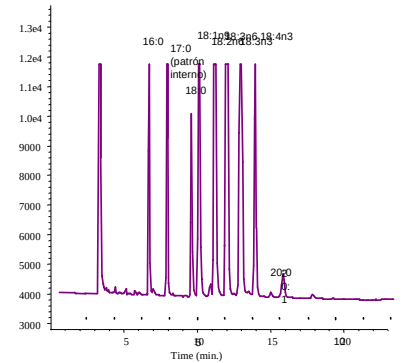
Aceite pescado + Solvente {
• *Acetona*
• *Hexano*



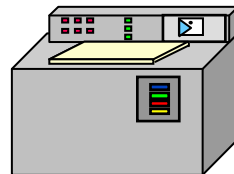
β'



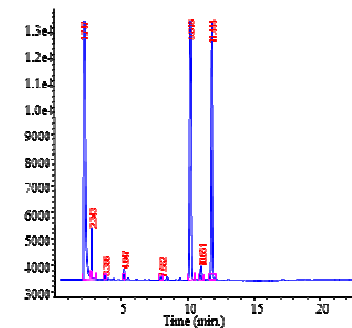
β

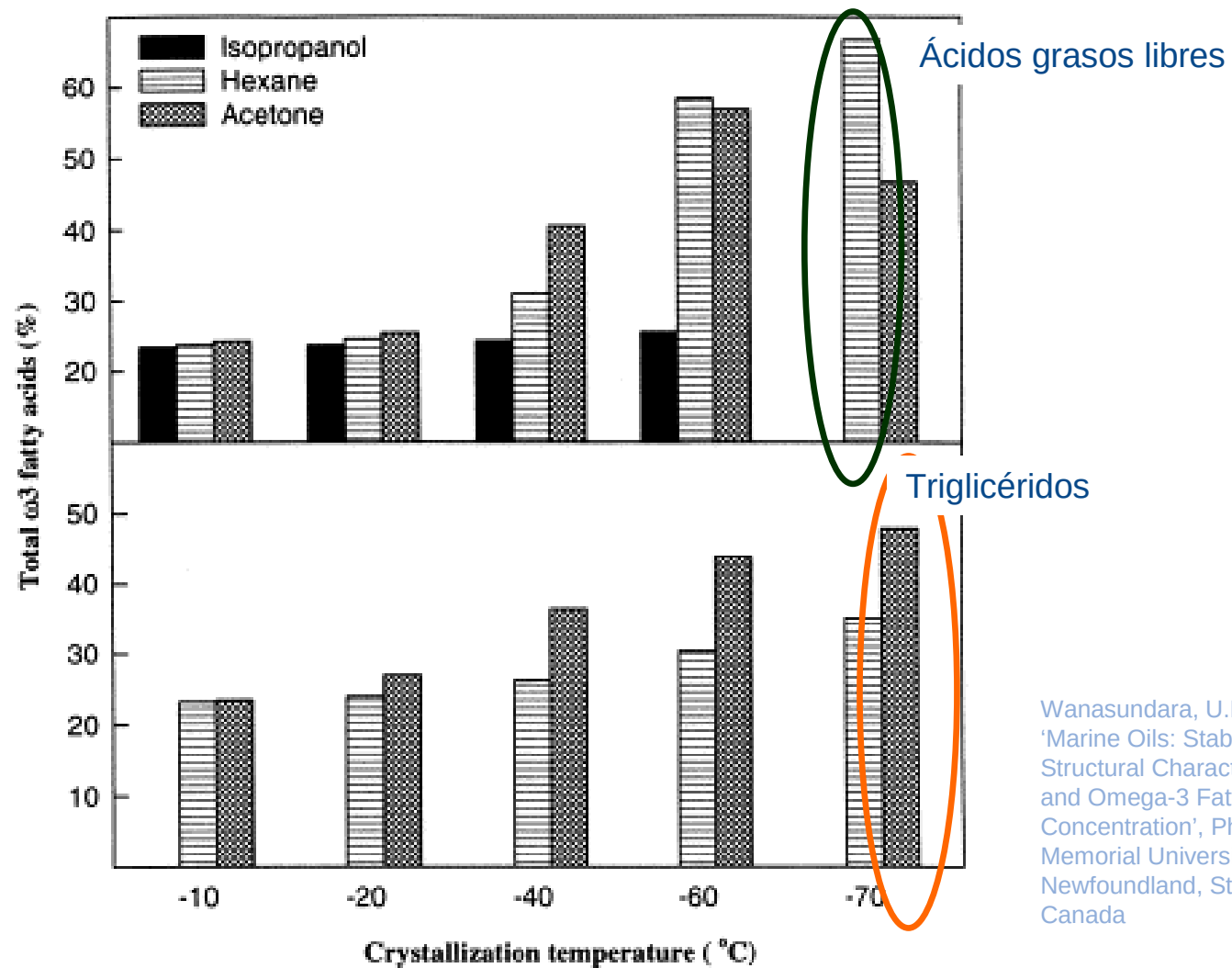


Cristalización (-70 a 4° C)



Centrifugación
10 min, 6.000 Xg

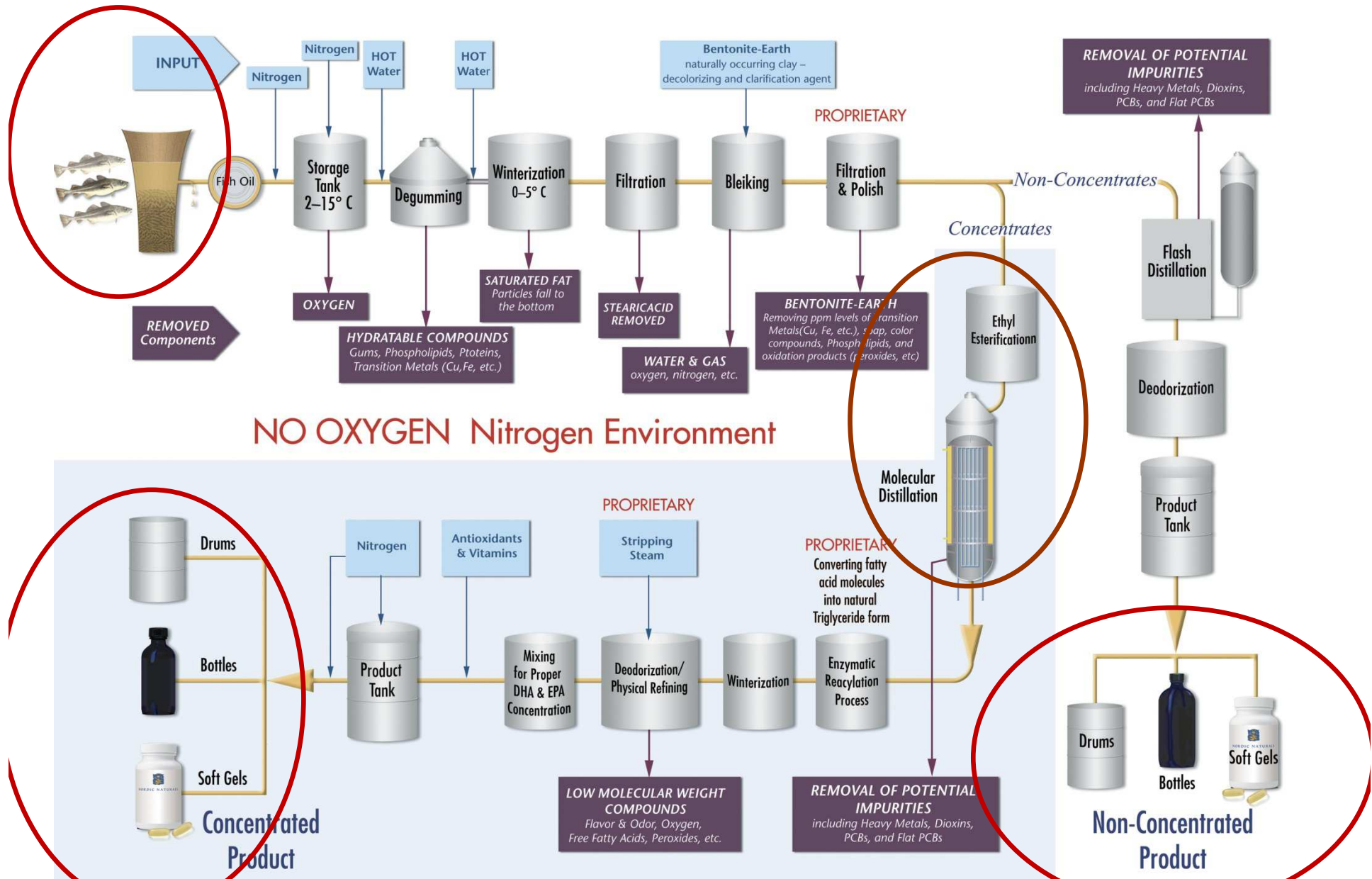




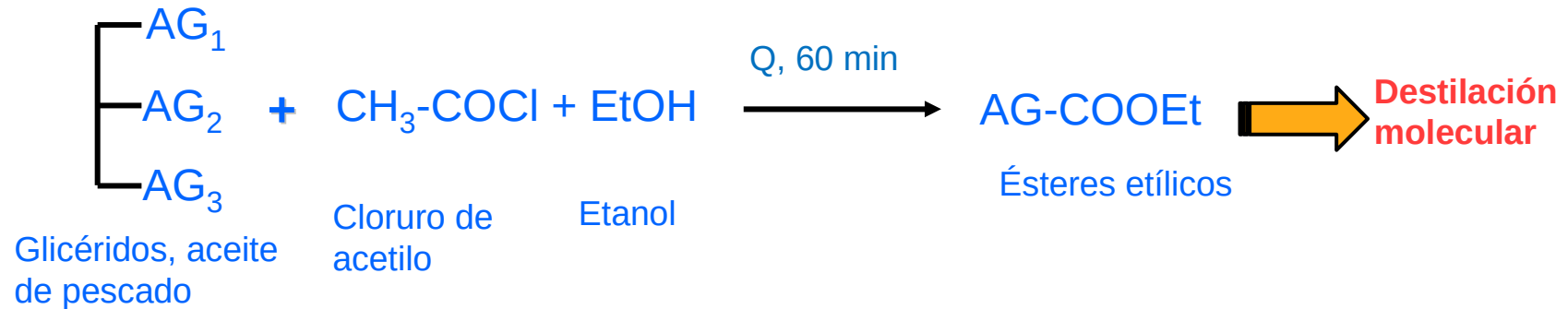
Wanasundara, U.N. (1996)
 'Marine Oils: Stabilization,
 Structural Characterization
 and Omega-3 Fatty Acid
 Concentration', Ph.D. thesis,
 Memorial University of
 Newfoundland, St. John's, NF,
 Canada

Enriquecimiento de ácidos grasos $\omega 3$ totales de aceite de grasa de foca mediante cristalización a baja temperatura.
 A, forma de triglicéridos, B, forma de ácidos grasos libres

Procesado de pescado para obtener DHA y EPA



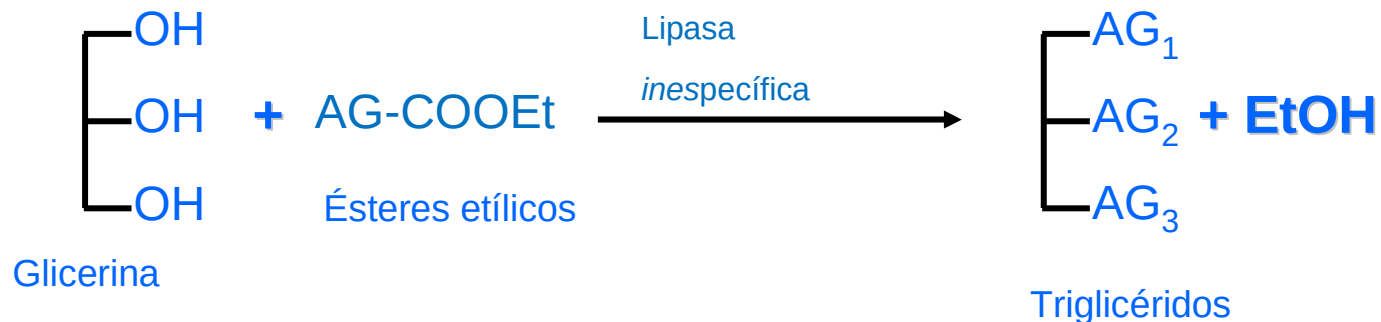
Transesterificación de aceite de pescado



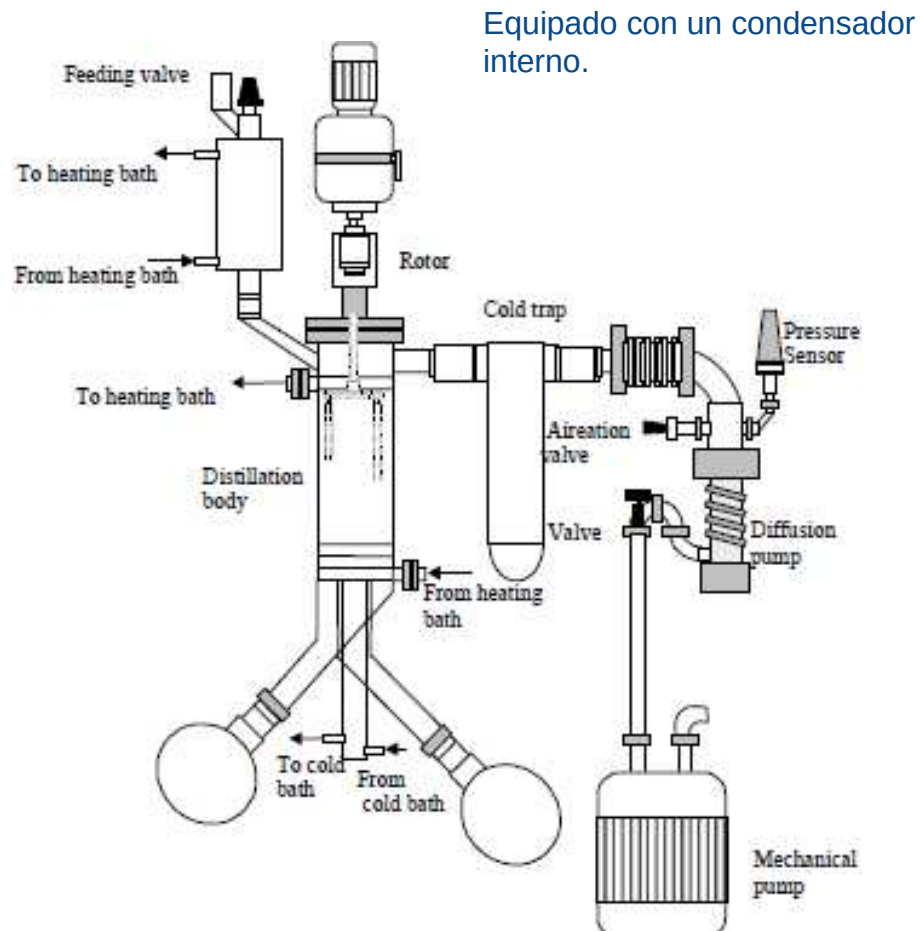
Reacilación enzimática

Las lipasas pueden catalizar la esterificación, hidrólisis o intercambio de ésteres de ácidos grasos.

La reacción es reversible y, en condiciones de baja actividad de agua, las enzimas funcionan “al revés”, sintetizan un enlace éster en lugar de su hidrólisis.



Destilación molecular: concentración de ésteres de EPA y DHA



En la destilación molecular, el material se destila bajo alto vacío; la distancia recorrida por las moléculas entre la evaporación y la condensación es corto



Es útil para aislar componentes de líquidos sensibles al calor o para separar sustancias con un punto de ebullición muy alto.

- La mezcla es destilada a presión reducida, de 1 a 0001 mbar, por lo que disminuye T^a de ebullición.
- El tiempo es disminuido exponiendo las sustancias al calor.
- El proceso de enfriamiento es acelerado.

Fractionation of Squid Visceral Oil Ethyl Esters by Short-Path Distillation



Jer-Hour Liang^a and Lucy Sun Hwang JAOCS, Vol. 77, no. 7 (2000)

TABLE 1

The Fractionation Results of SVOEE-A During Short-Path Distillation Under A20 Conditions

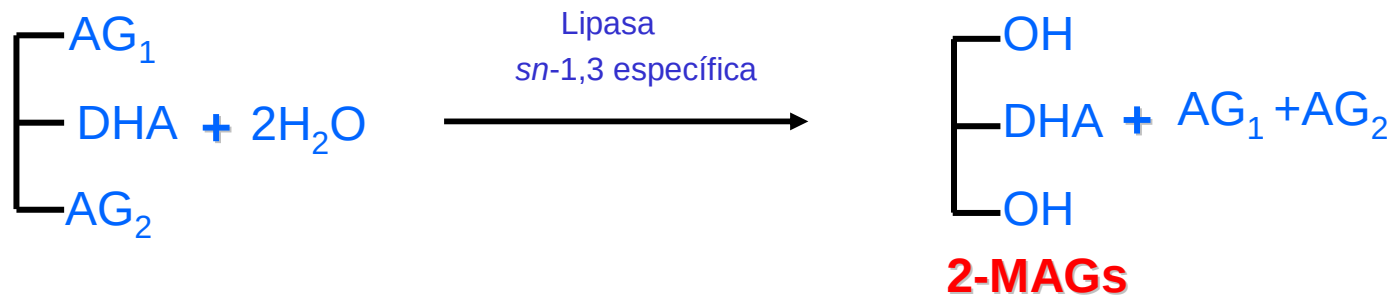
Run A20	Initial feed	Distillate obtained at temperature (°C)						Residue
	SVOEE-A ^a	50	70	90	110	130	150	
Yield (%)		1.7	7.7	21.2	29.1	21.8	7.4	6.0
Cholesterol (mg/100 g)	1,121	921	33	16	57	99	496	14334
Fatty acid (wt%)								
14:0	3.4	5.9	23.4	7.2	0.3	0	0	
16:0	13.9	15.4	29.4	34.4	14.1	1.0	0.1	
18:1	13.1	13.0	9.4	17.8	23.7	7.4	0.6	
20:1	6.0	5.8	1.1	2.3	7.6	12.6	5.5	
20:5 (EPA)	9.0	9.0	2.4	5.1	13.8	15.5	4.5	
22:1	2.8	2.7	0.2	0.5	1.6	6.0	11.1	
22:6 (DHA)	14.7	14.7	1.4	2.7	10.6	34.7	43.1	

^aSquid visceral oil ethyl esters of *Illex argentinus* (SVOEE-A); 250 g were used in this experiment. EPA, eicosapentaenoic acid; DHA, docosahexaenoic acid.

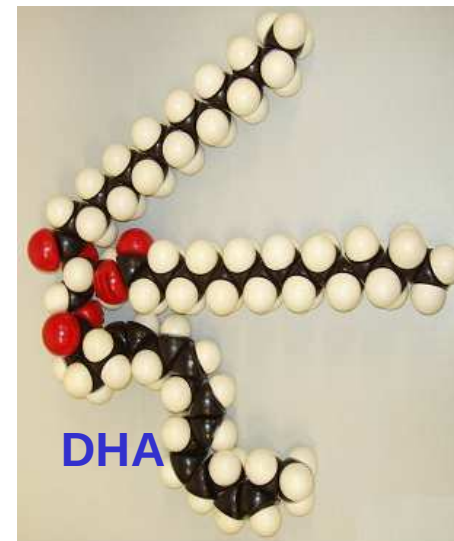
La degradación térmica de etil-EPA comienza a 159 °C y alcanza un máximo a 206 °C; etil-DHA comienza a 166 °C y es máxima a 217 °C

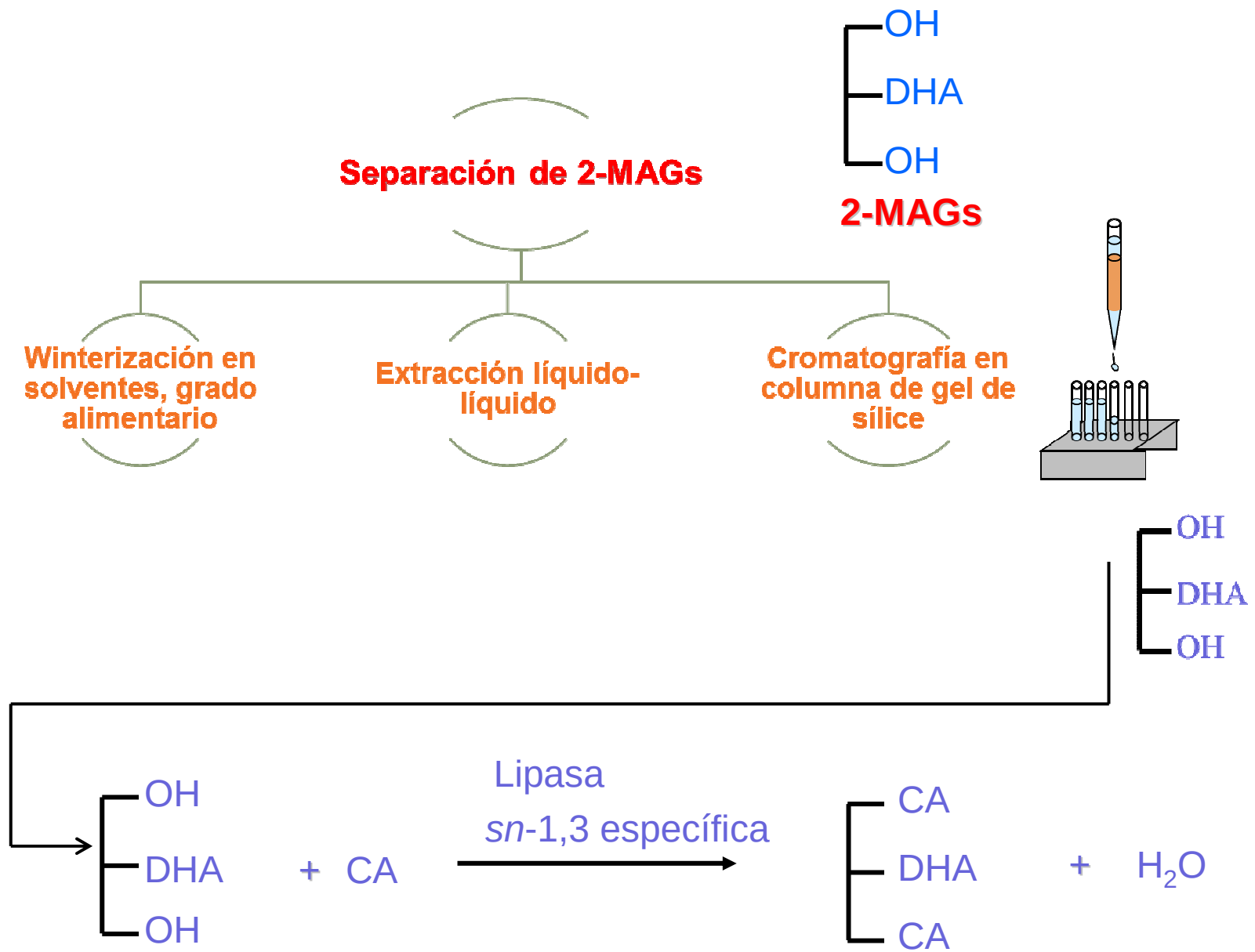
Métodos enzimáticos concentración y purificación de EPA y/o DHA

Hidrólisis selectiva de los TAGs



El efecto de torsión de EPA y DHA, debido a la presencia de los dobles enlaces, aumenta el efecto de impedimento estérico, por lo tanto, las lipasas no pueden actuar en la unión éster entre estos ácidos grasos y glicerol.

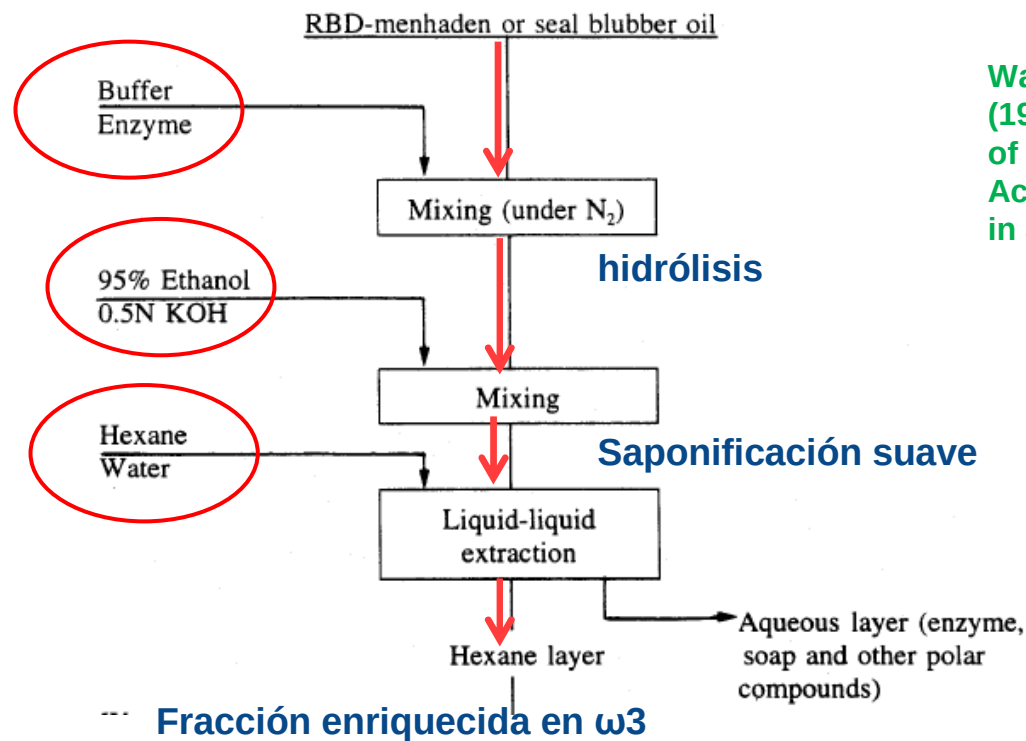




Posibilidad de obtención de triglicéridos estructurados

Lipase-Assisted Concentration of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Acylglycerols from Marine Oils

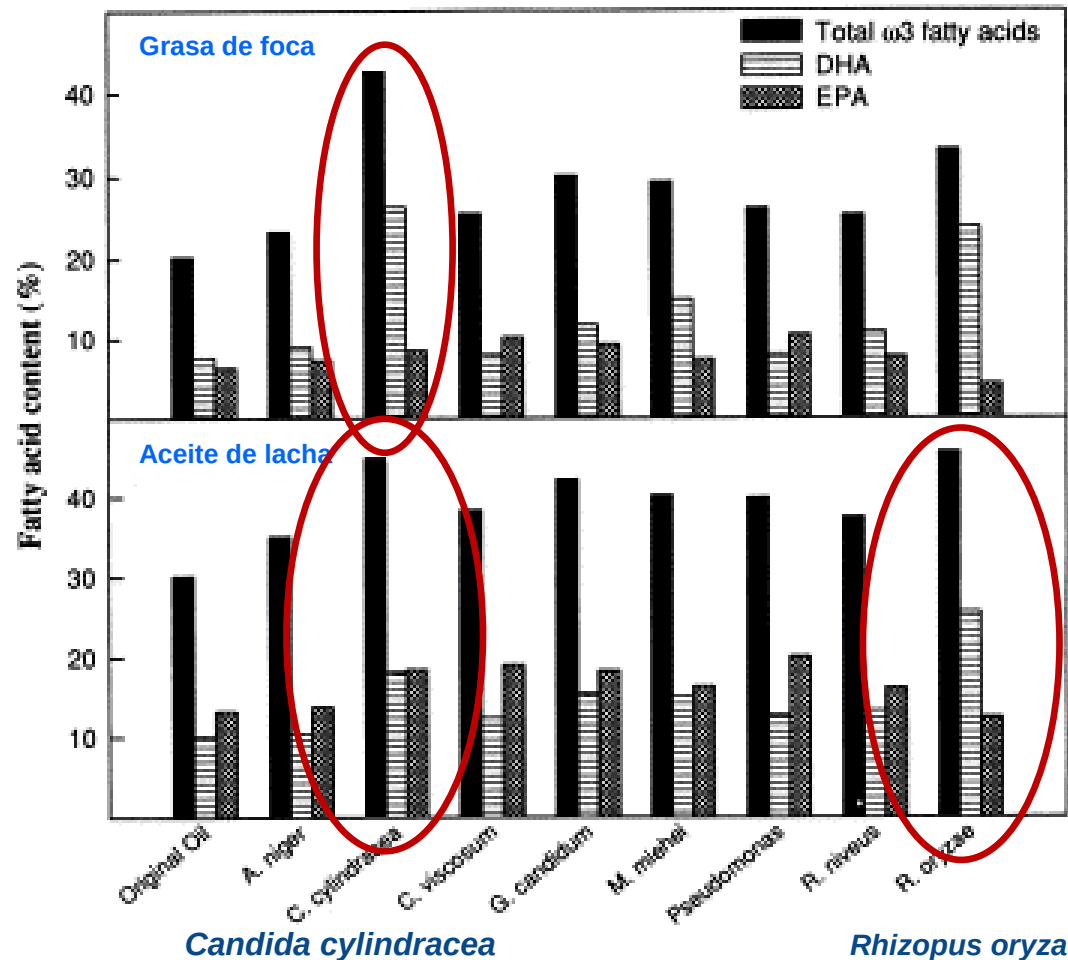
Udaya N. Wanasundara and Fereidoon Shahidi*



Wanasundara, U.N. and Shahidi, F. (1997) 'Lipase Assisted Concentration of ω₃-Polyunsaturated Fatty Acids in Acylglycerols Form from Marine Oils' in J. Am. Oil Chem. Soc. 75, 945–951

Lipase-Assisted Concentration of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Acylglycerols from Marine Oils

Udaya N. Wanasundara and Fereidoon Shahidi*

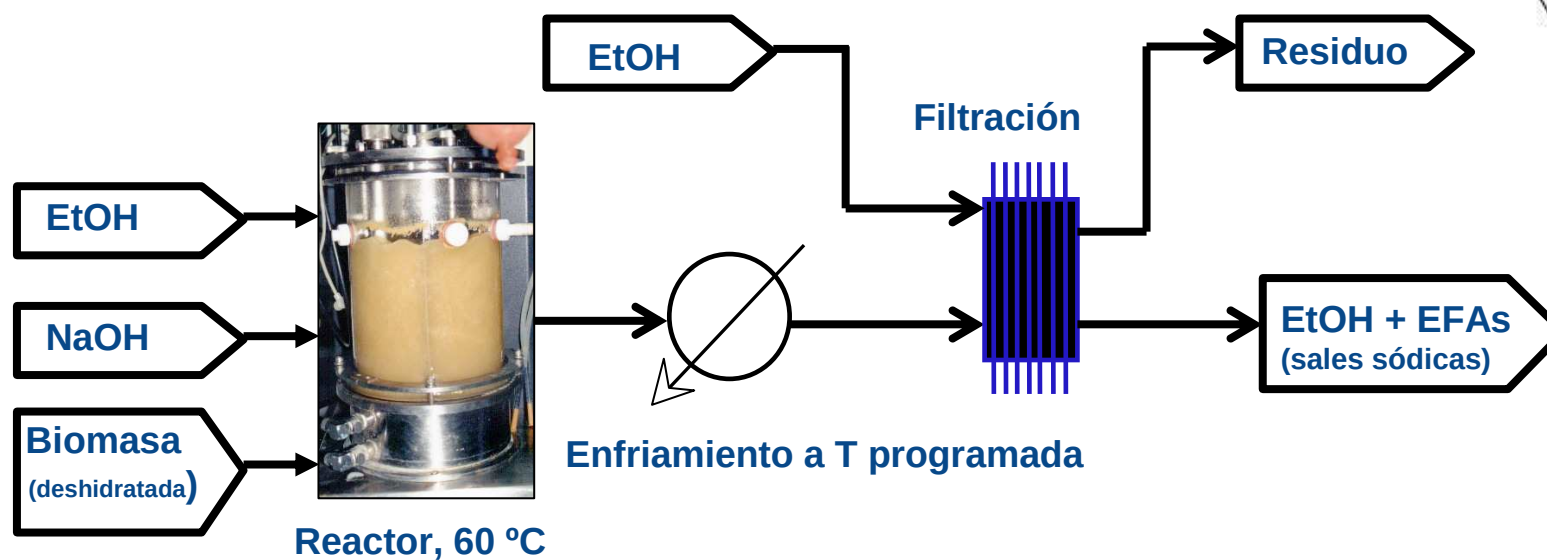


“... all lipases were effective in increasing the n-3 PUFA content of the remaining acylglycerols...”

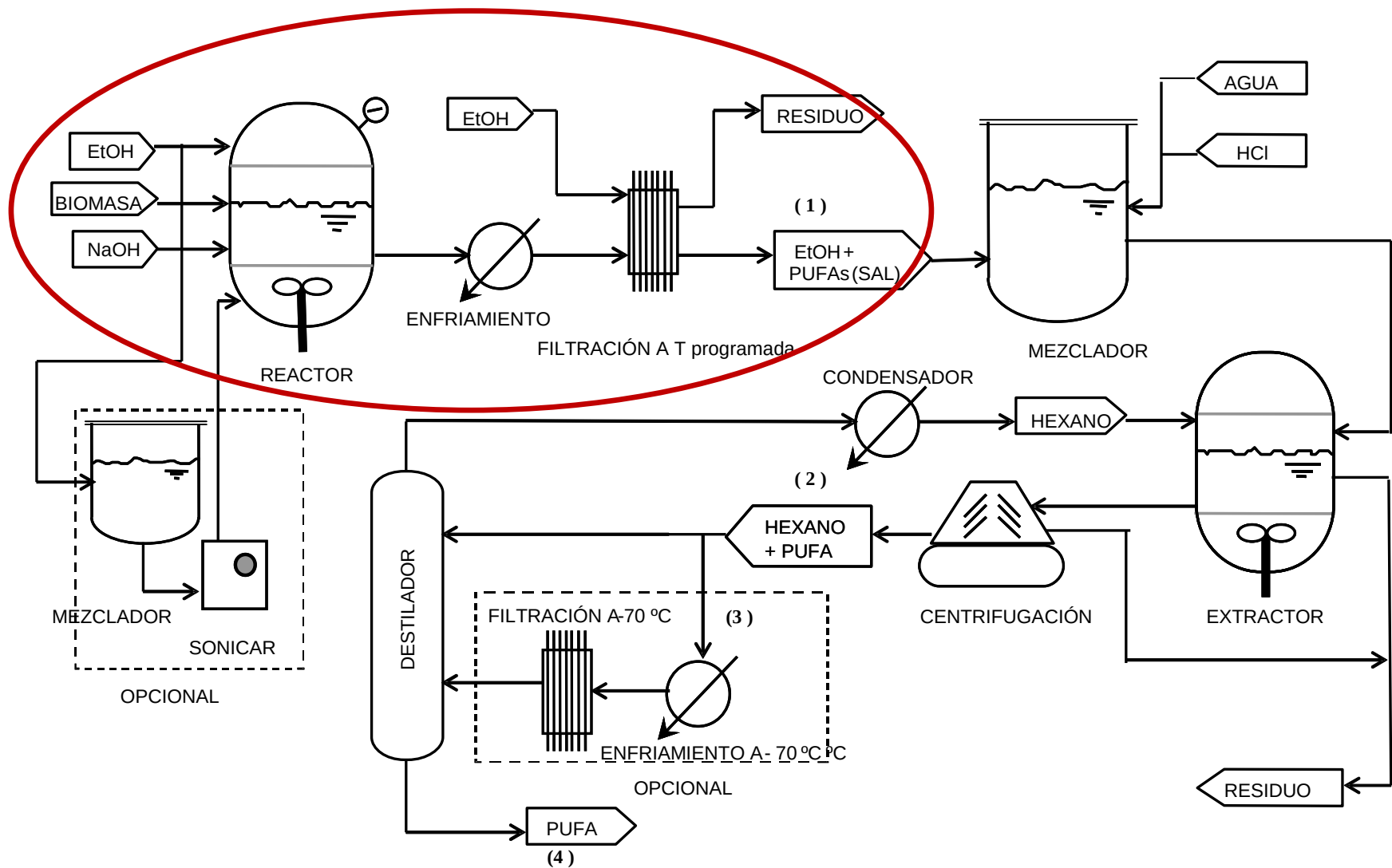
Enriquecimiento de ω3 total, EPA y DHA de grasa de foca y aceite de lacha después de 75 h de hidrólisis mediante diferentes lipasas microbianas

Extracción-saponificación-concentración simultáneas

Procesos de máxima seguridad se desarrollan con la ayuda de *biocompatible* etanol



Guil-Guerrero, Jose Luis; Campra-Madrid, Pablo; López-Martínez, Juan Carlos. MÉTODO RÁPIDO Y BIOCÓMPATIBLE DE EXTRACCIÓN, SAPONIFICACIÓN Y CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS (PUFAS) POR DIFERENCIAS DE SOLUBILIDAD A PARTIR DE BIOMASA. Fecha de publicación 28/12/2007



One-Step Extraction and Concentration of Polyunsaturated Fatty Acids from Fish Liver

J. L. Guil-Guerrero · J. C. López-Martínez ·
M. A. Rincón-Cervera · P. Campra-Madrid

J Amer Oil Chem Soc (2007) 84:357–361

DOI 10.1007/s11746-007-1041-9

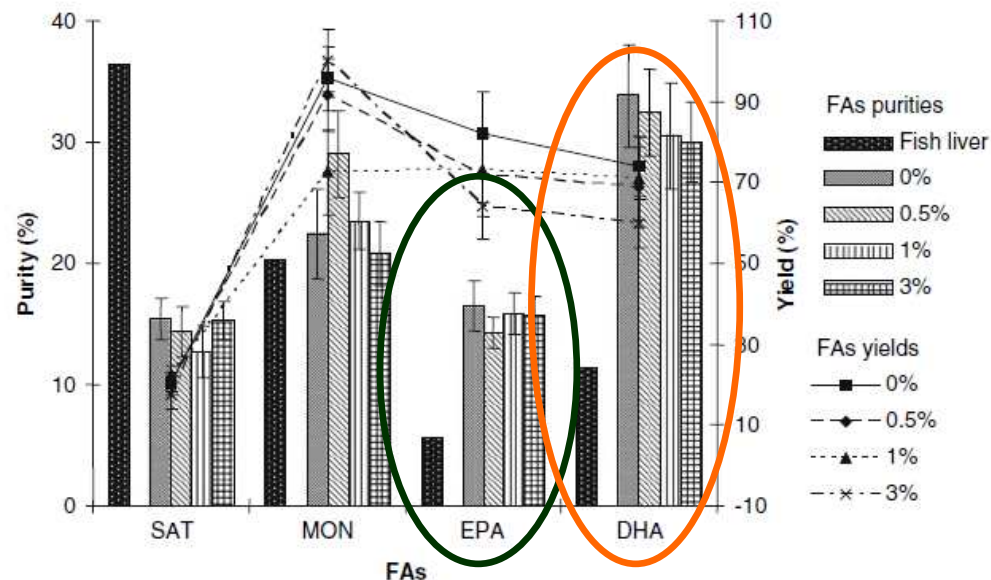
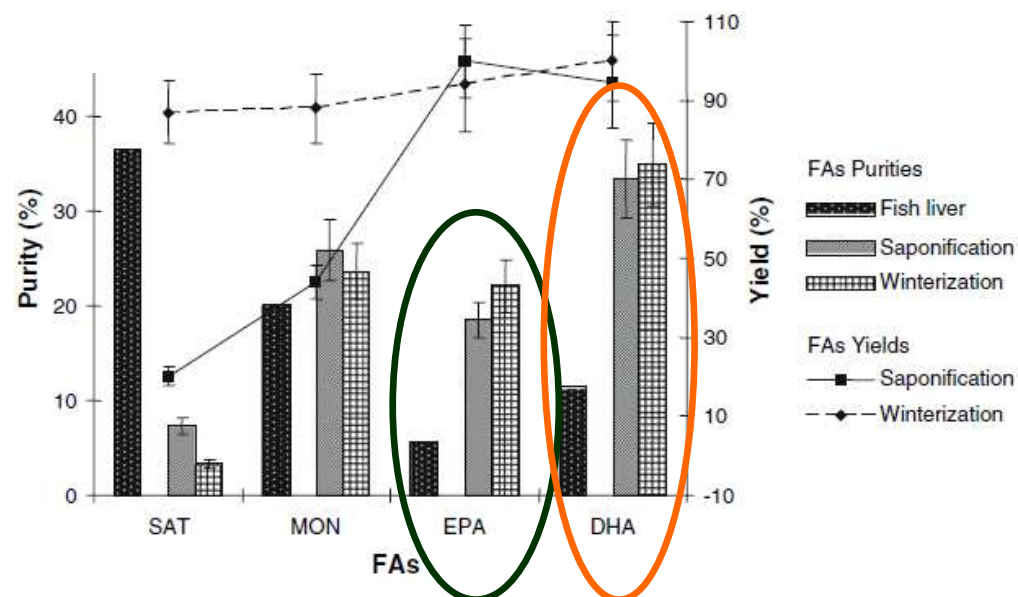


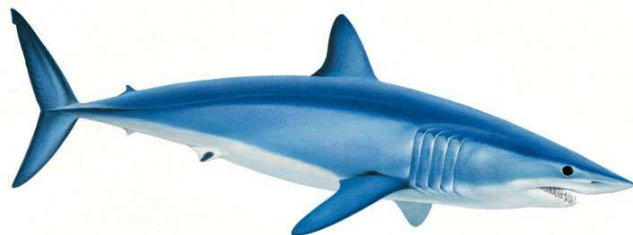
Fig. 1 Influence of different proportions of ethanol:water in the saponification mixture on the fish liver PUFA extraction-concentration process. Cooling temperature after saponification: +12 °C

Se superan las concentraciones alcanzadas por la destilación molecular

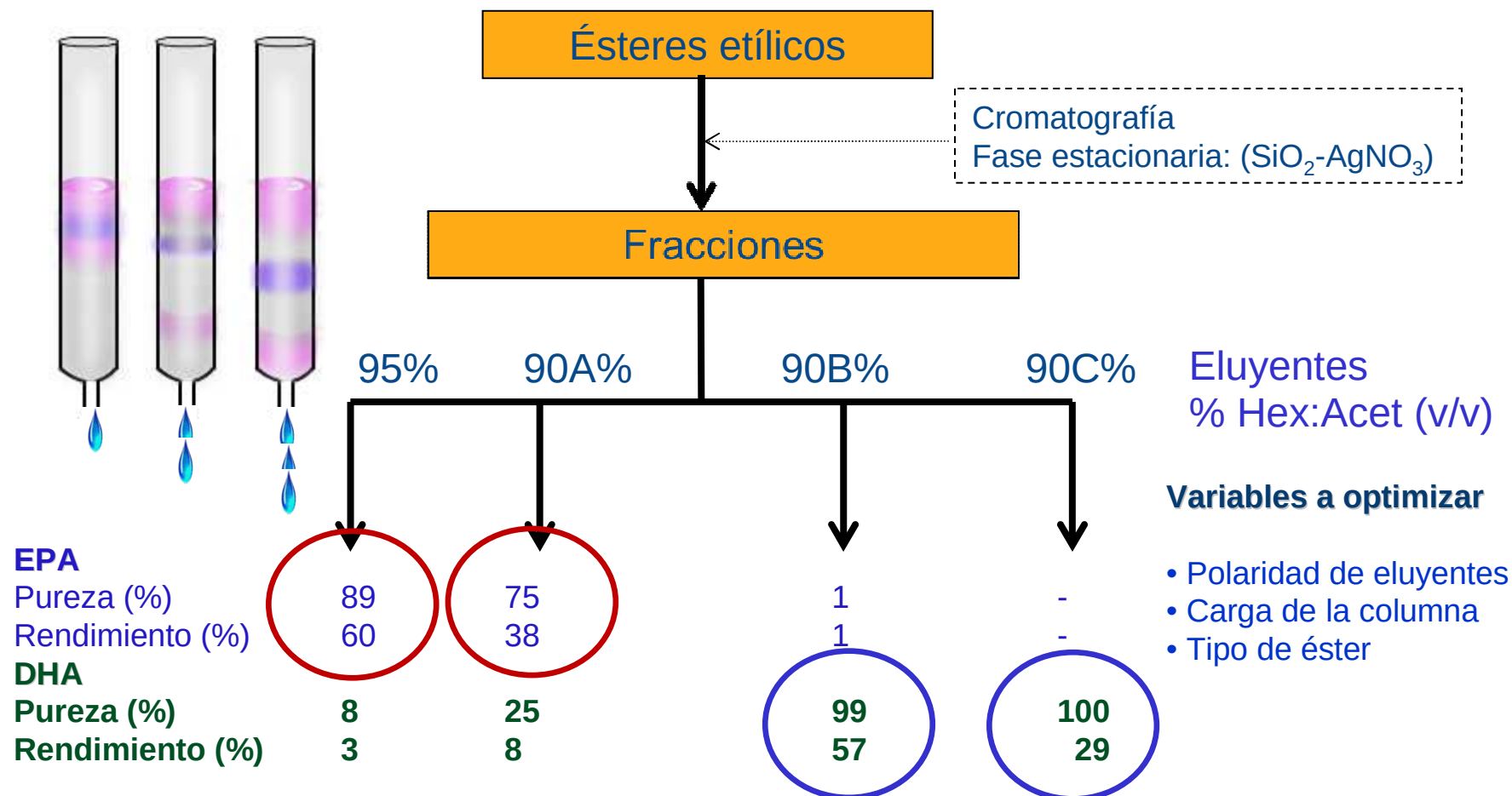
Fig. 2 FA purities and yields obtained in the simultaneous oil extraction/saponification/PUFA concentration process followed by winterization at -70 °C from fish liver oil. Cooling temperature after saponification: 12 °C. Water in the saponification mixture: 0%. Winterization temperature: -70 °C



Fraccionamiento de ésteres etílicos mediante cromatografía en columna



Fractionation of Shortfin Mako (*Isurus oxyrinchus*) Liver Oil

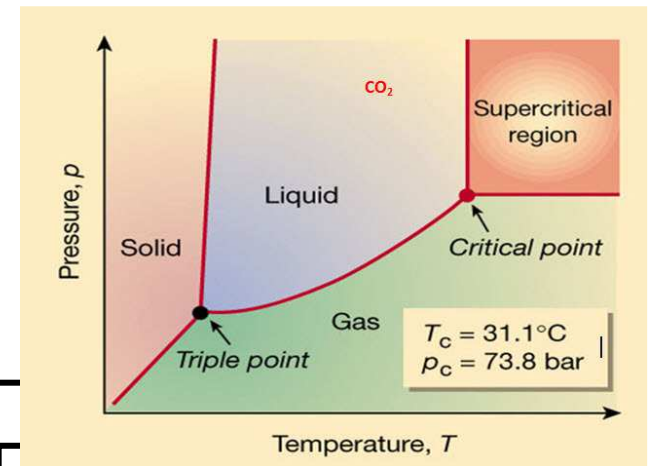


Isolation of some PUFA from edible oils by argentated silica gel chromatography
 By J.L. Guil-Guerrero*, P. Campra-Madrid and R. Navarro-Juárez. Grasas y Aceites
 116 Vol. 54. (2003), 116-121.

Concentración mediante FSC

Columnas de Extracción

Válvula reductora



Cambiadores de calor

Refrigerante

Separadores

Extracto

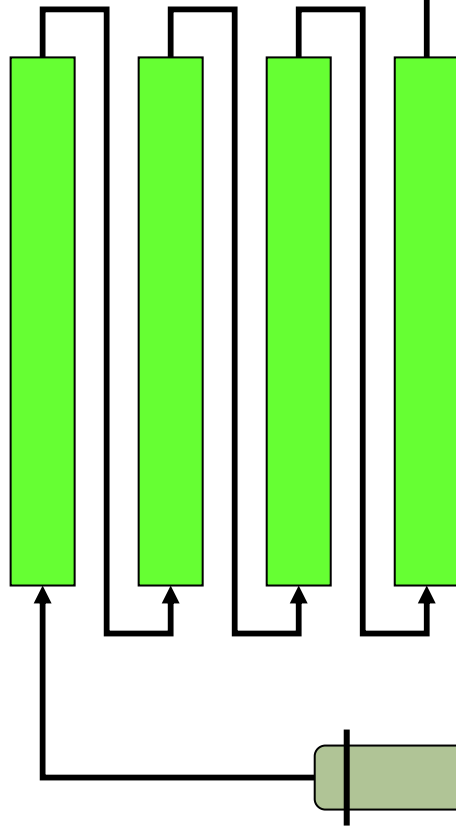
Extracto

Tanque de CO_2

CO_2

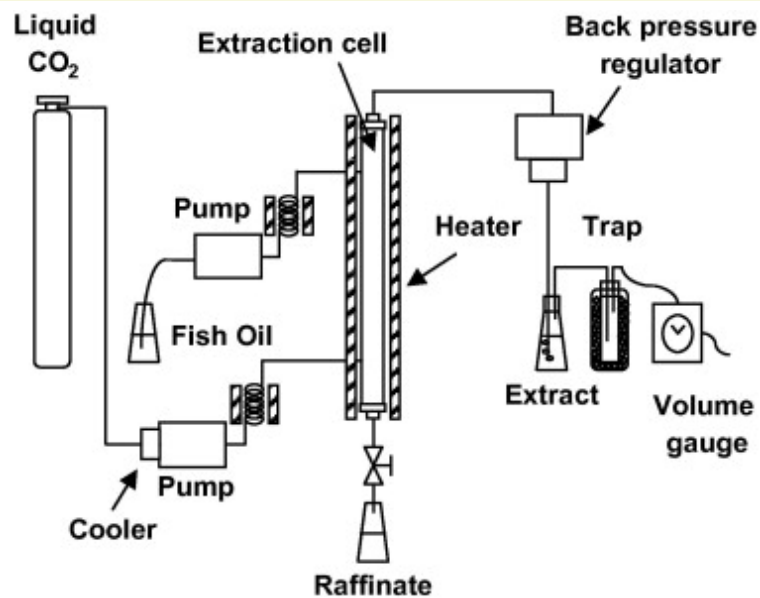
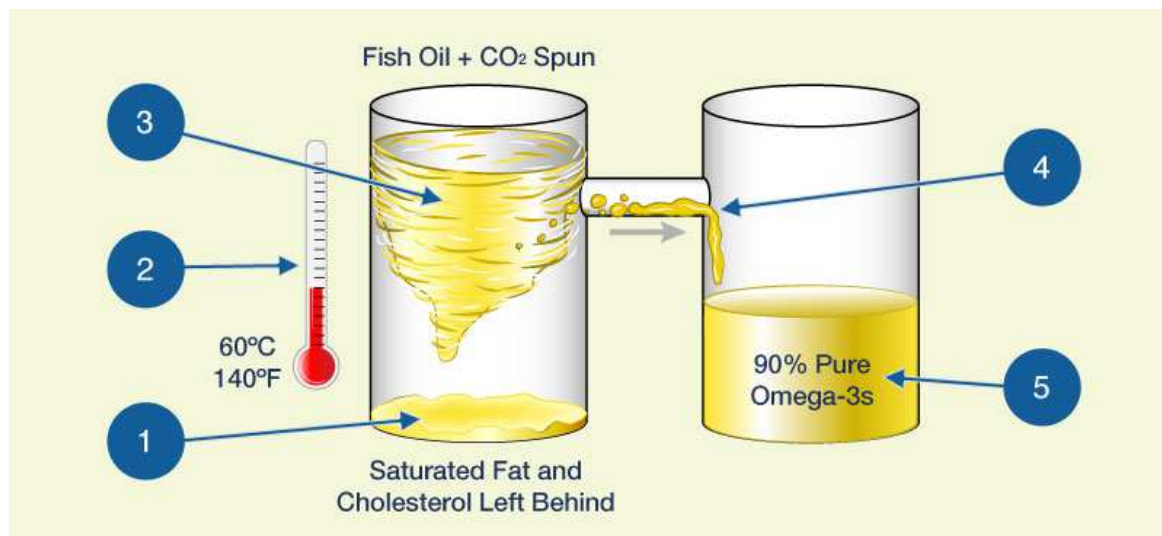
Bomba

Intercambiador de calor



VIVA LABS

FishOil.com



Product Overview

Package Description:

60 Softgels

Serving Size:

2 Softgels

Number of Servings:

30 (30 day supply)

Potency per Serving:

1,000 mg of Super Critical Fish Oil

Recommended Dosage:

Take 2 Softgels daily

Country of Manufacturer:

United States of America

Customer Ratings:

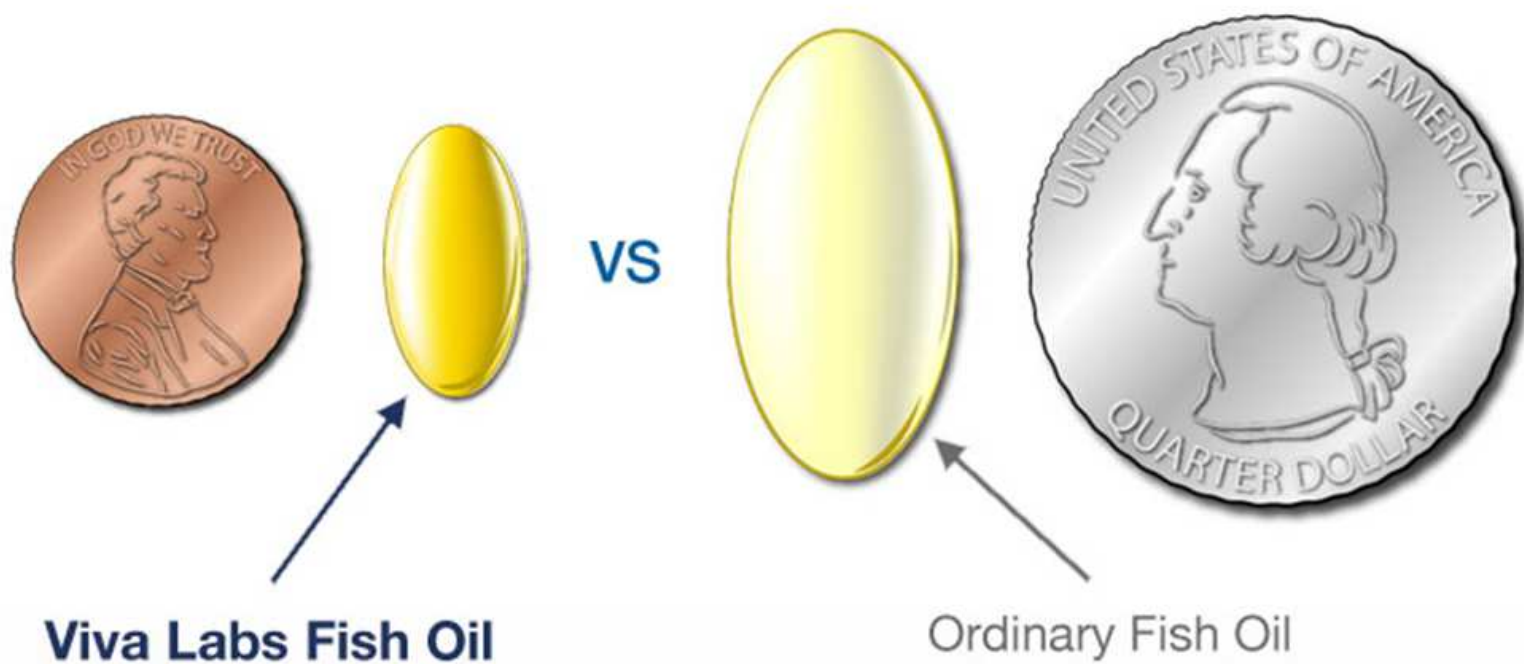
[Read Reviews](#)

Omega Select Fish Oil

Each Serving Provides:

[View Supplement Facts](#)

Capsule Size Comparison



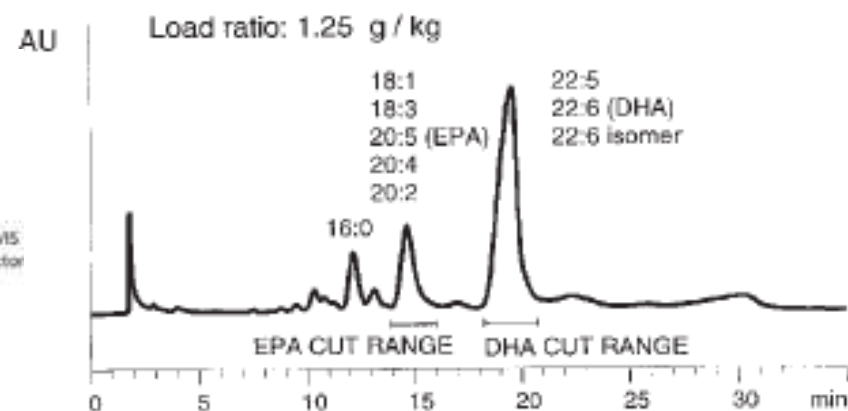
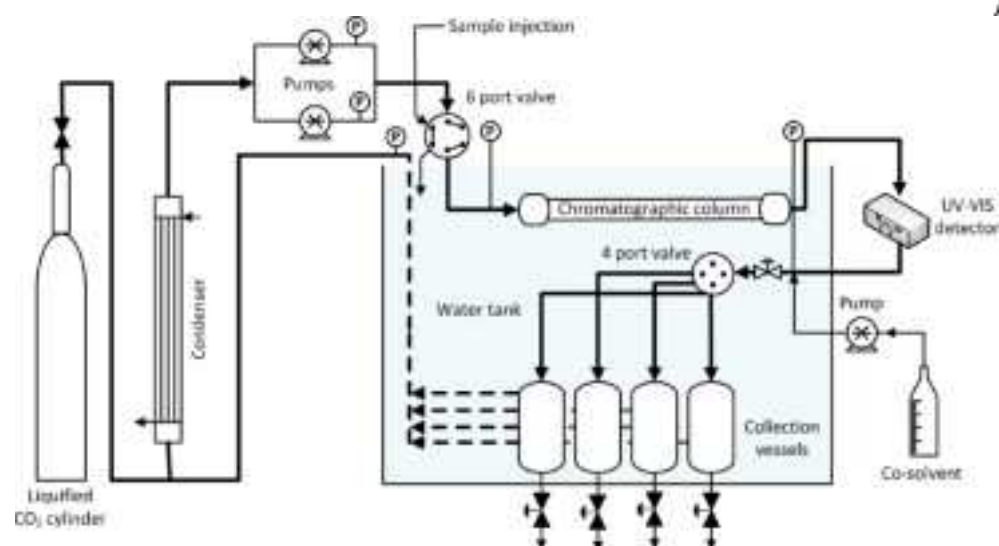
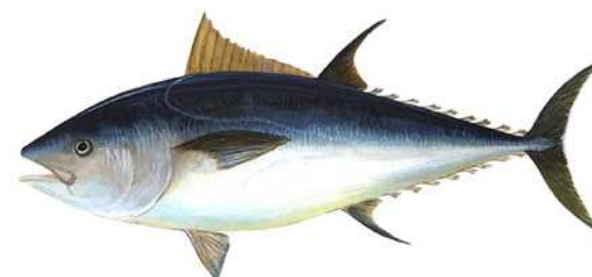
Purification of Polyunsaturated Fatty Acid Esters from Tuna Oil with Supercritical Fluid Chromatography

M. Alkio^a, C. Gonzalez^b, M. Jäntti^a, and O. Aaltonen^{a,*}

^aVTT Chemical Technology, Supercritical Technology, FIN-02044 VTT, Finland

and ^bCentro Tecnológico Gaiker, Parque Tecnológico, 48170 Zaimudio, Spain

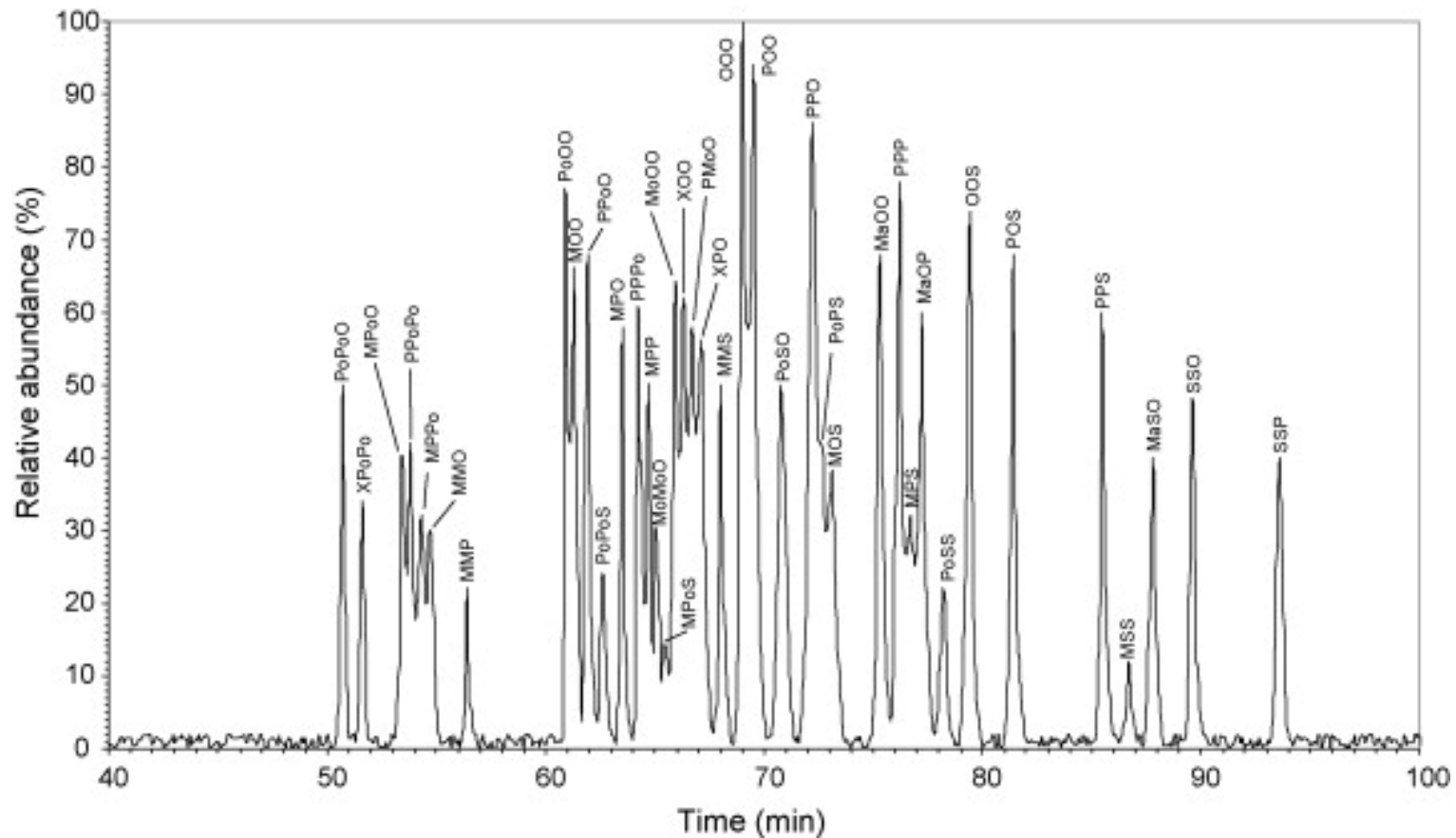
JAOCS, Vol. 77, no. 3 (2000)



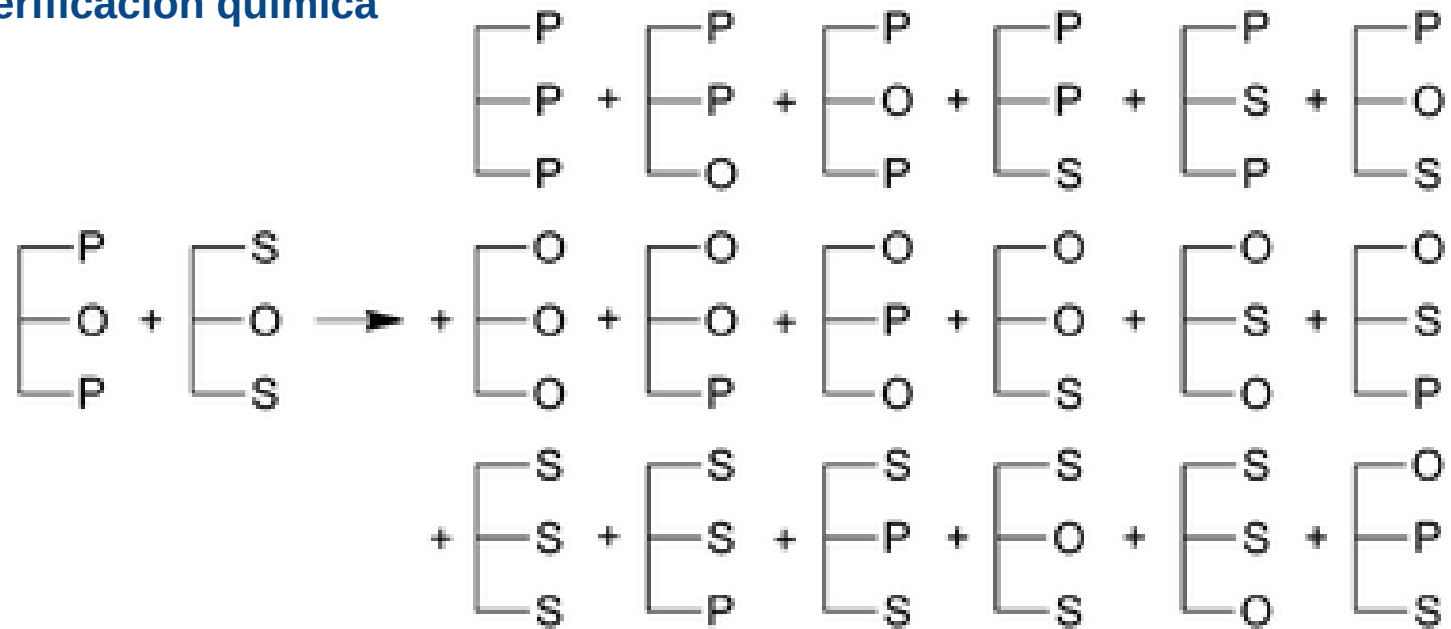
Load ratio (1.25 g/kg)	
DHA purity	EPA purity
0.0	0.0
57.3	17.8
93.7	43.6
100.0	31.8
100.0	37.5

FIG. 1. Supercritical fluid chromatograms from preparative fish oil ethyl ester injections at different column load ratios. Fraction collection intervals for docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) concentrates are indicated. Kromasil 10-C18, 10 × 250 mm column. Pressure, 145 bar. Temperature 65°C. Mobile-phase linear velocity 1.9 mm/s. AU refers to absorbance units from the ultraviolet detector.

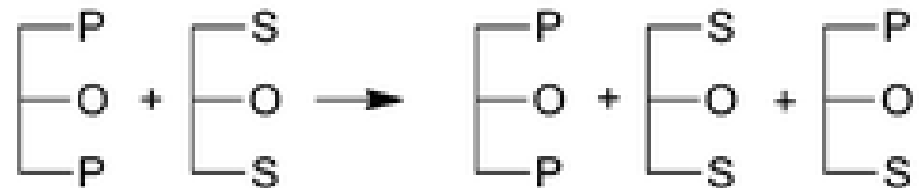
Aislamiento de fracciones funcionales de aceites



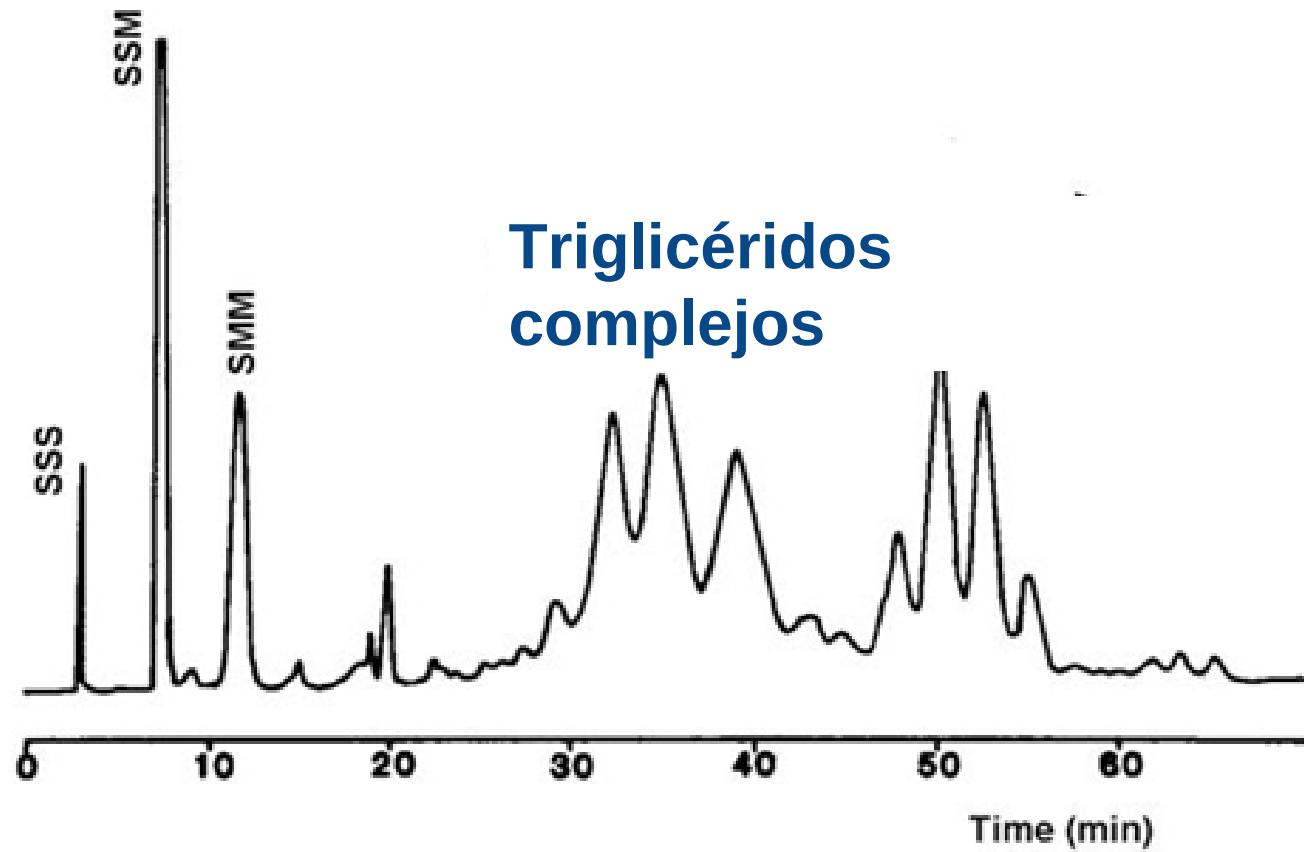
Interesterificación química



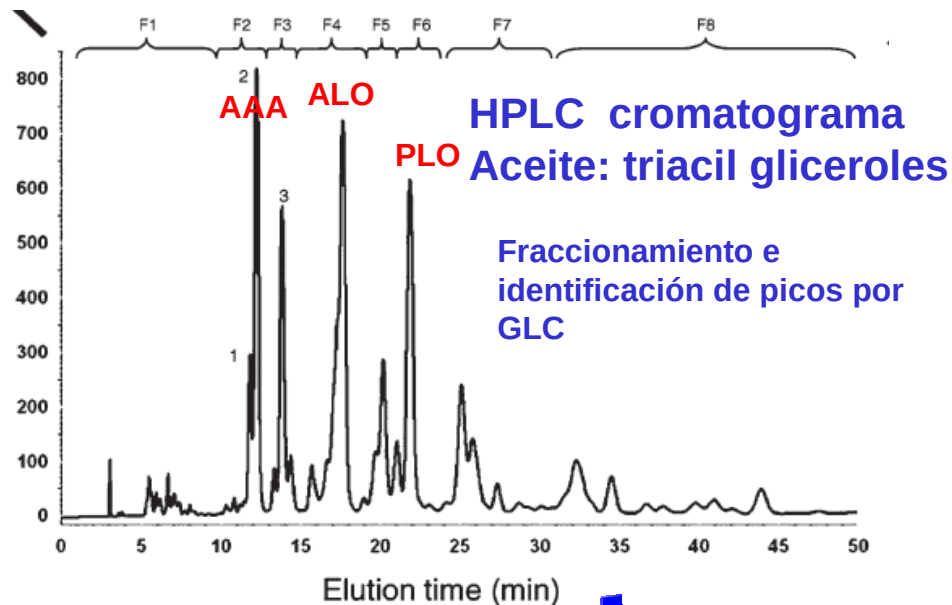
Interesterificación enzimática



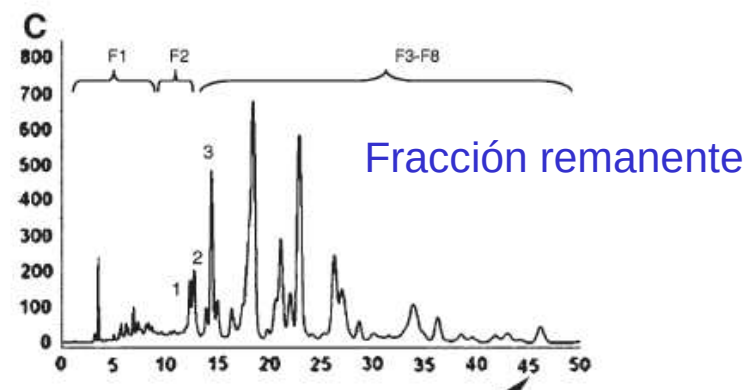
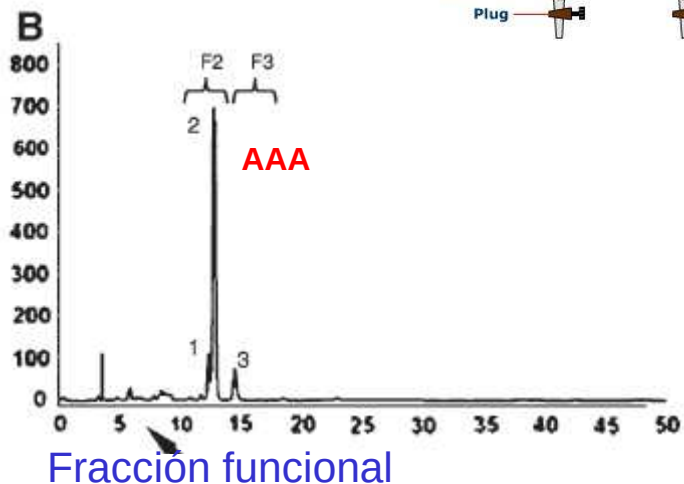
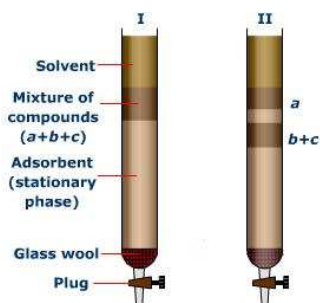
South African fish oil



Aislamiento de fracciones funcionales de aceite rico en ácido araquidónico



Araquidónico puro en forma de triglicérido

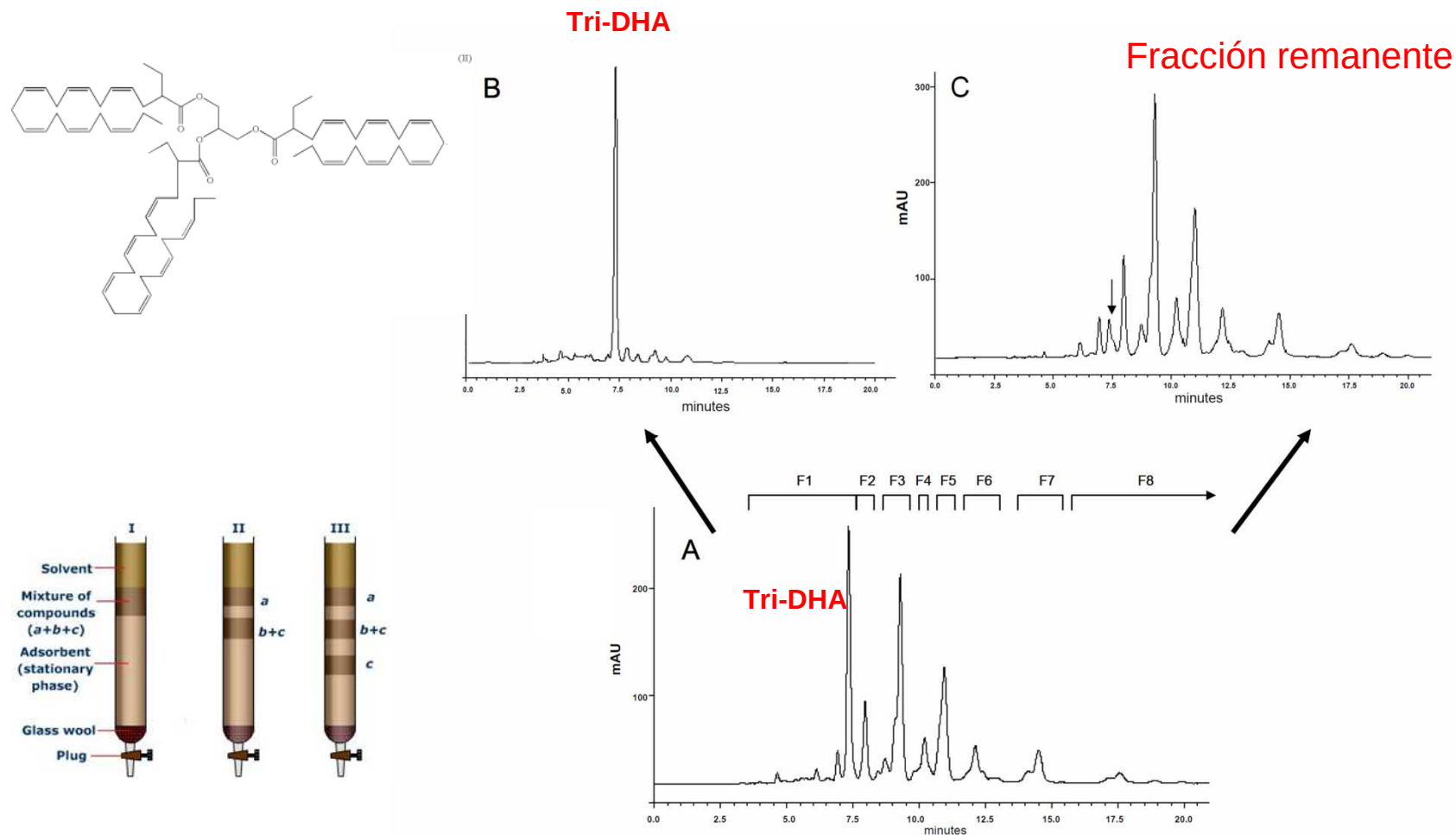


Triarachidonoyl Glycerol Purification Process



E. Venegas-Venegas • M. A. Rincón-Cervera • J. L. Guil-Guerrero

Tridocosahexaenoil glycerol purification



Aceite: triacil glicerol
Fraccionamiento e identificación de
picos por GLC

E. Venegas-Venegas · M. A. Rincón-Cervera ·
 J. L. Guil-Guerrero

European Journal of
 Lipid Science and Technology

in press

Importante: escalamiento eficaz



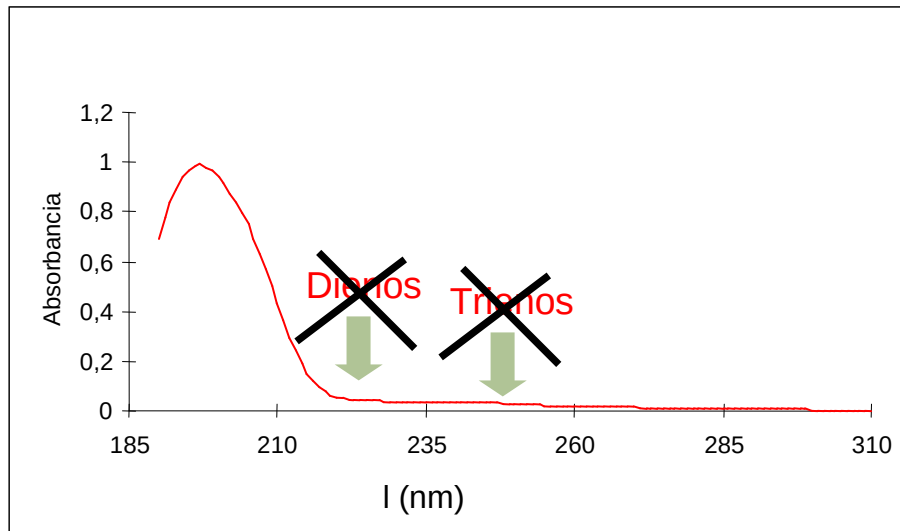
Factor de escalamiento (f) mediante la expresión:

$$f = (D_2)^2 L_2 / (D_1)^2 L_1$$

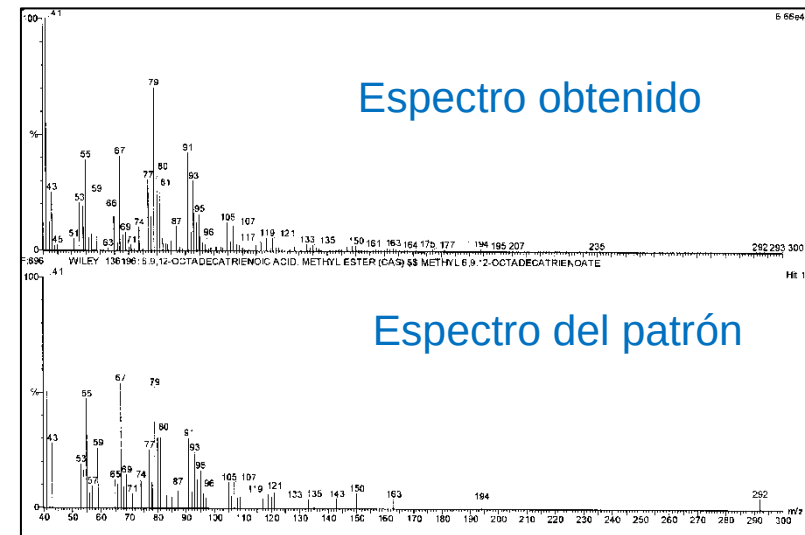
Donde D_1 y L_1 son, respectivamente, el diámetro y la longitud del reactor de menor tamaño y D_2 y L_2 el diámetro y la longitud del reactor de mayor tamaño.

Importante: control de calidad

Espectro UV-visible



Espectrometría de masas

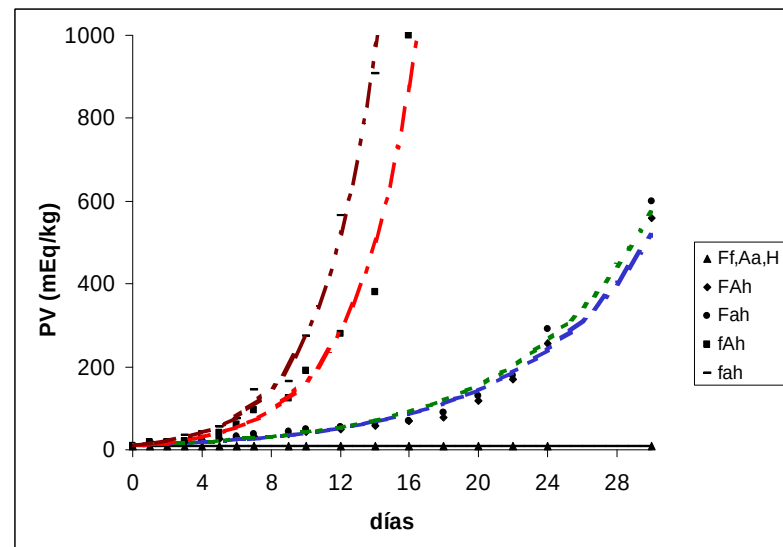


Índice de peróxidos

LØvaas, (1992).

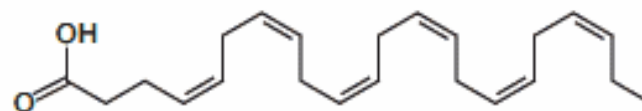
Espectrofotometría con Triioduro (I_3^-)

PV = 5-10 mEq O_2 /kg

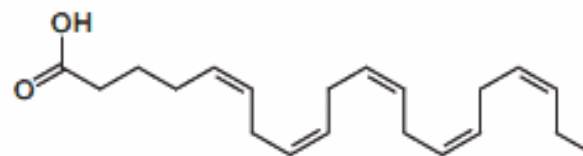




Tecnologías para el enriquecimiento de aceites de pescado en EPA y DHA



DHA (22:6n-3)



EPA (20:5n-3)

José Luis Guil Guerrero

Área de Tecnología de Alimentos
Universidad de Almería