



PROGRAMA

09:30 - 10:00 Inscripción de asistentes

10:00 - 10:30 Aspectos legales relativos al aceite de pescado en consumo humano.

D. Diego Méndez Paz. Responsable de la División de Medio Ambiente y Valorización de Productos del Mar de ANFACO-CECOPESCA.

10:30 -11:00 Producción de ácidos grasos Omega 3 para consumo humano. Mercado actual y expectativas de futuro.

D. Francisco J. Baeza. Director Técnico científico de Nutra Omega Biotecnológica Oléica S.L.

11:00 - 11:30 Alimentos funcionales con Omega 3 de origen marino

D. Juristo Fonollá Joya. Responsable del Departamento de Nutrición de Biosearch Life

11:30 - 12:00 Pausa – café

12:00 - 12:30 Procesos de enriquecimiento de los aceites de pescado en EPA y DHA.

D. José Luís Guil Guerrero. Catedrático del Dpto. de Agronomía de la Universidad de Almería.

12:30 - 13:00 Ácidos grasos Omega-3, beneficios sobre la salud y nuevas perspectivas.

D. Javier Delgado. Especialista de Medicina interna en el Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba

13:00 - 13:30 Coloquio

13:30 Fin de la jornada

Fecha: 08 de noviembre de 2013

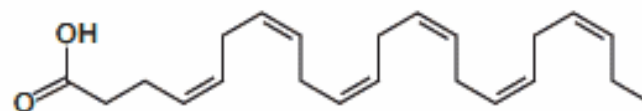
Lugar de celebración: Salón de actos de ANFACO-CECOPESCA; Carretera del Colegio Universitario, 16 Vigo (Pontevedra)

Inscripción en la jornada a través del correo electrónico ines@anfaco.es

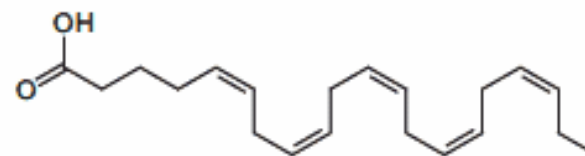
Más información: tlf. 986 469 301 o en la página web www.anfaco.es



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



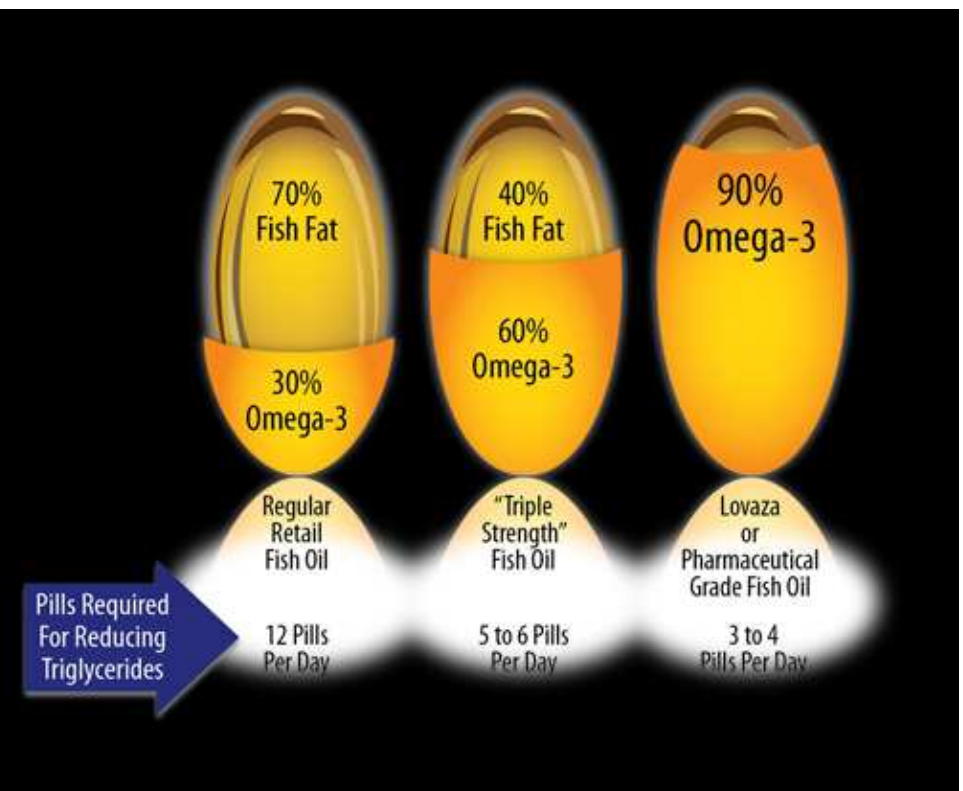
DHA (22:6n-3)



EPA (20:5n-3)

José Luis Guil Guerrero

Área de Tecnología de Alimentos
Universidad de Almería





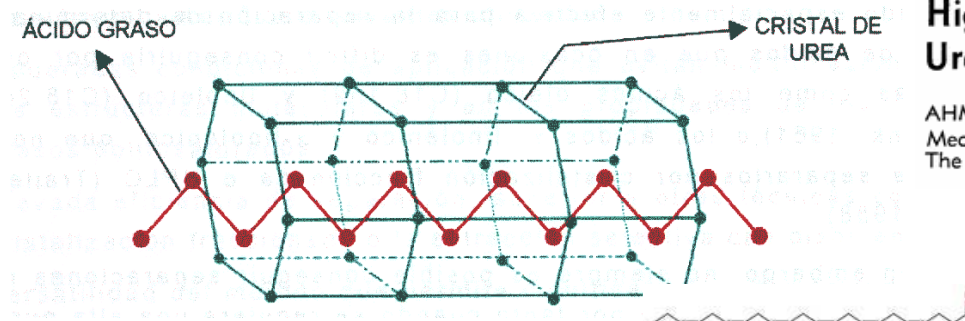
Vs.



	EPA+DHA%	Ventajas	Inconvenientes
ACEITE	≈25	- Estructura de triglicérido - Menor alteración - Más barato - ¿Presencia de insaponificable/colesterol?	- Más calorías/dosis - Sensorialmente pobre - ¿Metales pesados? - ¿Presencia de insaponificable/colesterol?
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

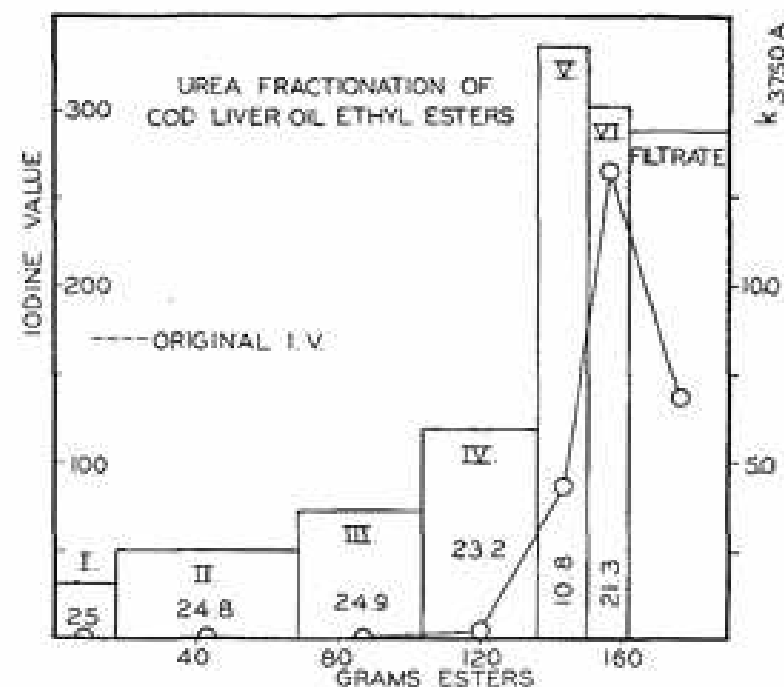
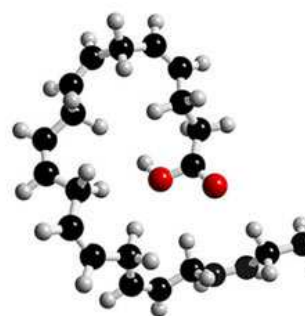


FIG. 1. Urea fractionation of cod liver oil ethyl esters. Widths of bars indicate weights of fractions, heights indicate iodine values. Circles indicate relative hexaene acid content as measured at 3750 Å after alkaline isomerization. Numbers within bars refer to ester content (%) of total precipitate.

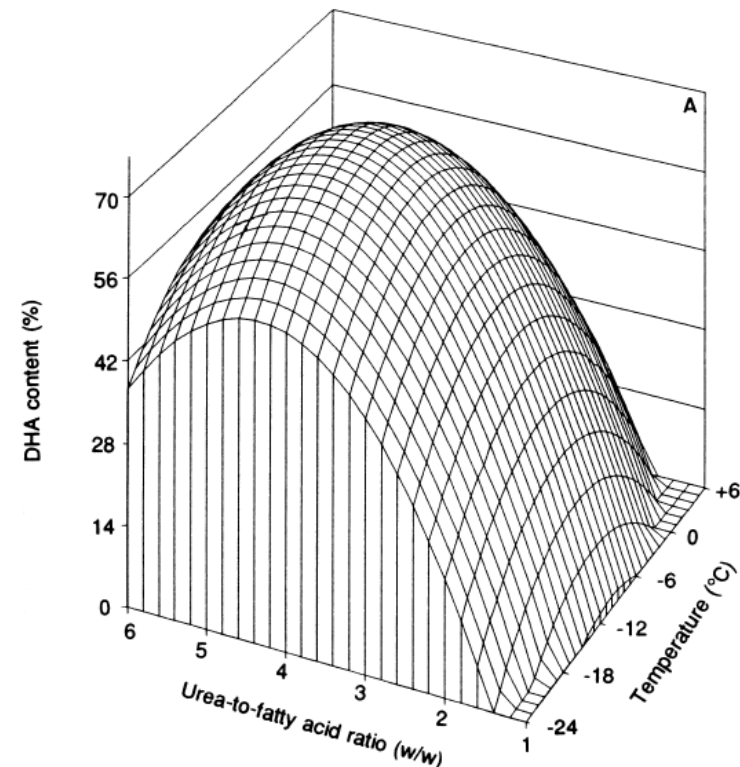
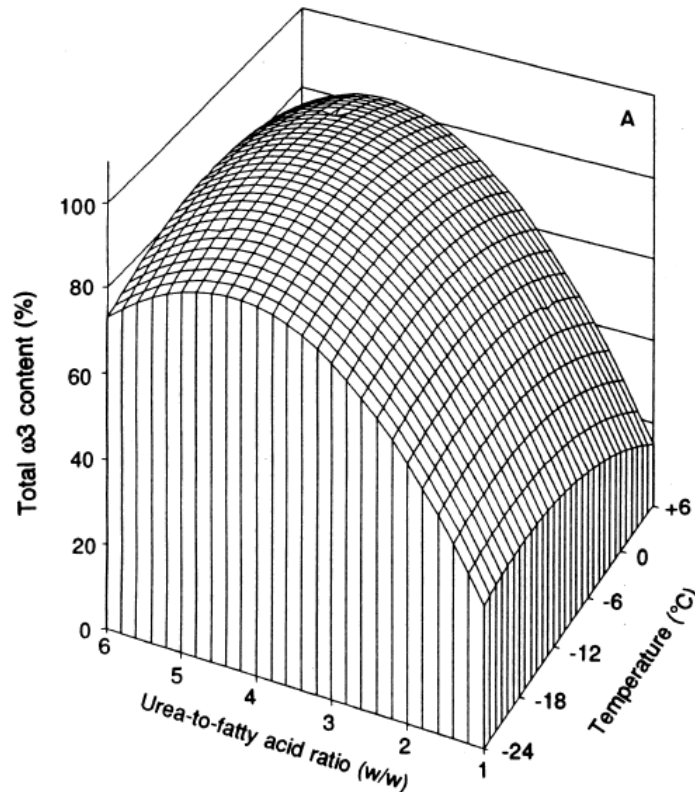
JAN. 1954

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).

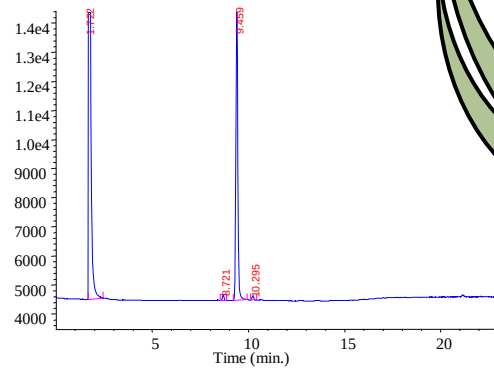
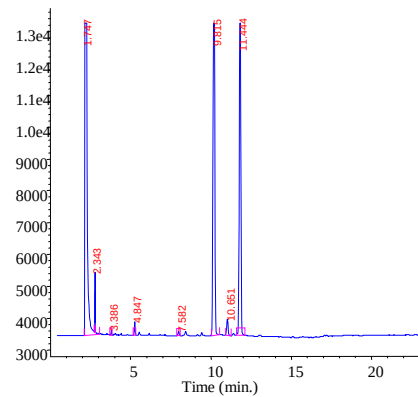
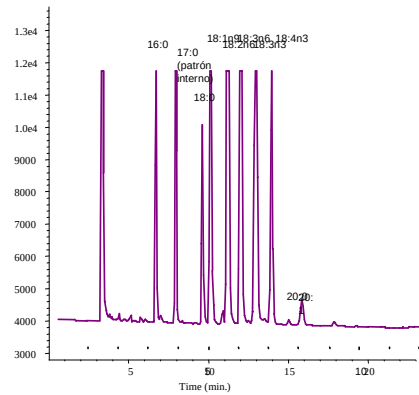
Protóxido de nitrógeno.

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.*

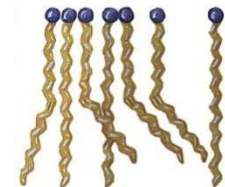
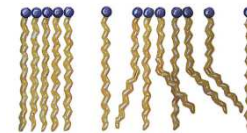
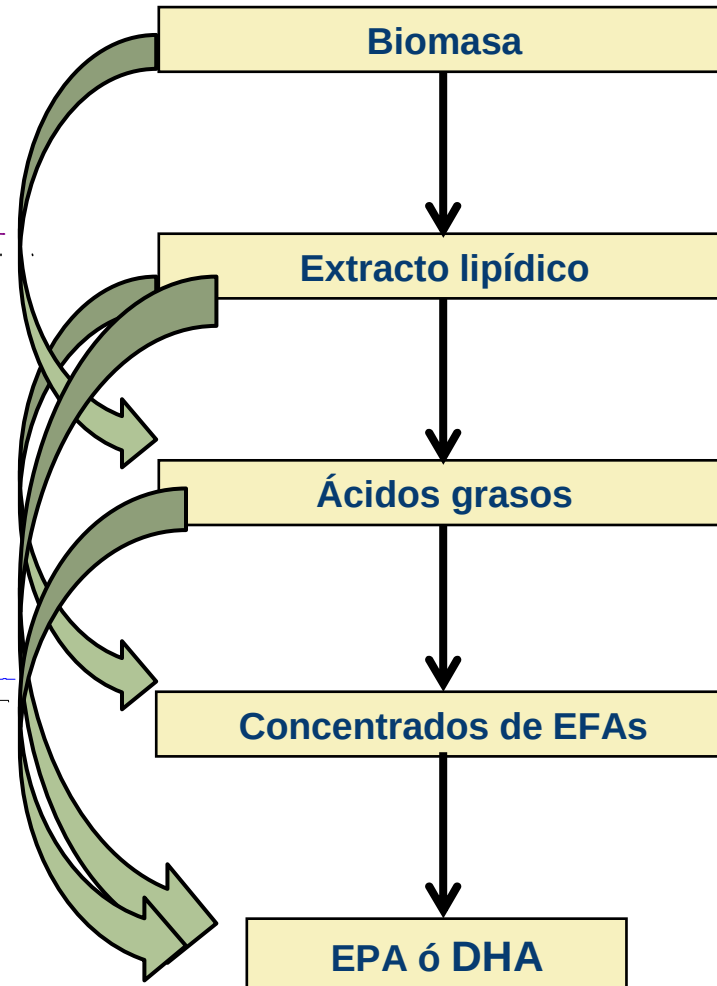
Disolventes de extracción cuyas condiciones de utilización se especifican

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.	

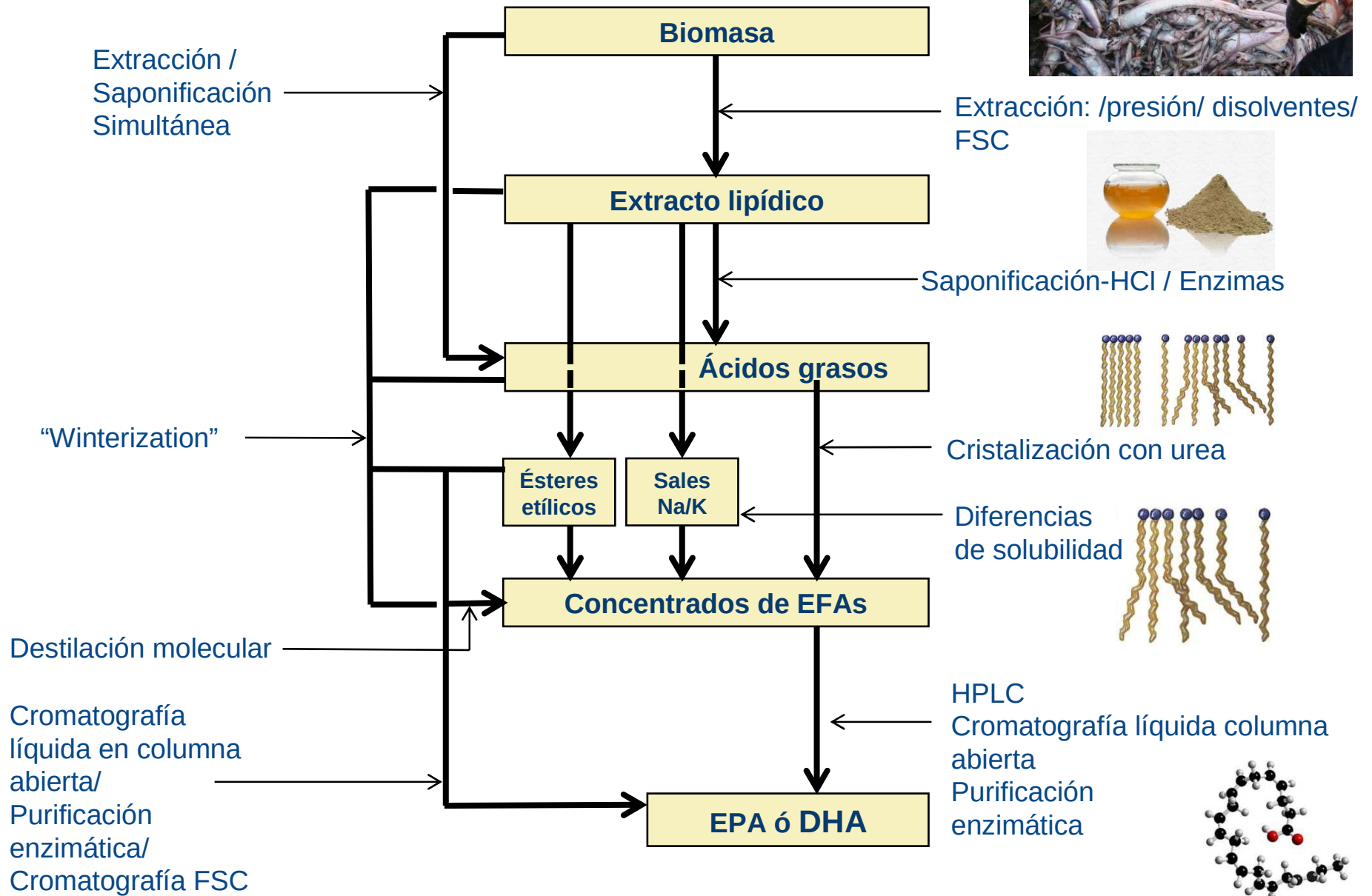
Obtención de EPA / DHA



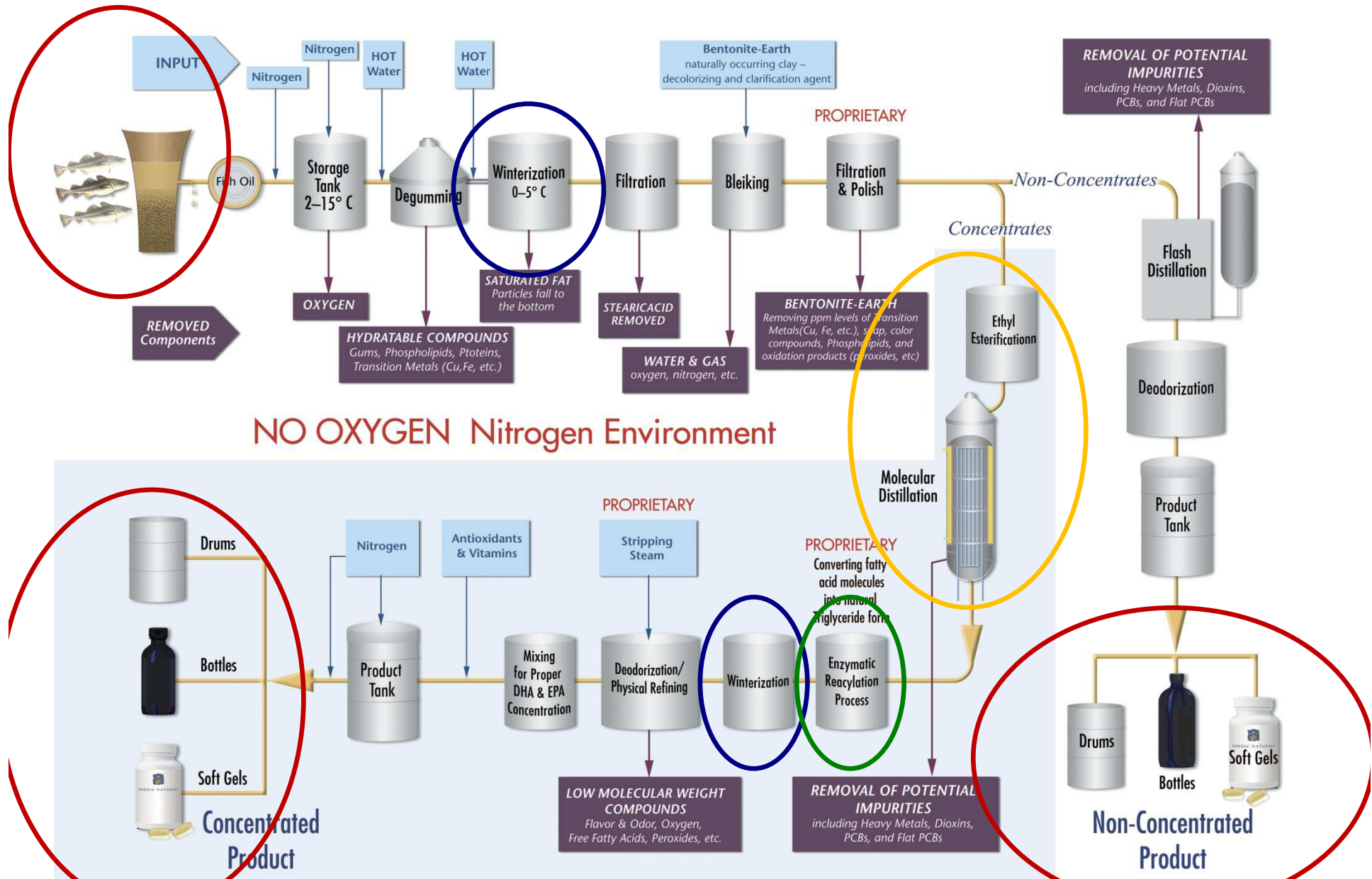
EFA 98% pureza



Obtención de EFAs

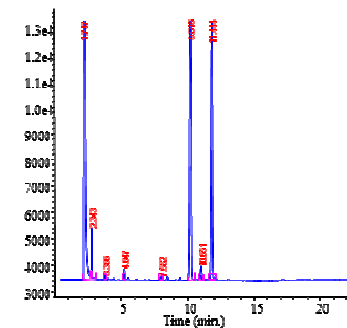
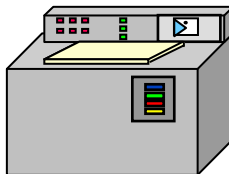
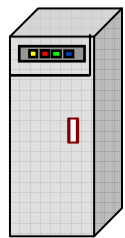
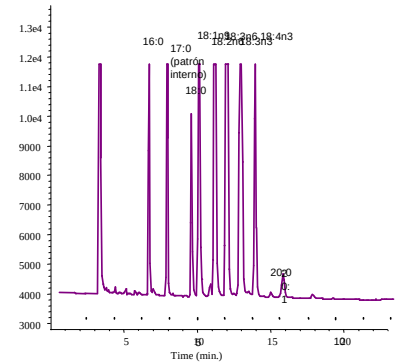


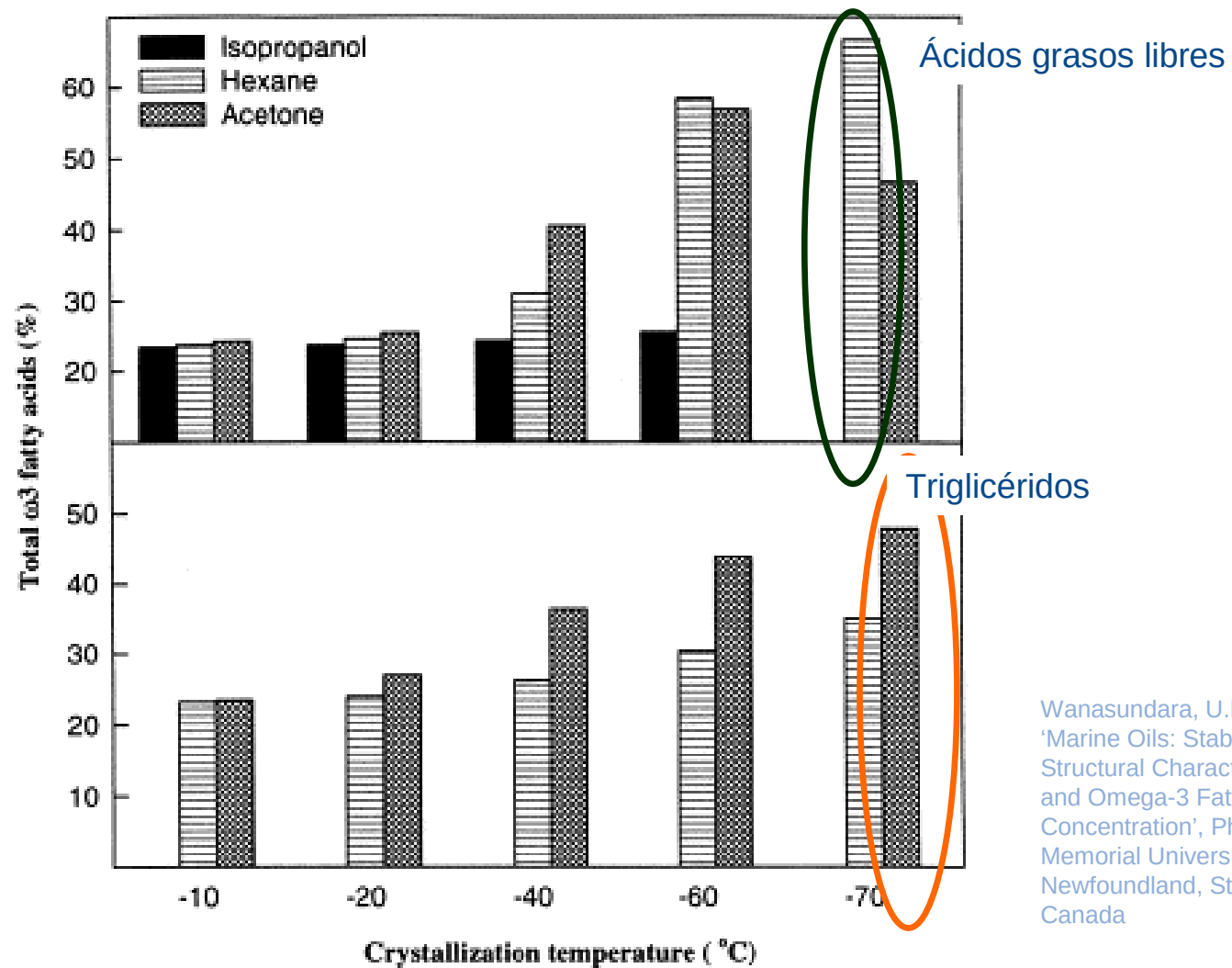
Procesado de pescado para obtener concentrados de DHA y EPA



$$\{$$

-

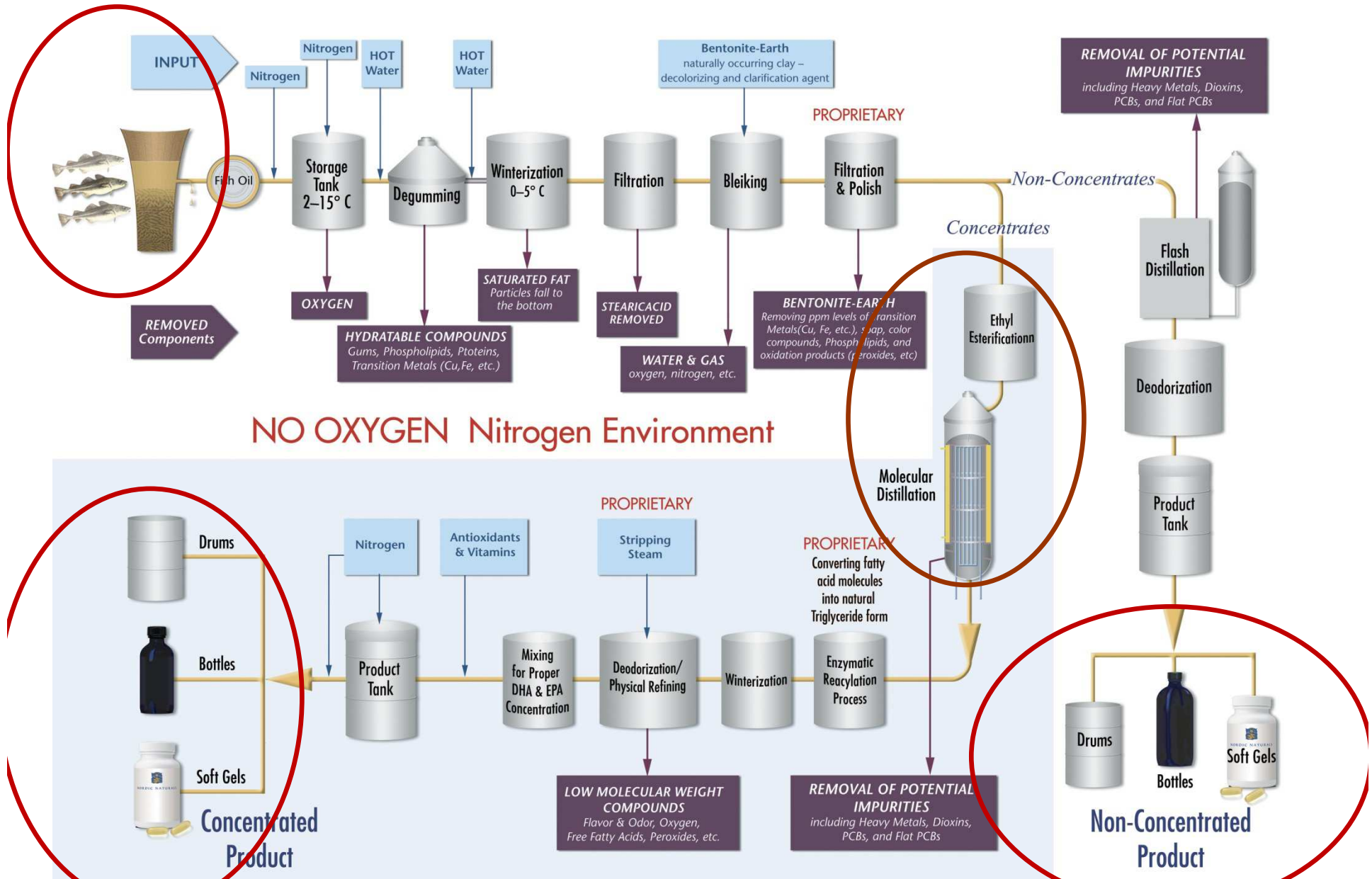
 β 



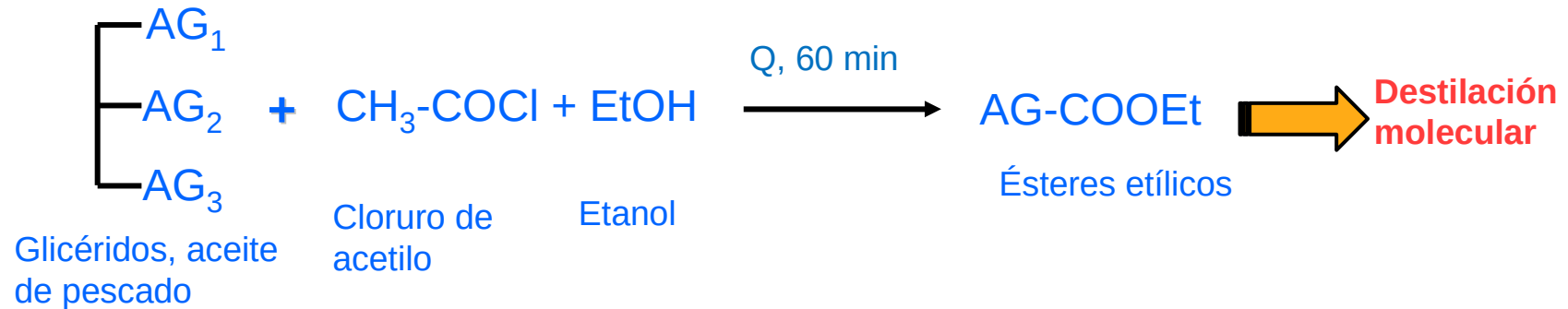
Wanasundara, U.N. (1996)
 'Marine Oils: Stabilization,
 Structural Characterization
 and Omega-3 Fatty Acid
 Concentration', Ph.D. thesis,
 Memorial University of
 Newfoundland, St. John's, NF,
 Canada

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



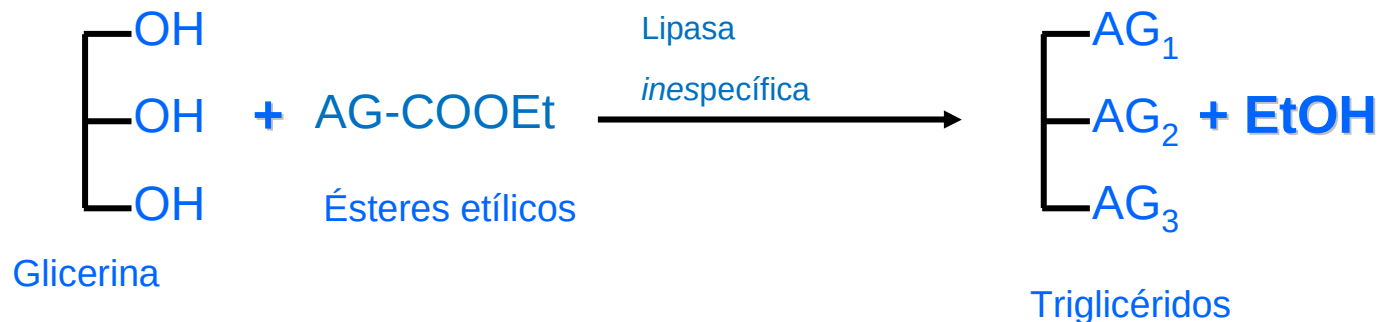
Transesterificación de aceite de pescado



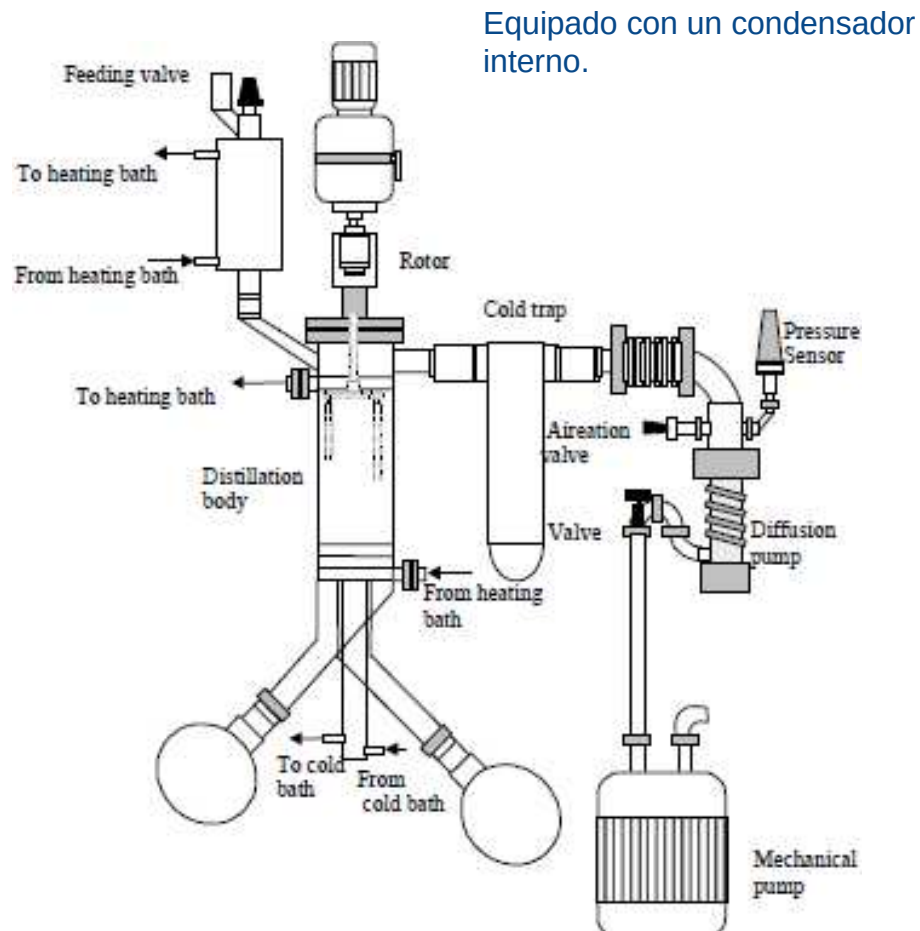
Reacilación enzimática

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

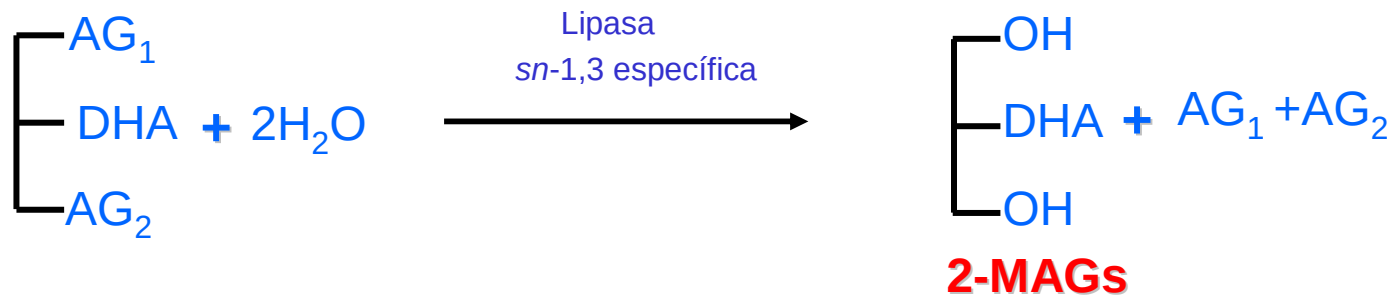
Run A20	Initial feed	Distillate obtained at temperature (°C)						Residue
	SVOEE-A ^a	50	70	90	110	130	150	
Yield (%)		1.7	7.7	21.2	29.1	21.8	7.4	6.0
Cholesterol (mg/100 g)	1,121	921	33	16	57	99	496	14334
Fatty acid (wt%)								
14:0	3.4	5.9	23.4	7.2	0.3	0	0	
16:0	13.9	15.4	29.4	34.4	14.1	1.0	0.1	
18:1	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.

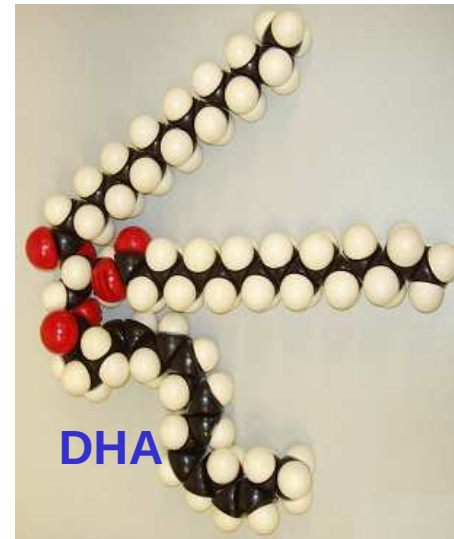
La degradación térmica de etil-EPA comienza a 159 °C y alcanza un máximo a 206 °C; etil-DHA comienza a 166 °C y es máxima a 217 °C

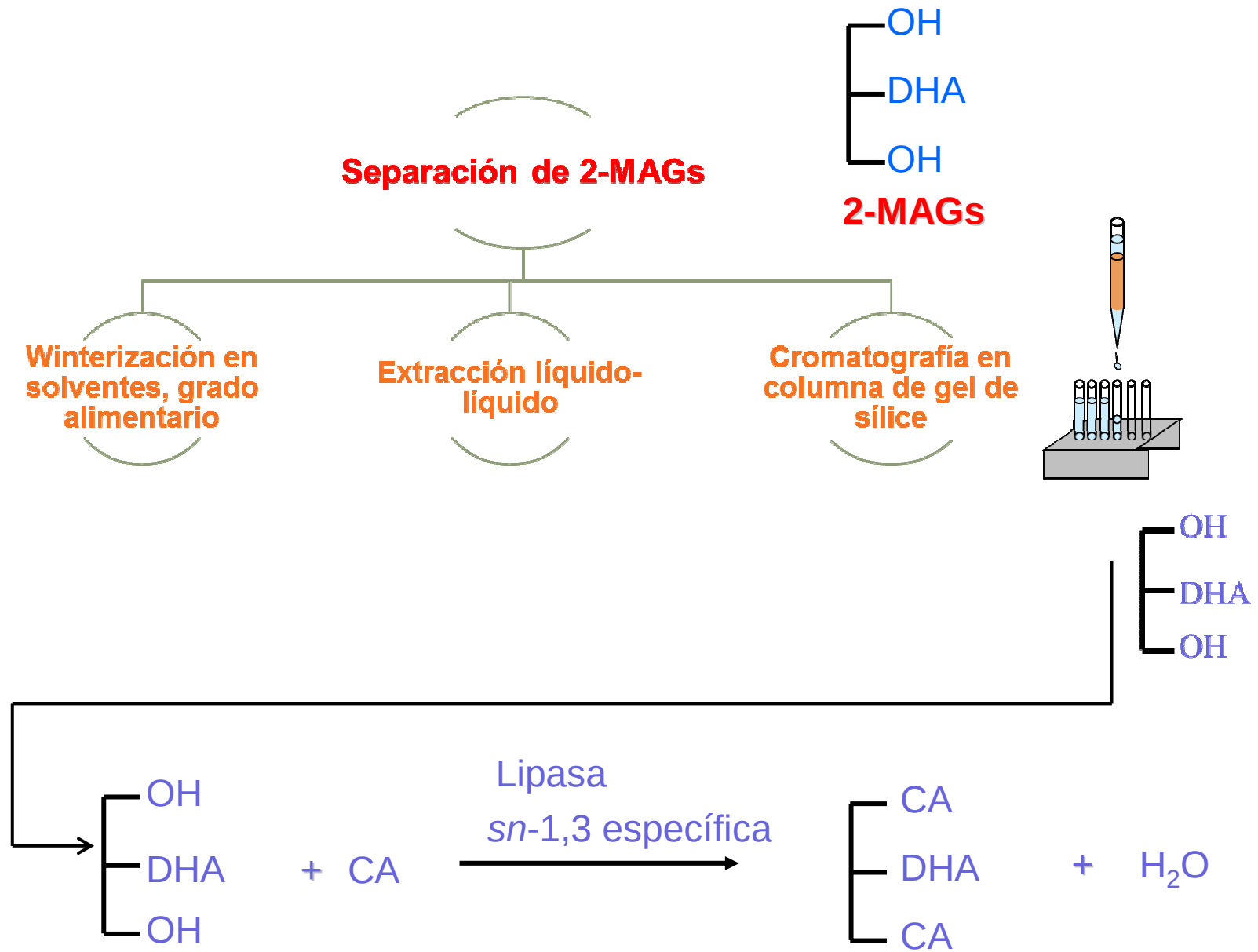
Métodos enzimáticos concentración y purificación de EPA y/o DHA

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.

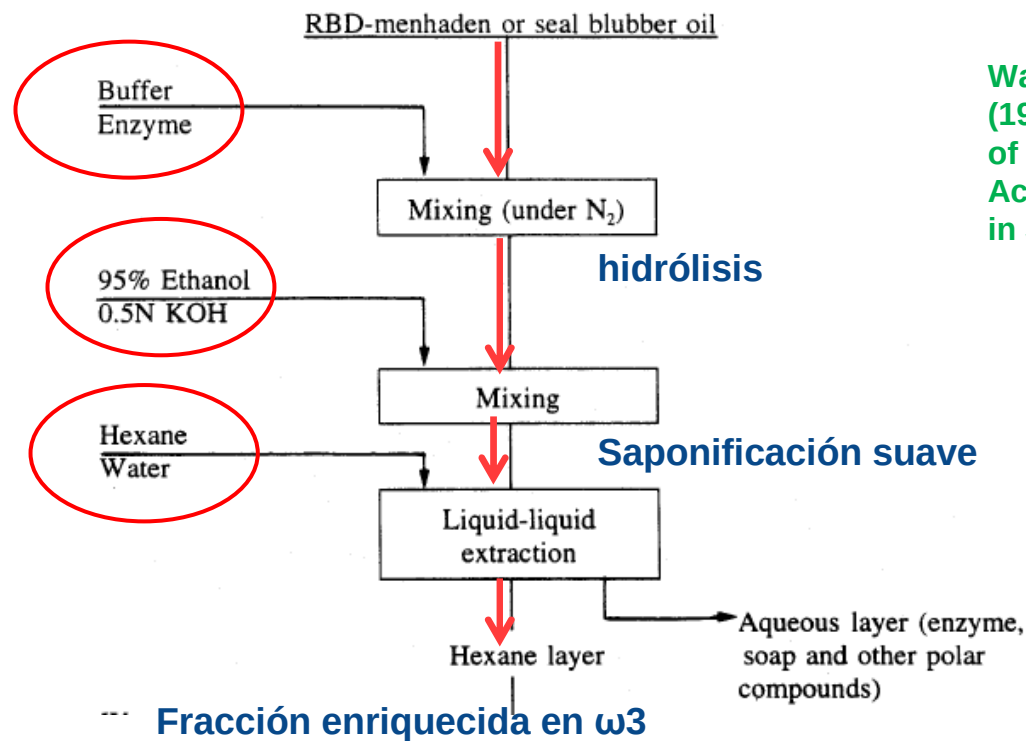




Posibilidad de obtención de triglicéridos estructurados

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

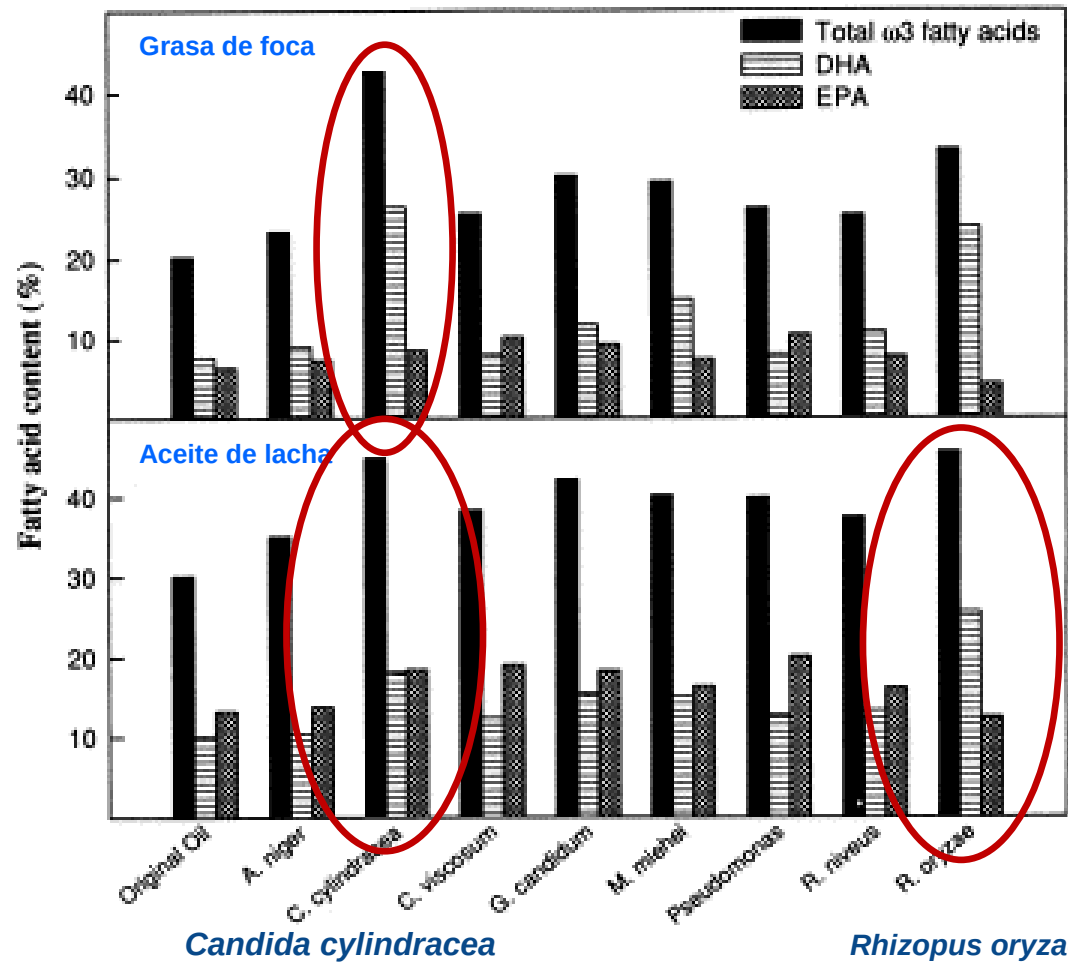
Udaya N. Wanasundara and Fereidoon Shahidi*



Wanasundara, U.N. and Shahidi, F. (1997) 'Lipase Assisted Concentration of $\omega 3$ -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*

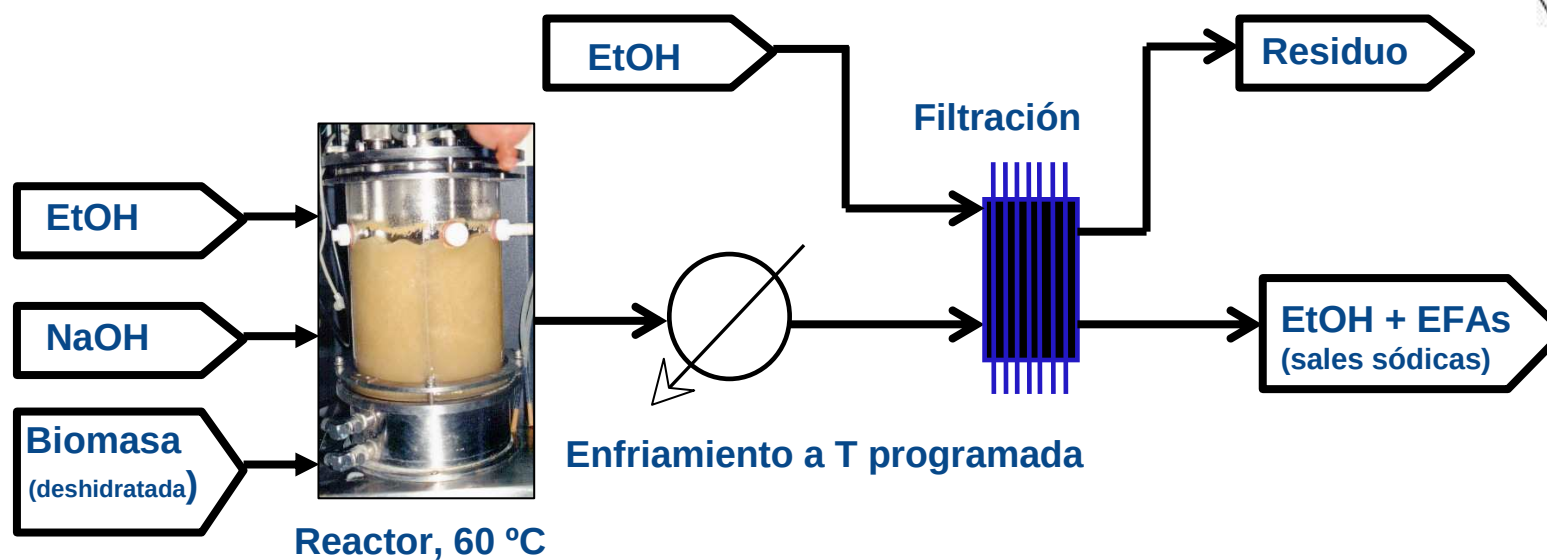


“... all lipases were effective in increasing the n-3 PUFA content of the remaining acylglycerols...”

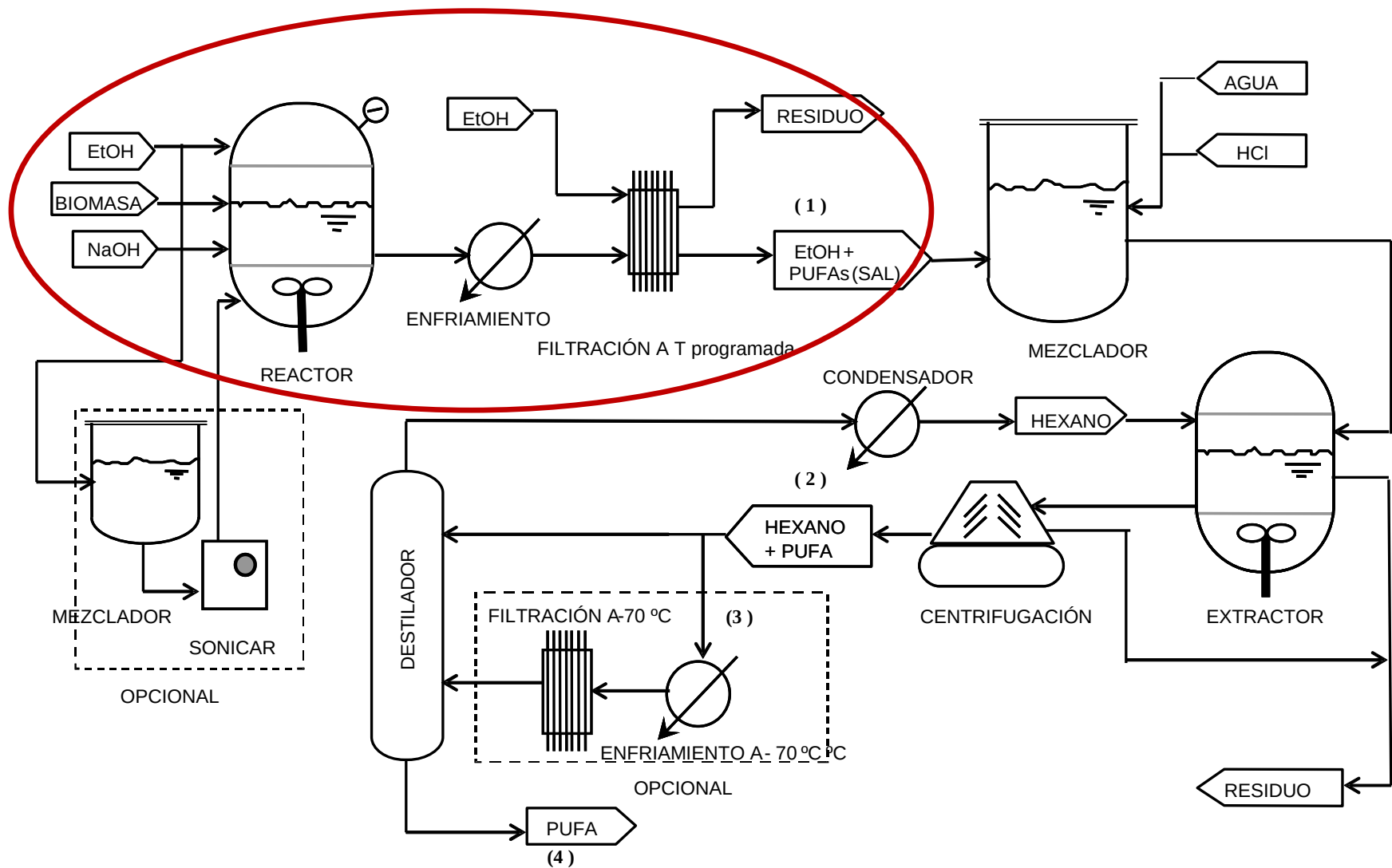
Enriquecimiento de ω3 total, EPA y DHA de grasa de foca y aceite de lacha después de 75 h de hidrólisis mediante diferentes lipasas microbianas

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

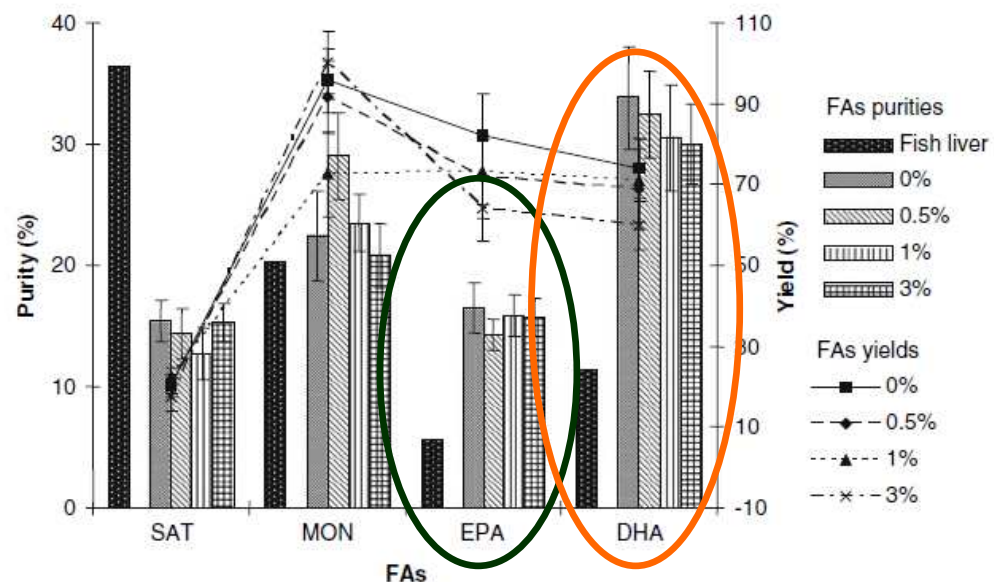
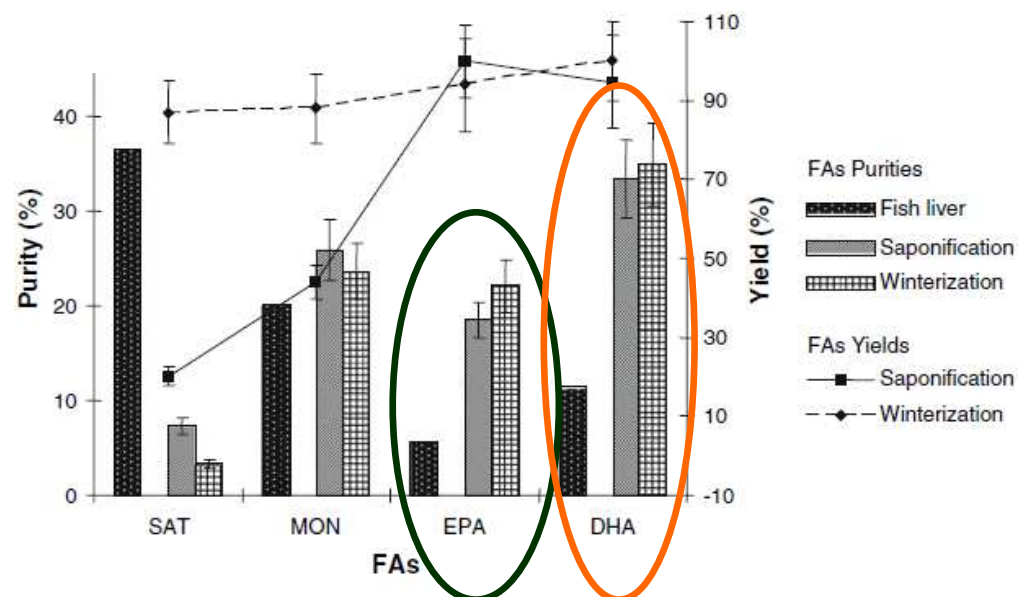


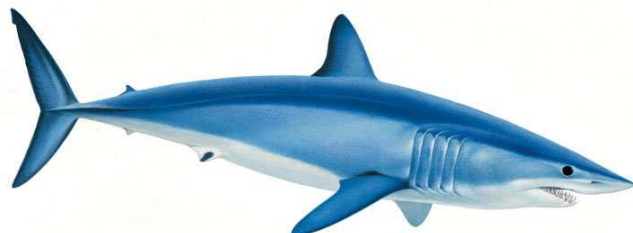
Fig. 1 Influence of different proportions of ethanol:water in the saponification mixture on the fish liver PUFA extraction-concentration process. Cooling temperature after saponification: +12 °C

Se superan las concentraciones alcanzadas por la destilación molecular

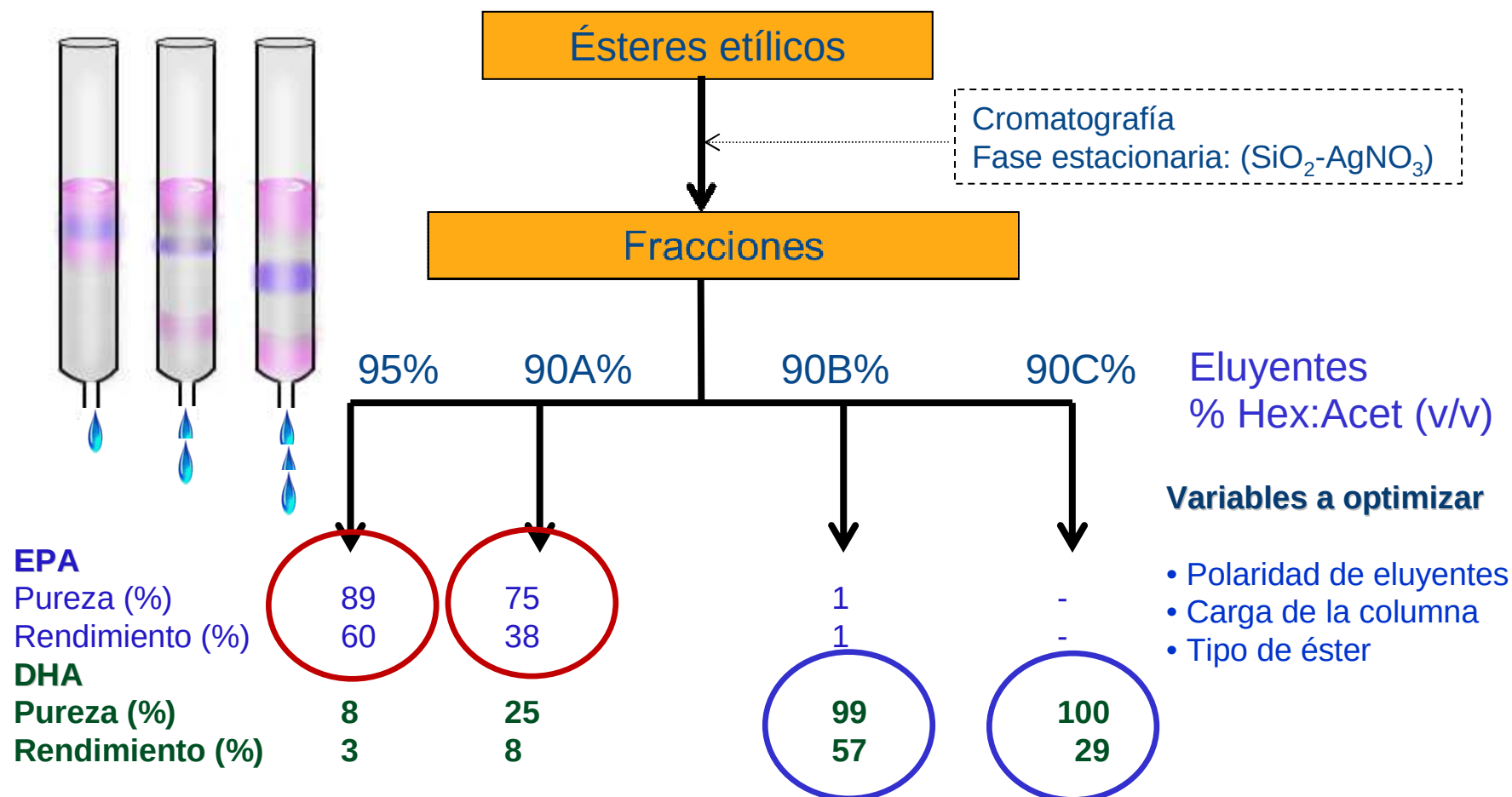
Fig. 2 FA purities and yields obtained in the simultaneous oil extraction/saponification/PUFA concentration process followed by winterization at -70 °C from fish liver oil. Cooling temperature after saponification: 12 °C. Water in the saponification mixture: 0%. Winterization temperature: -70 °C



Fraccionamiento de ésteres etílicos mediante cromatografía en columna



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

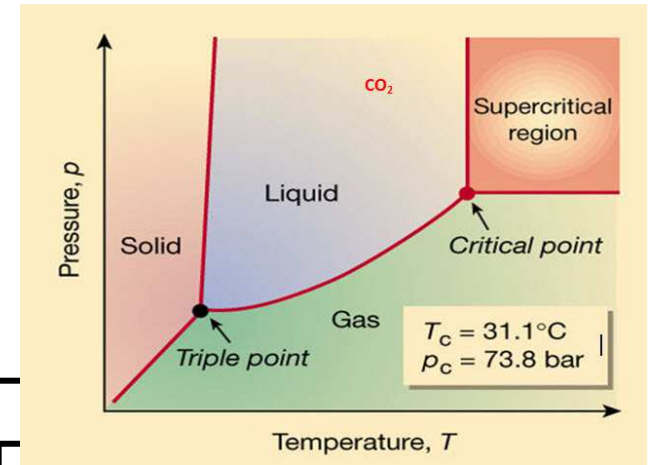


Isolation of some PUFA from edible oils by argentated silica gel chromatography
 By J.L. Guil-Guerrero*, P. Campra-Madrid and R. Navarro-Juárez. Grasas y Aceites
 116 Vol. 54. (2003), 116-121.

Concentración mediante FSC

Columnas de Extracción

Válvula reductora



Cambiadores de calor

Refrigerante

Separadores

Extracto

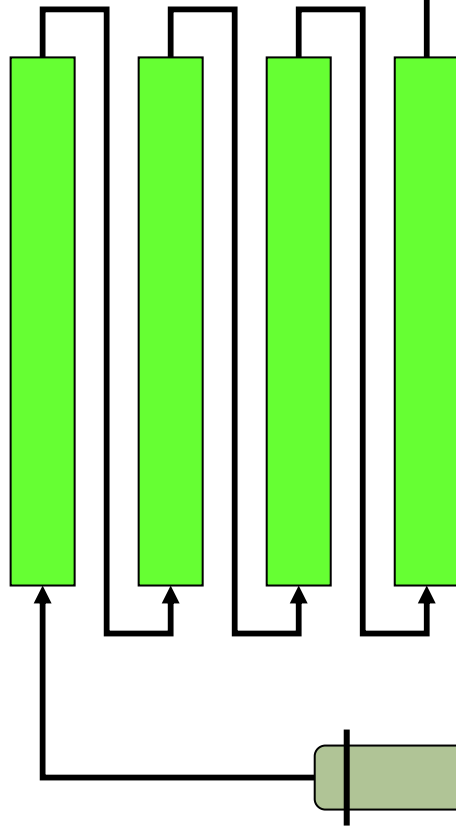
Extracto

Tanque de CO₂

CO₂

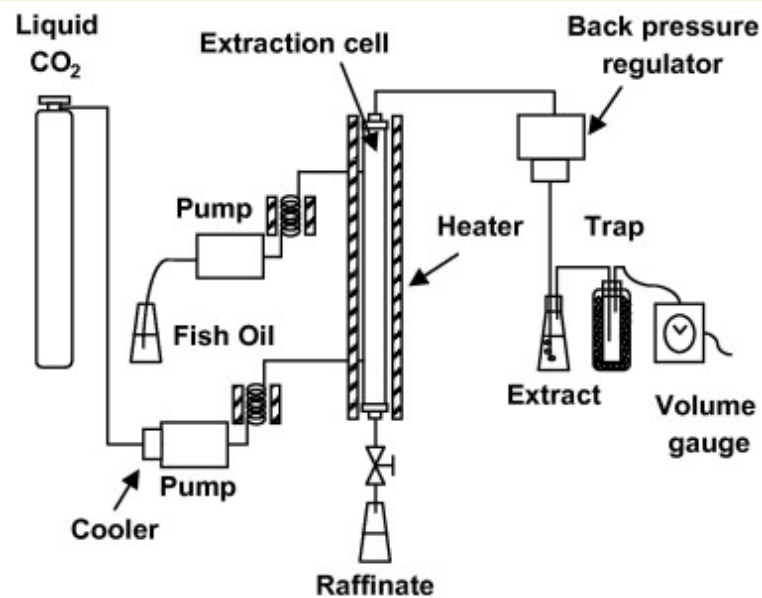
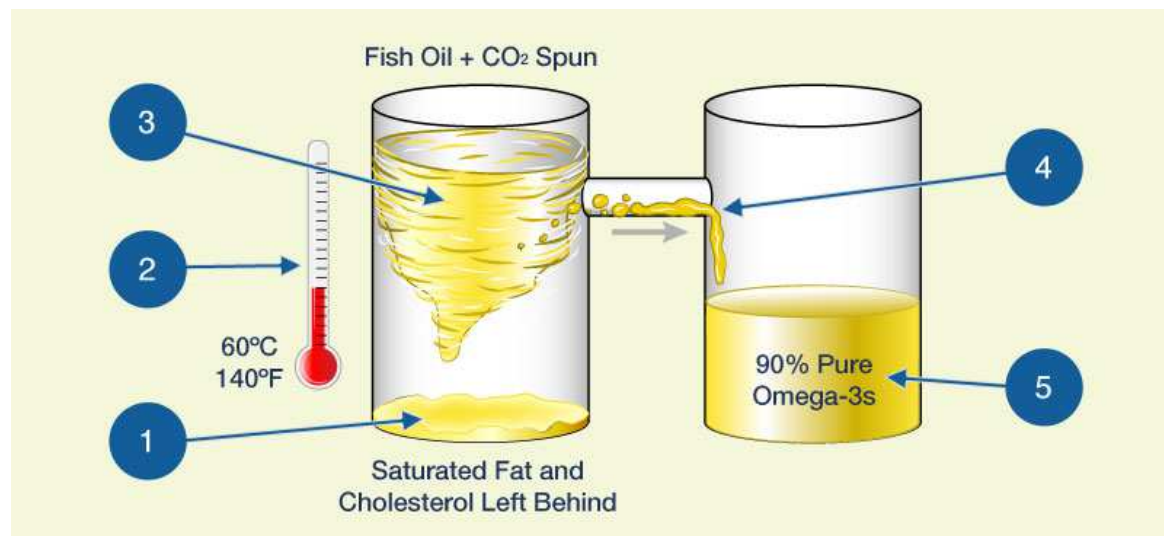
Bomba

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:

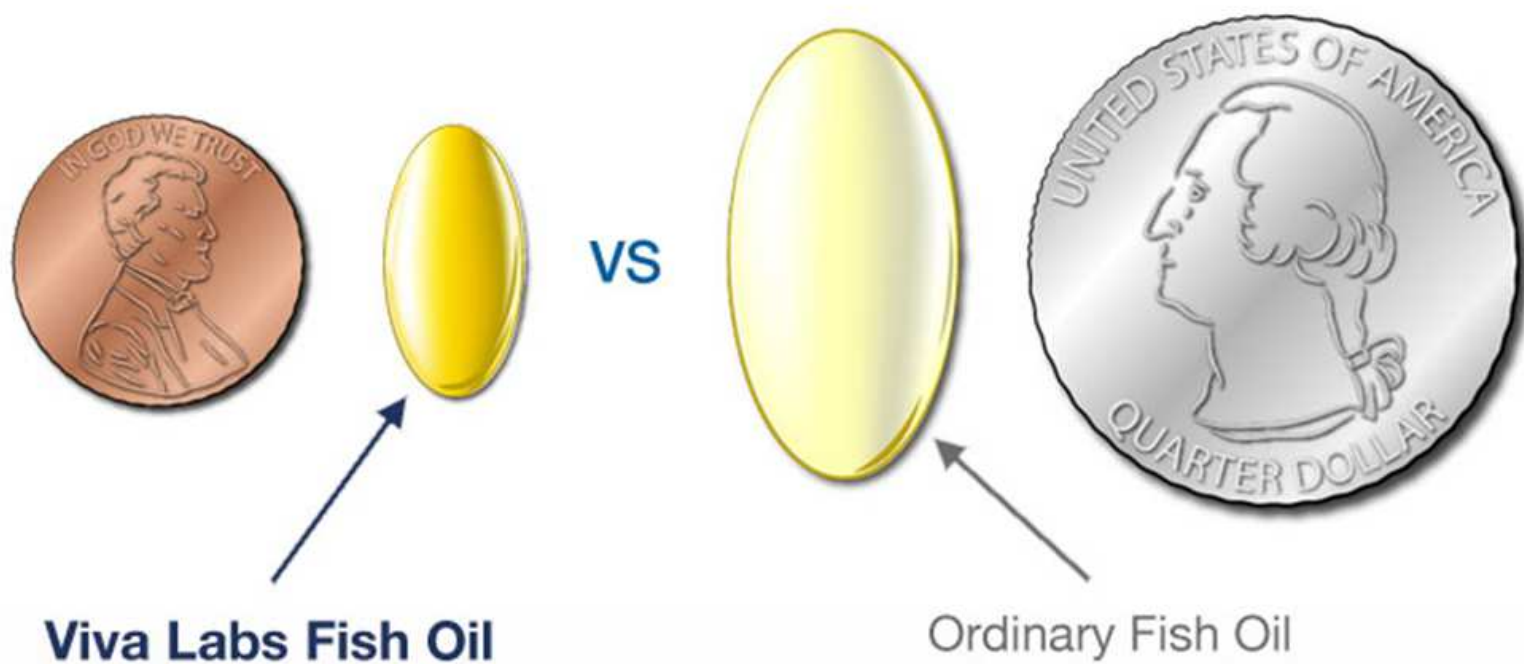
[Read Reviews](#)

Omega Select Fish Oil

Each Serving Provides:

[View Supplement Facts](#)

Capsule Size Comparison



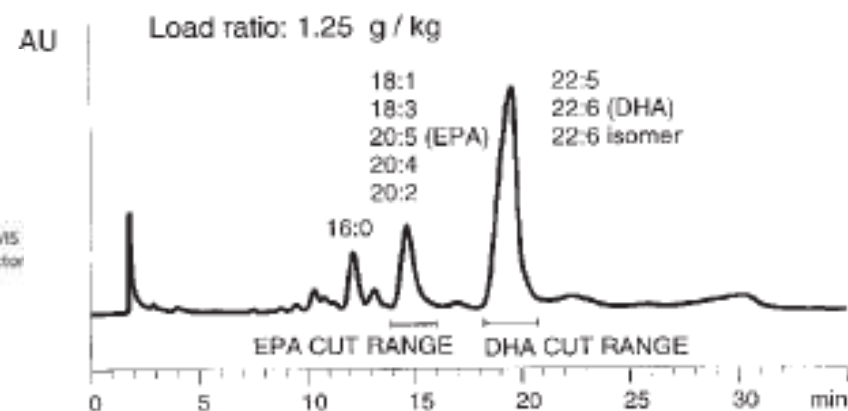
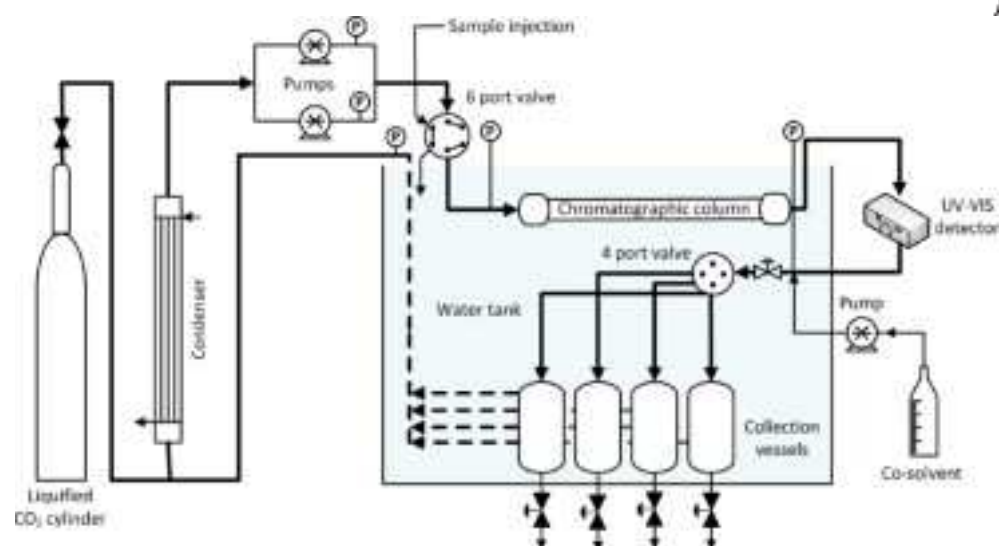
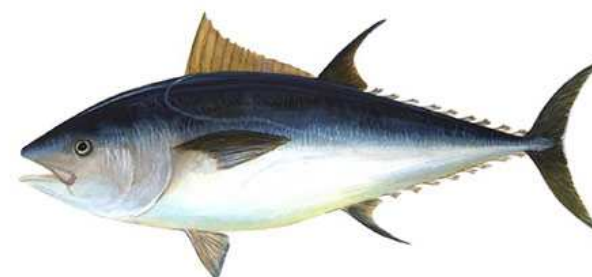
Purification of Polyunsaturated Fatty Acid Esters from Tuna Oil with Supercritical Fluid Chromatography

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

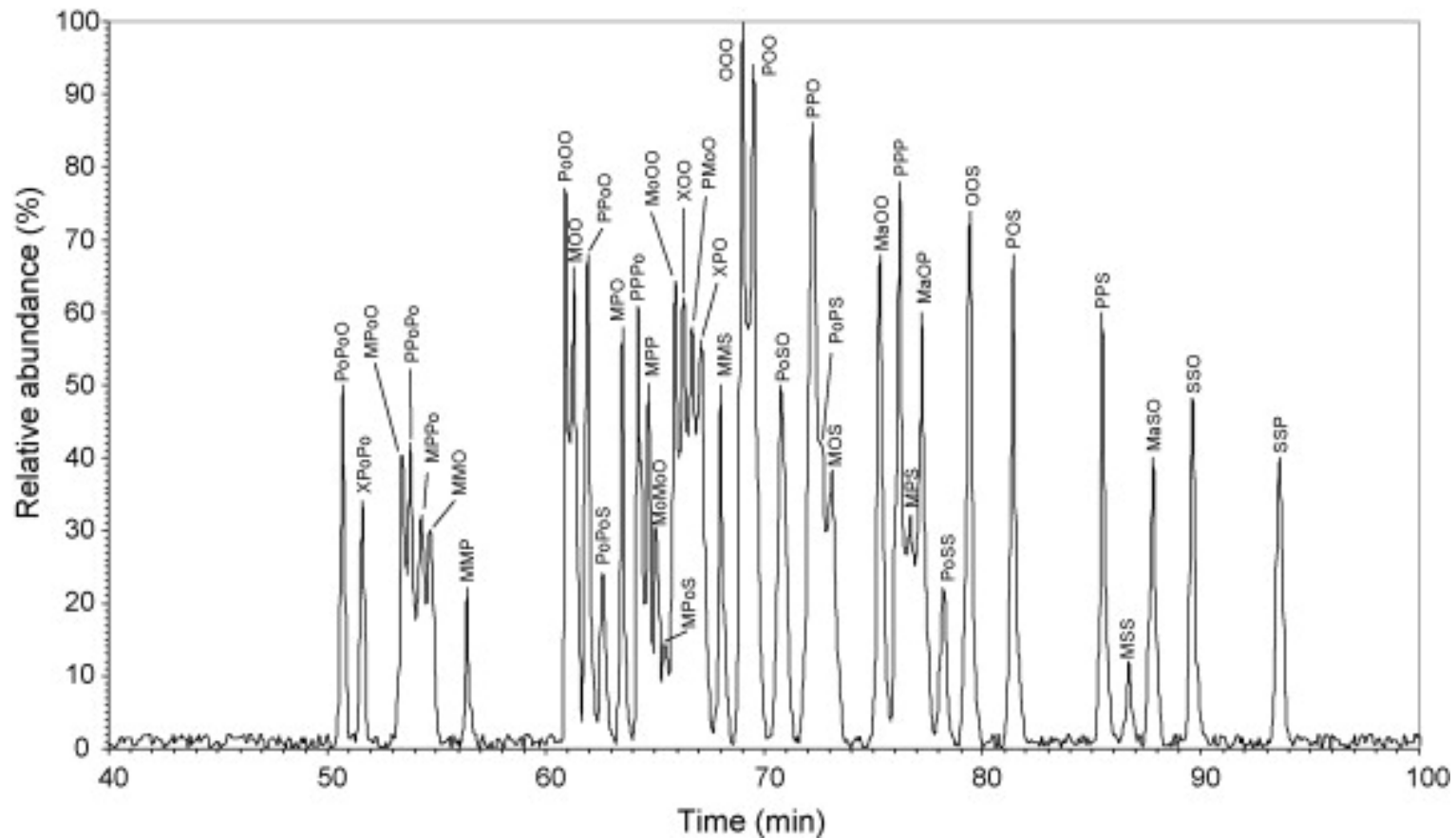
JAOCS, Vol. 77, no. 3 (2000)



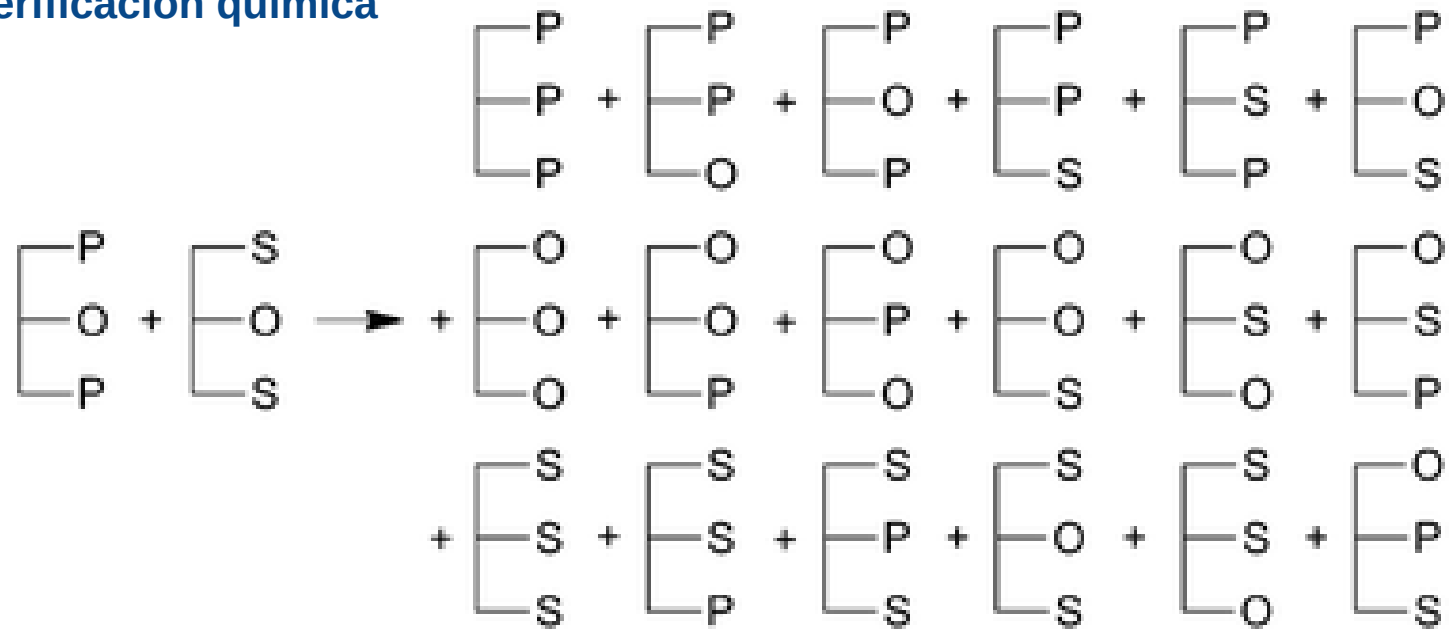
Load ratio (1.25 g/kg)	
DHA purity	EPA purity
0.0	0.0
57.3	17.8
93.7	43.6
100.0	31.8
100.0	37.5

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 x 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.

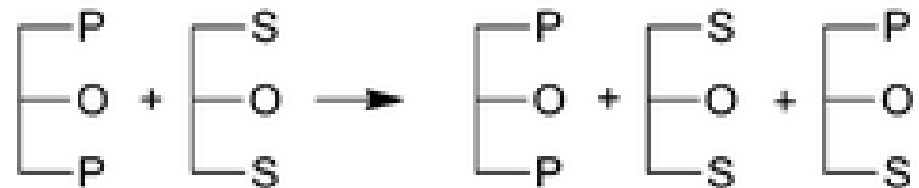
Aislamiento de fracciones funcionales de aceites



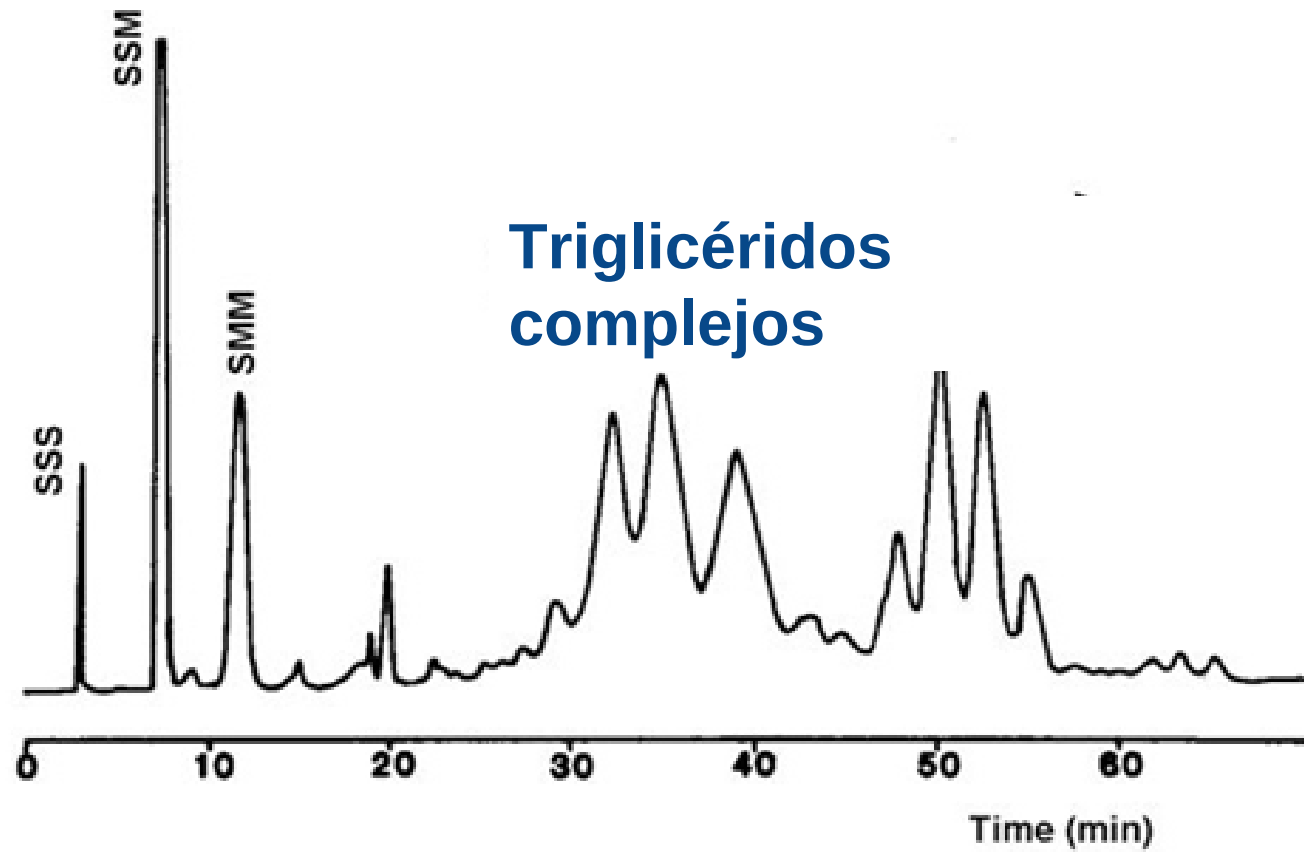
Interesterificación química



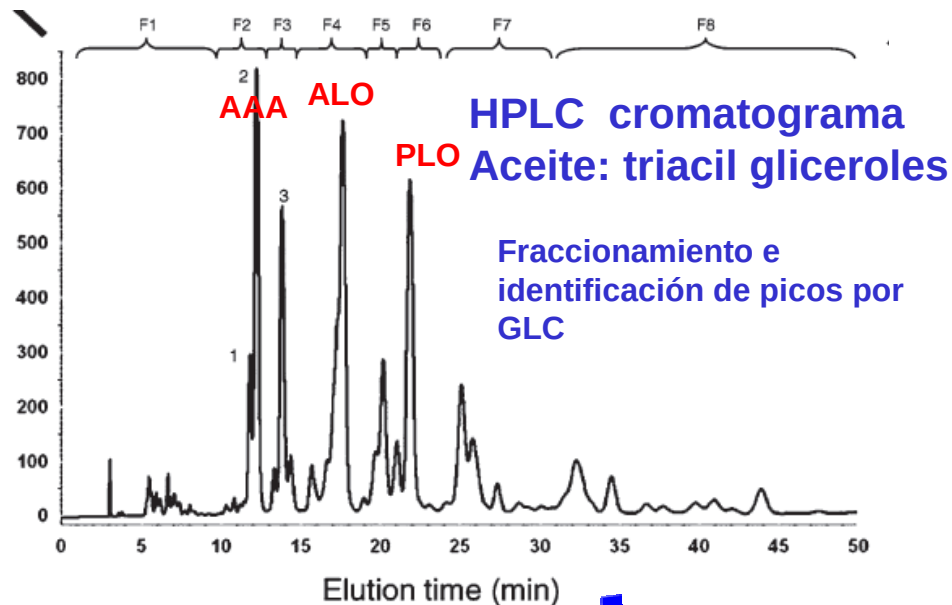
Interesterificación enzimática



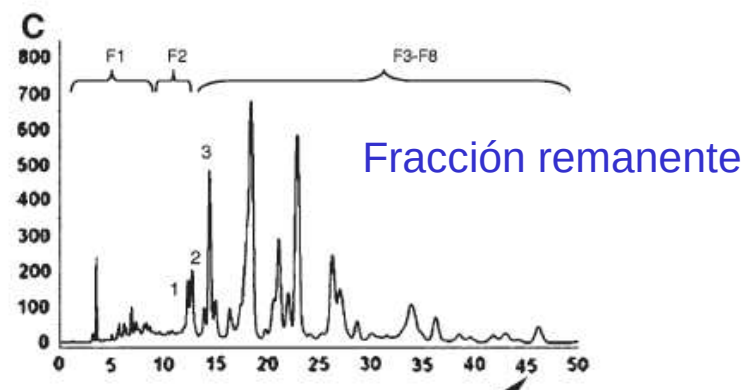
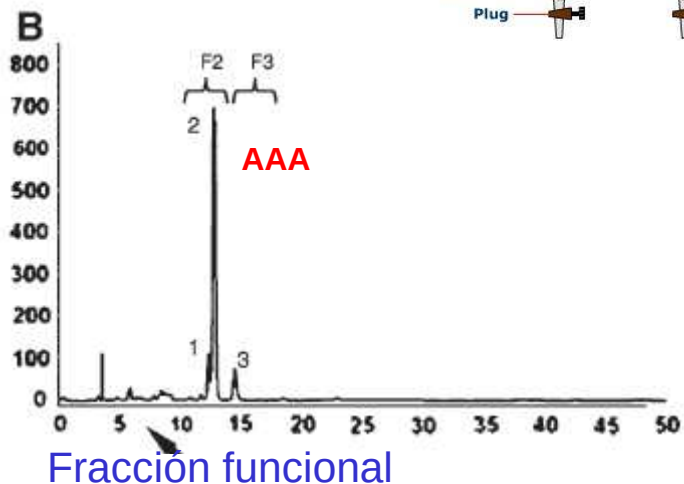
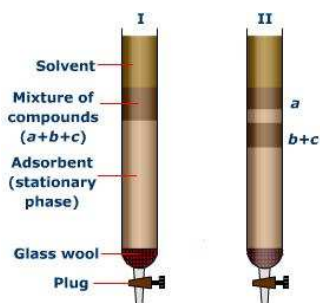
South African fish oil



Aislamiento de fracciones funcionales de aceite rico en ácido araquidónico



Araquidónico puro en forma de triglicérido

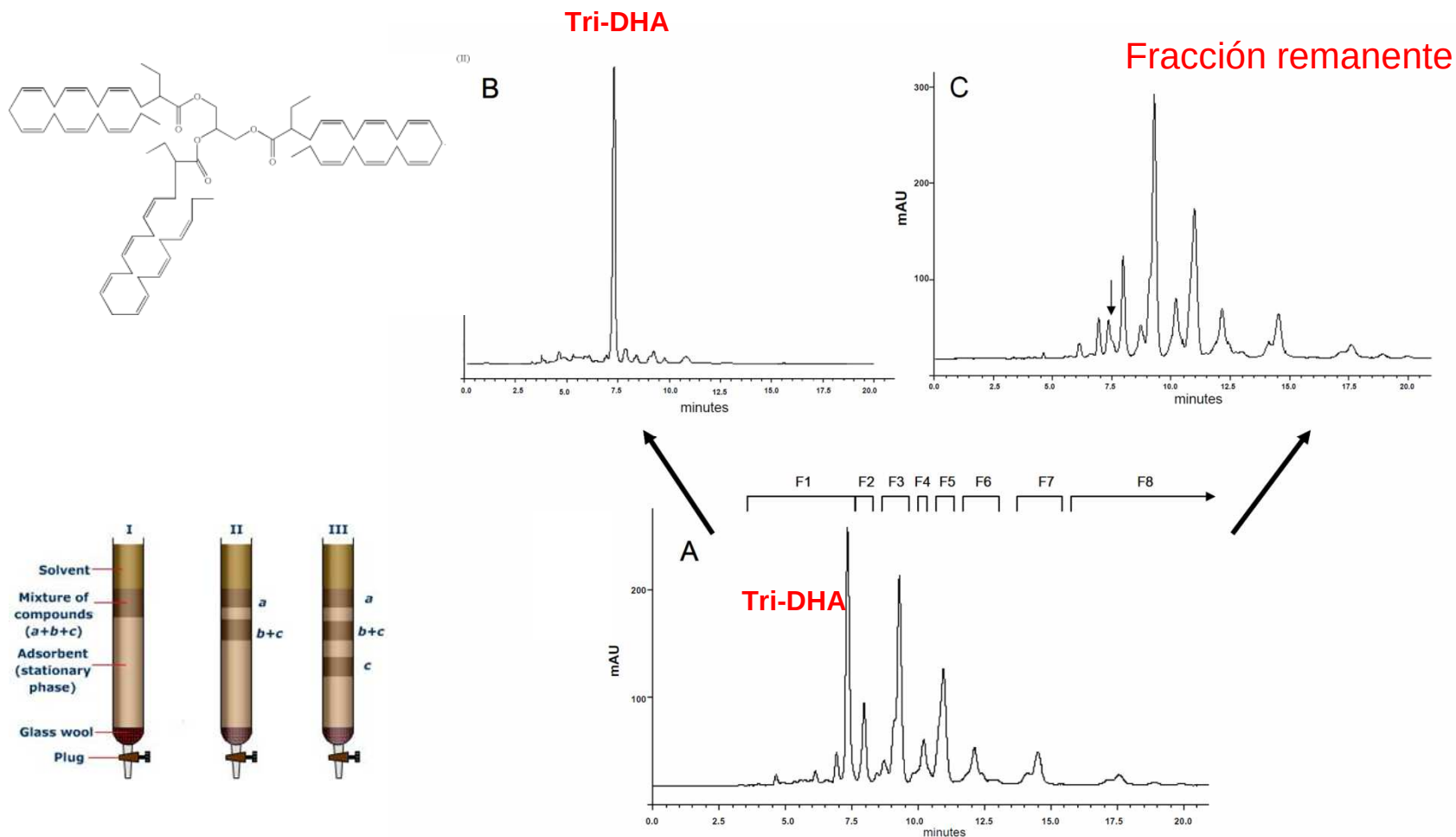


Triarachidonoyl Glycerol Purification Process



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

Tridocosaheenoil glycerol purification



Aceite: triacil gliceroles
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



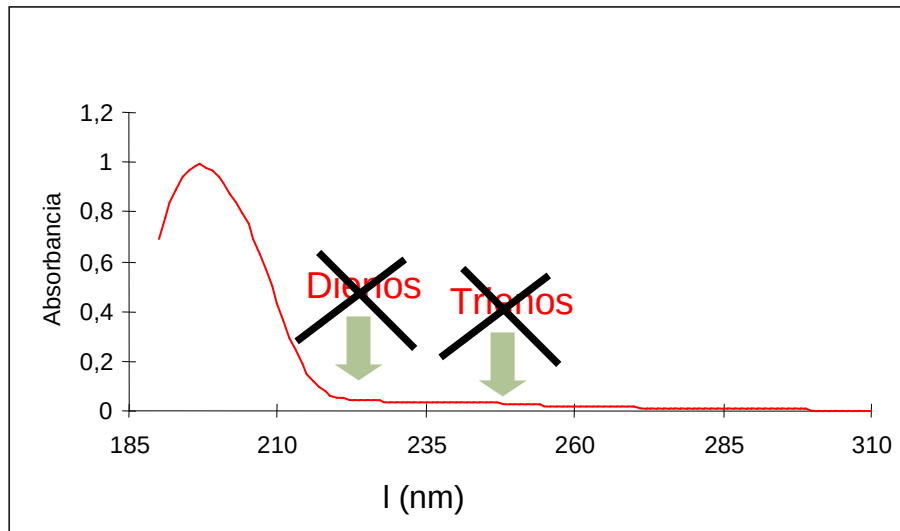
Factor de escalamiento (f) mediante la expresión:

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

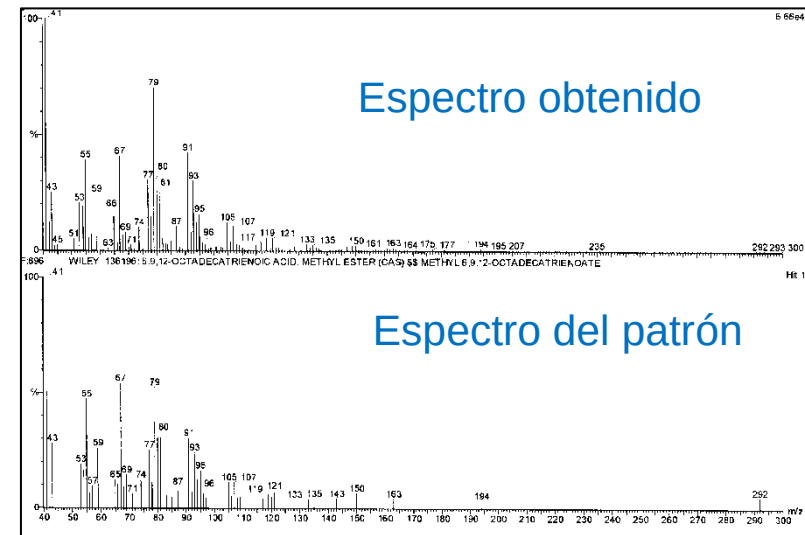
Donde D_1 y L_1 son, respectivamente, el diámetro y la longitud del reactor de menor tamaño y D_2 y L_2 el diámetro y la longitud del reactor de mayor tamaño.

Importante: control de calidad

Espectro UV-visible

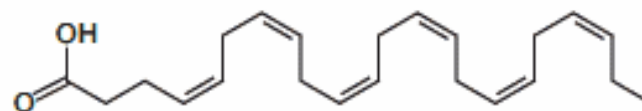


Espectrometría de masas

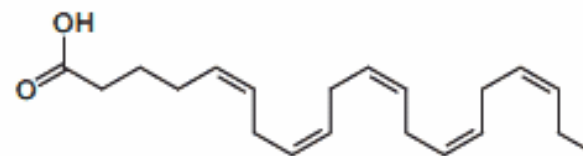




Tecnologías para el enriquecimiento de aceites de pescado en EPA y DHA



DHA (22:6n-3)



EPA (20:5n-3)

José Luis Guil Guerrero

Área de Tecnología de Alimentos
Universidad de Almería

Alimentos funcionales con omega 3 de origen marino

Prof. Dr. Juristo Fonollá Joya

Responsable del Área de Nutrición de Biosearch Life

Profesor Asociado de Ciencias y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada

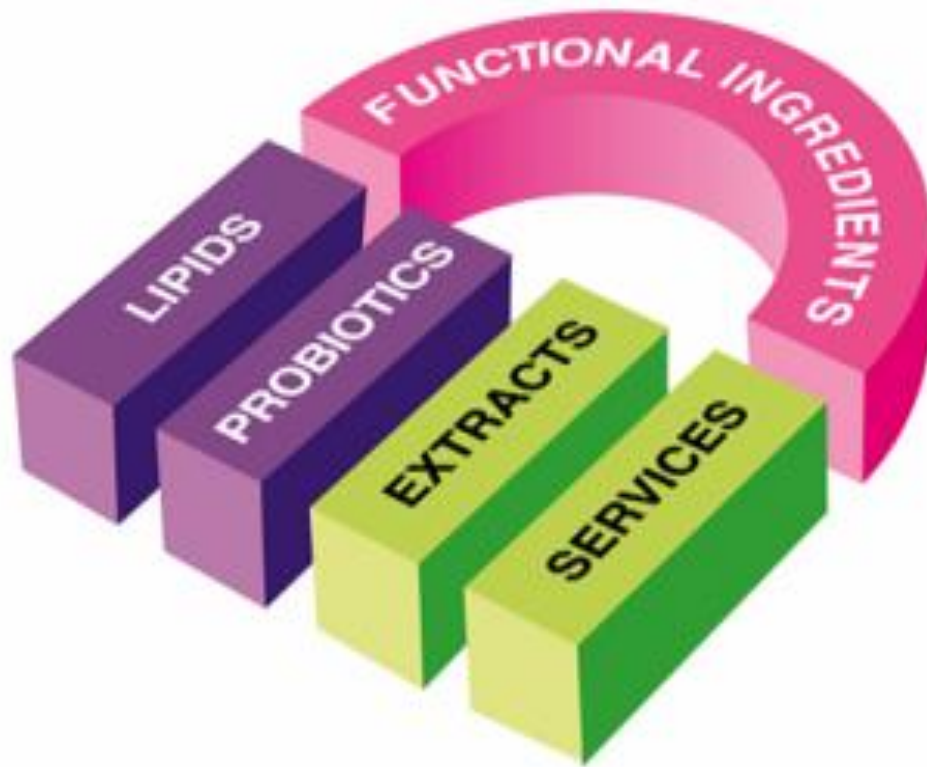
Profesor Asociado de Nutrición Humana y Dietética de la Universidad de Granada

Vigo, 8 de noviembre de 2013

INSTALACIONES

- **Granada:** Centro de I+D, Planta Piloto y Fábricas de producción de Lípidos y Probióticos (60)
- **Madrid:** Oficina de Ventas (20)
- **Cáceres:** Planta de producción de Extractos Vegetales (35)
- **Valladolid:** Planta de producción de Extractos Acuosos y Orgánicos (5)





Biosearch tiene 2 líneas principales de negocio:

- 1. I+D y Servicios de Análisis**
(principalmente para Lactalis)
- 2. Ingredientes funcionales**
(fabricación y comercialización)



“La salud de todo el cuerpo se fragua en la oficina del estómago”

*Miguel de Cervantes Saavedra en
El ingenioso hidalgo don Quijote de la Mancha*

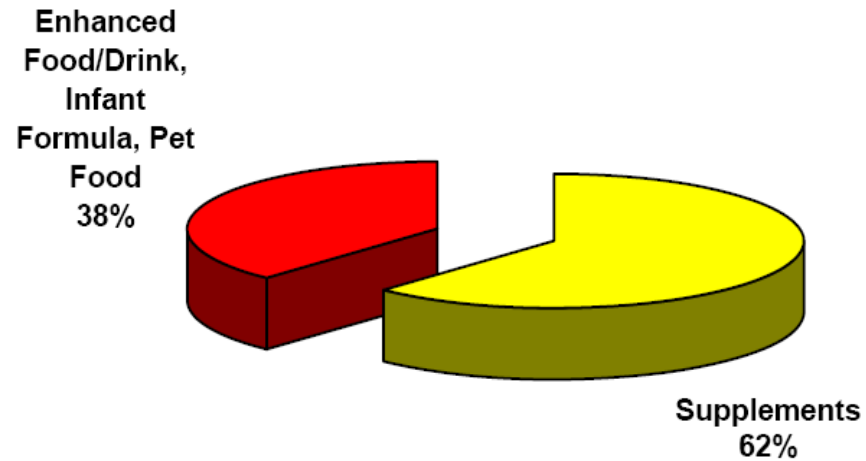
SENC, 2004



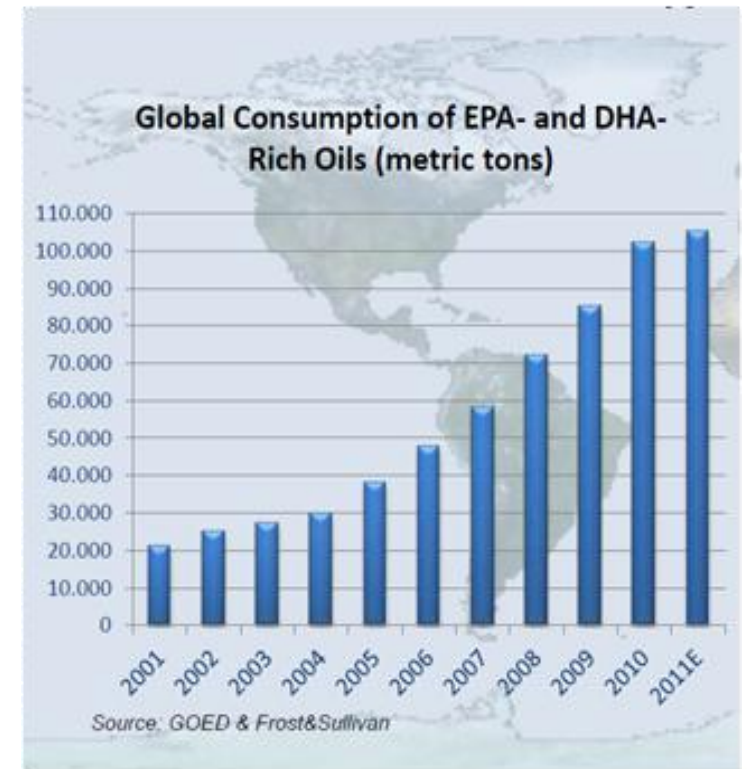
biosearch life



Omega-3 ingredients market share by sector, YE June 2007 (Volume %)



Source: Leatherhead Food International



Son alimentos



No píldoras



*Un **alimento** puede ser considerado **funcional** si se logra **demostrar** satisfactoriamente que posee un **efecto beneficioso** sobre una o varias funciones específicas en el organismo, que **mejora** el estado de salud y de bienestar, o bien que **reduce** el riesgo de una enfermedad.*

Nutrición + Efecto Saludable

Enfoques prioritarios

Las alegaciones de salud:

- Deben estar científicamente fundamentadas.
- Deben ser válidas para el alimento tal como se lo consume en la actualidad o como se prevé que habrá de consumirse en el futuro para alcanzar una dosis efectiva mínima.
- Deben comunicarse al consumidor en forma clara, comprensible y veraz.

Por tanto, existe la urgente necesidad de establecer directivas sobre la manera de:

- Respalda la fundamentación científica de los efectos como base de las alegaciones.
- Comunicar los beneficios a los consumidores y a los profesionales de la salud.

Conceptos sobre Alimentos Funcionales. ILSI, 2002.

EUROPEAN PARLIAMENT

2004



2009

Proposal for a

**REGULATION OF THE EUROPEAN
PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL
on nutrition and health claims made on foods**

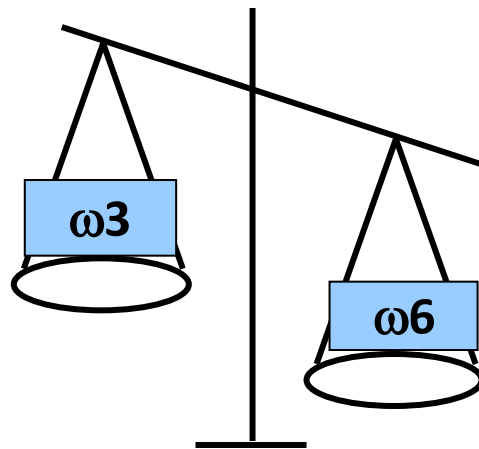
eupoly-3[®]

OMEGA-3 EPA+DHA

Passion for INNOVATION
Passion for LIFE

Innovation | Manufacturing | Quality



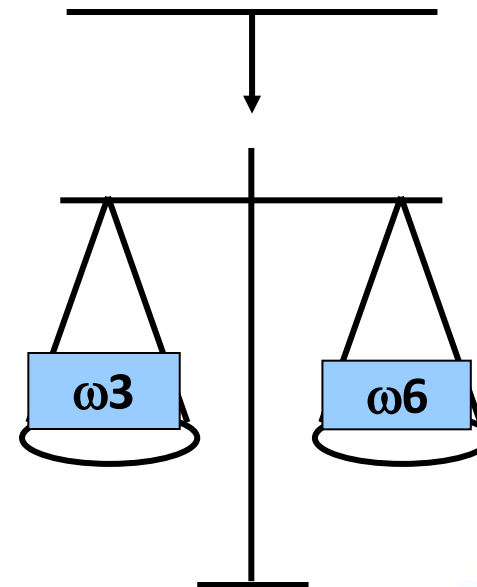


Dieta occidental

Pescado



**Alimentos
funcionales**







Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies.

Eduardo López-Huertas

Estación Experimental del Zaidín, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Profesor Albareda 1, Granada 18008, Spain

4. Summary of intervention studies

A total of 9 intervention studies reporting CV effects of milks containing EPA and DHA PUFA and/or oleic acid were found using PubMed searches. Out of those, 7 were carried out with healthy subjects or groups with increased CV risk factors, and two studies with CVD patients. In all the studies, milk fat was substituted by EPA and DHA PUFA from refined fish oils with or without other vegetable oils (mainly olive oil and high-oleic sunflower oil). Study design, intervention groups, daily intake of nutrients from the dairy...

- [Romeo J, Wärnberg J, García-Mármol E, Rodríguez-Rodríguez M, Díaz LE, Gómez-Martínez S, Cueto B, López-Huertas E, Cepero M, Fonollá J, Marcos A.](#) Daily consumption of milk enriched with fish oil, oleic acid, minerals and vitamins reduces cell adhesion molecules in healthy children. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2011 Feb;21(2):113-20.
- [Martín-Bautista E, Muñoz-Torres M, Fonollá J, Quesada M, Poyatos A, López-Huertas E.](#) Improvement of bone formation biomarkers after 1-year consumption with milk fortified with eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, oleic acid, and selected vitamins. *Nutr Res.* 2010; 30 (5) :320-6.
- [Fonollá J, López-Huertas E, Machado FJ, Molina D, Álvarez I, Mármol E, Navas M, Palacín E, García-Valls MJ, Remón B, Boza JJ, Marti JL.](#) Milk enriched with “healthy fatty acids” improves cardiovascular risk markers and nutritional status in human volunteers. *Nutrition.* 2009; 25 (4): 408-14.
- [Carrero JJ, Fonollá J, Marti JL, Jiménez J, Boza JJ, López-Huertas E.](#) Intake of fish oil, oleic acid, folic acid, and vitamins B-6 and E for 1 year decreases plasma C-reactive protein and reduces coronary heart disease risk factors in male patients in a cardiac rehabilitation program. *J Nutr.* 2007; 137 (2): 384-90.
- [Carrero JJ, López-Huertas E, Salmerón LM, Baró L, Ros E.](#) Daily supplementation with (n-3) PUFAs, oleic acid, folic acid, and vitamins B-6 and E increases pain-free walking distance and improves risk factors in men with peripheral vascular disease. *J Nutr.* 2005;135 (6): 1393-9.
- [Carrero JJ, Baró L, Fonollá J, González-Santiago M, Martínez-Férez A, Castillo R, Jiménez J, Boza JJ, López-Huertas E.](#) Cardiovascular effects of milk enriched with omega-3 polyunsaturated fatty acids, oleic acid, folic acid, and vitamins E and B6 in volunteers with mild hyperlipidemia. *Nutrition.* 2004; 20 (6): 521-7.
- [Baró L, Fonollá J, Peña JL, Martínez-Férez A, Lucena A, Jiménez J, Boza JJ, López-Huertas E.](#) n-3 Fatty acids plus oleic acid and vitamin supplemented milk consumption reduces total and LDL cholesterol, homocysteine and levels of endothelial adhesion molecules in healthy humans. *Clin Nutr.* 2003; 22 (2): 175-82.



Nutrition 25 (2009) 408–414

NUTRITION[™]

www.nutritionjml.com

Applied nutritional investigation

Milk enriched with “healthy fatty acids” improves cardiovascular risk markers and nutritional status in human volunteers

Juristo Fonollá, Ph.D.^{a,*}, Eduardo López-Huertas, Ph.D.^a, Francisco J. Machado, Ph.D.^b,
Diego Molina, M.D.^c, Ignacio Álvarez, M.D.^d, Enrique Mármol, M.D.^e,
Mónica Navas, M.D.^f, Eduardo Palacín, M.D.^g, María J. García-Valls, Ph.D.^h,
Begoña Remón, Ph.D.^c, Julio J. Boza, Ph.D.^a, and José L. Marti, Ph.D.ⁱ

^a *Nutrition and Health Department, Puleva Biotech S.A., Granada, Spain*

^b *Medical Service of Granada University, Granada, Spain*

^c *Medical Service of El Corte Inglés-Granada, Granada, Spain*

^d *Medical Service of Alcampo-Granada, Granada, Spain*

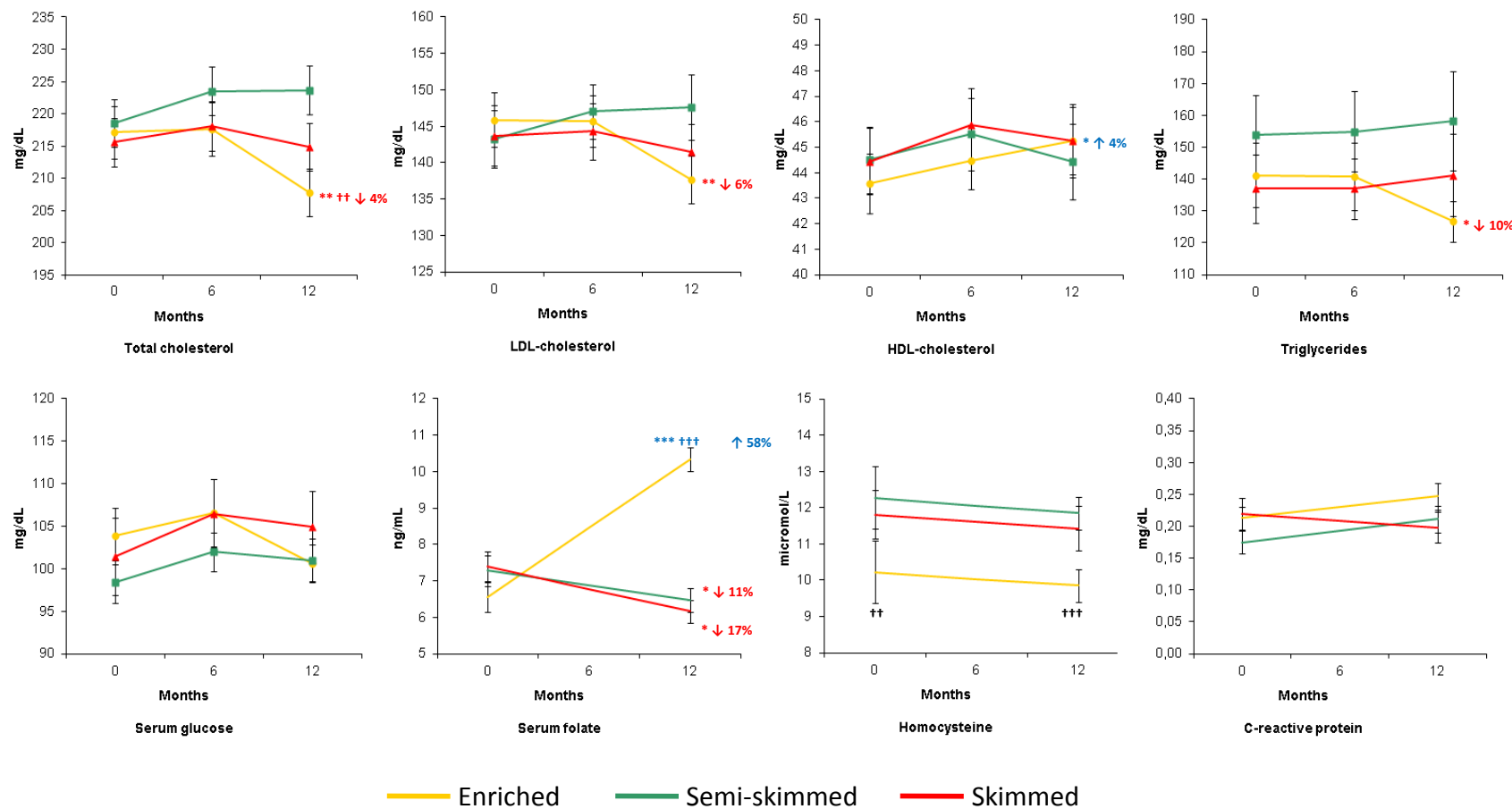
^e *Medical Service of Hipercor-Granada, Granada, Spain*

^f *Medical Service of Puleva Food S.A., Granada, Spain*

^g *Medical Service of INAGRA S.A., Granada, Spain*

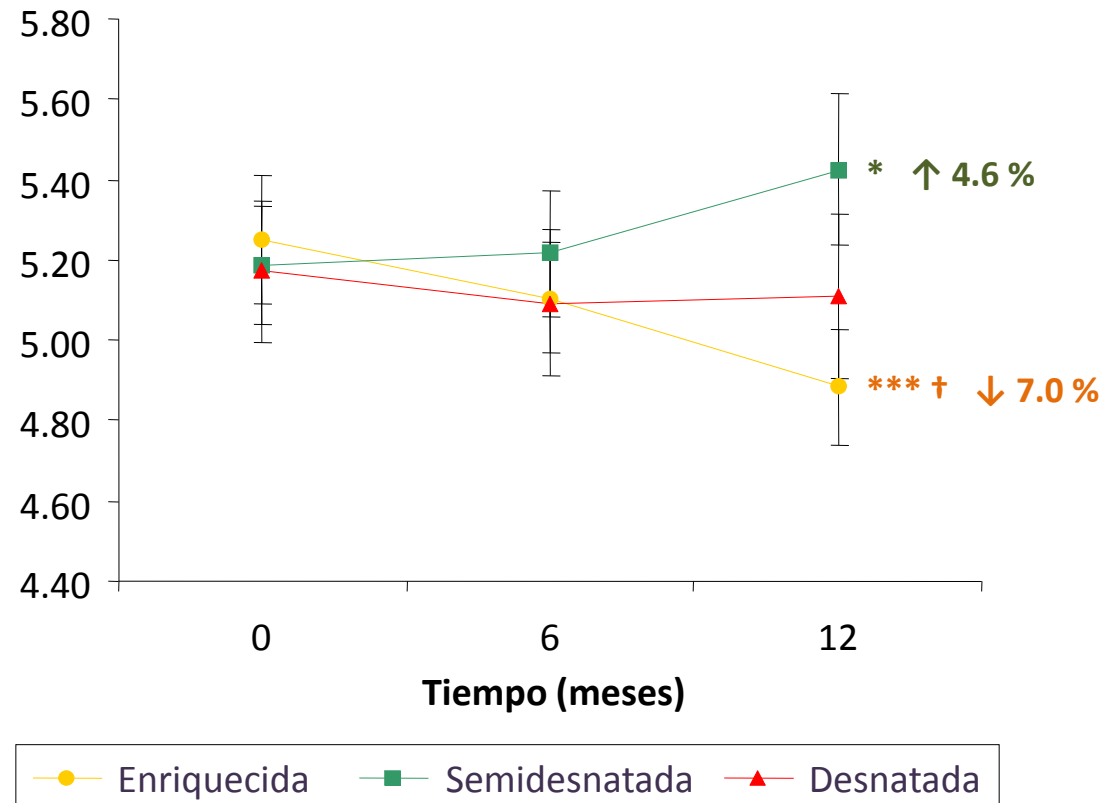
^h *Medical Service of Cervezas Alhambra S.A., Granada, Spain*

ⁱ *Department of Cardiology, University Hospital “San Cecilio”, Granada, Spain*



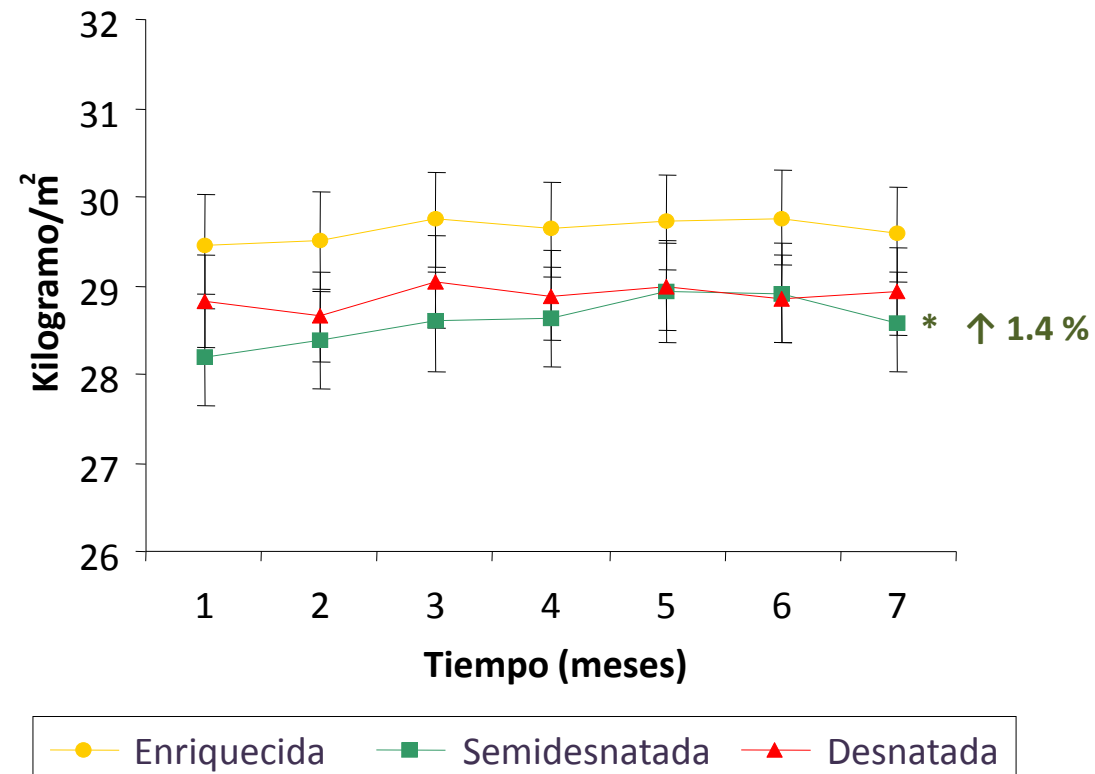
* $p > 0.05$, ** $p > 0.01$, *** $p > 0.001$ vs T0; † $p > 0.05$, †† $p > 0.01$, ††† $p > 0.001$ vs semi-skimmed; $p > 0.05$, $p > 0.01$, $p > 0.001$ vs skimmed

Colesterol total/HDL

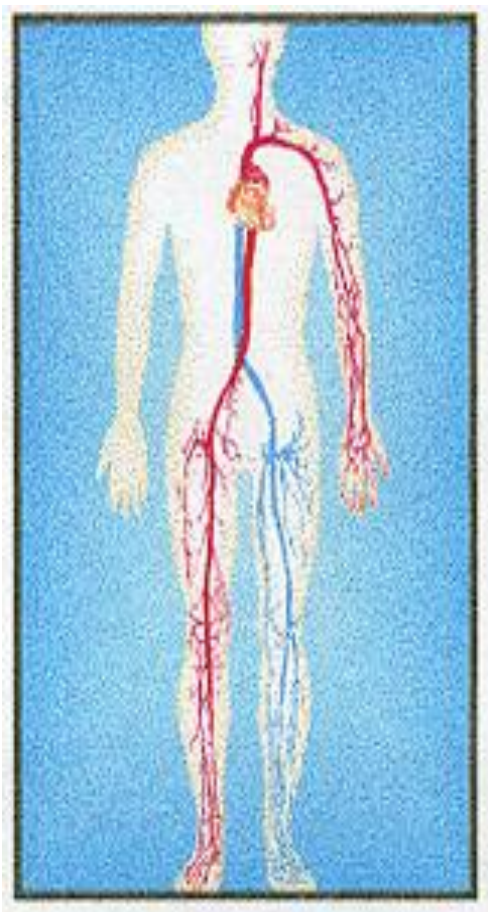


* $p > 0.05$, ** $p > 0.01$, *** $p > 0.001$ vs T0; † $p > 0.05$, †† $p > 0.01$, ††† $p > 0.001$ vs semidesnatada; $p > 0.05$, $p > 0.01$, $p > 0.001$ vs desnatada

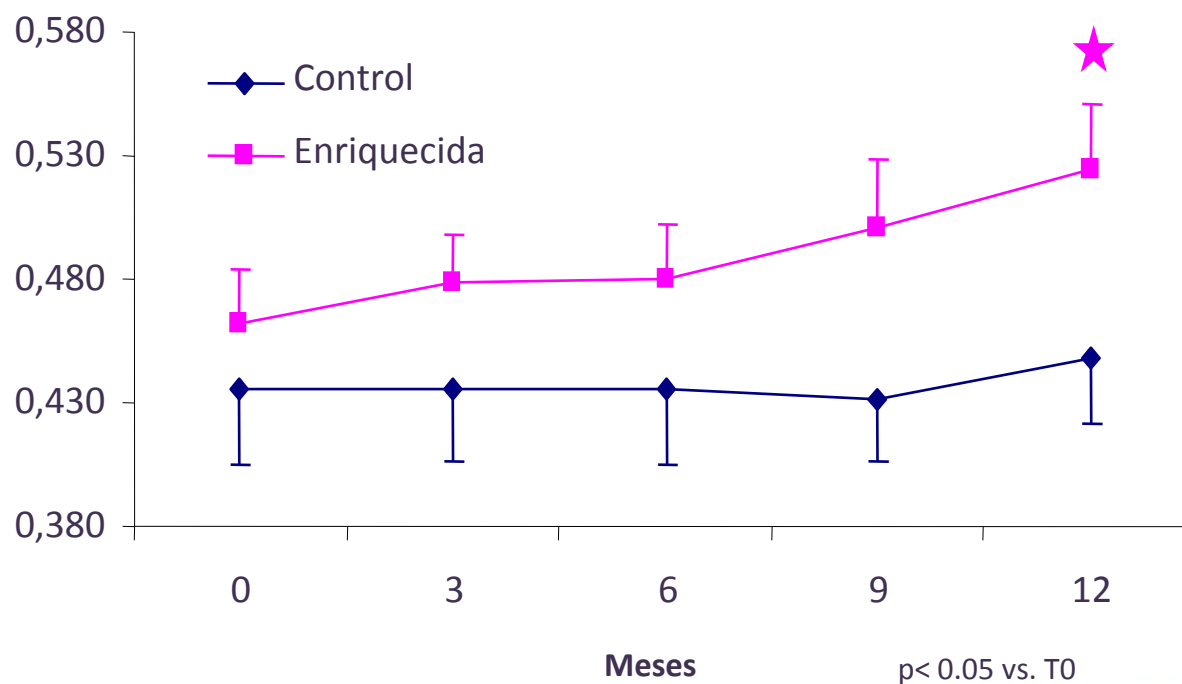
Índice de Masa Corporal



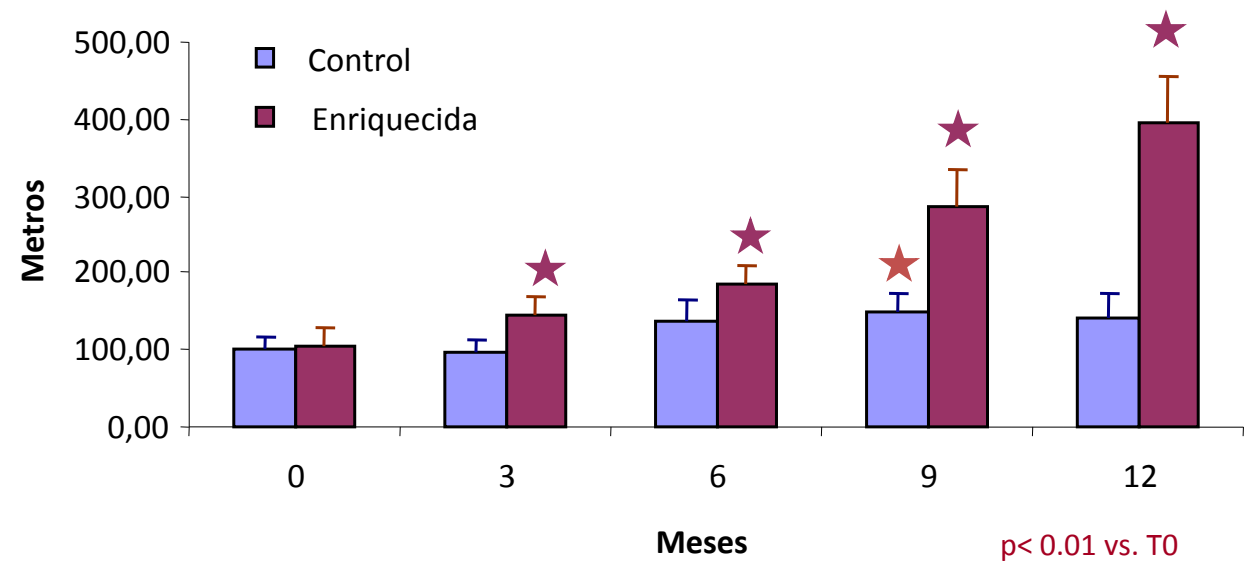
* $p > 0.05$, ** $p > 0.01$, *** $p > 0.001$ vs T0; † $p > 0.05$, †† $p > 0.01$, ††† $p > 0.001$ vs semidesnatada; $p > 0.05$, $p > 0.01$, $p > 0.001$ vs desnatada



Índice ABI



Tapiz rodante



Tiempo (meses)	0	3	6	9	12
Enriquecida	105 ± 22	146 ± 22	184 ± 26	288 ± 46	394 ± 61
Control	99 ± 17	97 ± 16	137 ± 27	148 ± 26	143 ± 28



The Journal of Nutrition
Nutrient Requirements and Optimal Nutrition

Intake of Fish Oil, Oleic Acid, Folic Acid, and Vitamins B-6 and E for 1 Year Decreases Plasma C-Reactive Protein and Reduces Coronary Heart Disease Risk Factors in Male Patients in a Cardiac Rehabilitation Program¹

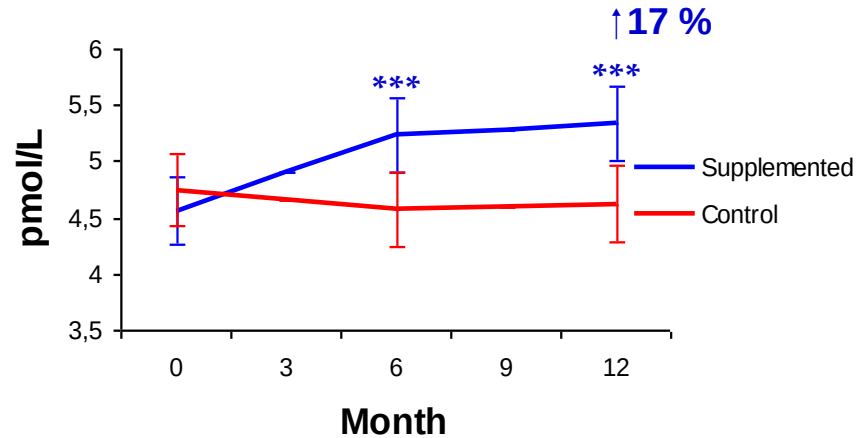
Juan Jesús Carrero,² Juristo Fonollá,³ José Luis Martí,⁴ Jesús Jiménez,³ Julio J. Boza,³ and Eduardo López-Huertas^{3*}

²Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Granada, Spain; ³Department of Human Nutrition, Puleva Biotech, Granada, Spain; and ⁴Service of Cardiology, University "San Cecilio" Hospital, Granada, Spain

Abstract

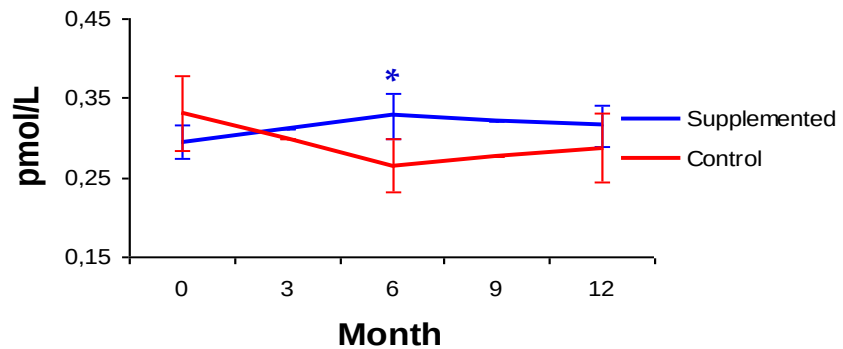
Certain nutrients have been shown to be effective in preventing coronary heart disease. We hypothesized that a daily intake of low amounts of a number of these nutrients would exert beneficial effects on risk factors and clinical variables in patients that suffered from myocardial infarction (MI) and were following a cardiac rehabilitation program. Forty male MI patients were randomly allocated into 2 groups. The supplemented group consumed 500 mL/d of a fortified dairy product containing eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, oleic acid, folic acid, and vitamins A, B-6, D, and E. The control group consumed 500 mL/d of semi-skimmed milk with added vitamins A and D. The patients received supervised exercise training, lifestyle and dietary recommendations, and they were instructed to consume the products in addition to their regular diet. Blood extractions and clinical examinations were performed after 0, 3, 6, 9, and 12 mo. Plasma concentrations of eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, oleic acid, folic acid, vitamin B-6, and vitamin E increased after supplementation ($P < 0.05$). Plasma total and LDL-cholesterol, apolipoprotein B, and high-sensitivity C-reactive protein concentrations decreased in the supplemented group ($P < 0.05$), and plasma total homocysteine decreased in both groups. There were no changes in heart rate, blood pressure, or cardiac electrocardiographic parameters in either group. Therapeutic lifestyle changes, effected through a CR program comprising regular exercise and the intake of a combination of dietary nutrients, reduced a variety of risk factors in MI patients, which supports the rationale for nutritional programs in the secondary prevention of coronary heart disease. J. Nutr. 137: 384–390, 2007.

OPG



*** $p < 0,001$ vs T0

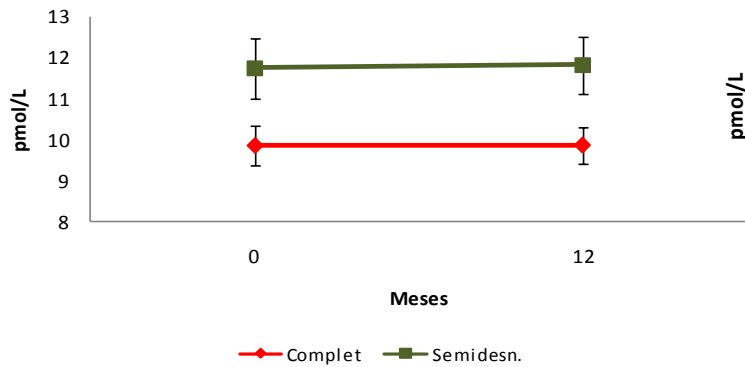
RANKL



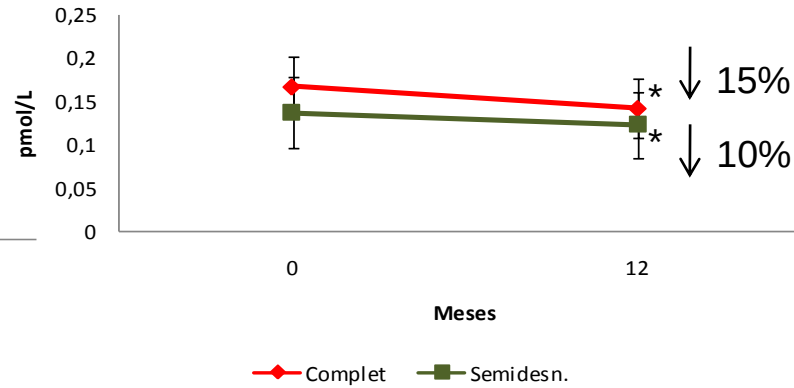
* $p < 0,05$ vs T0

Voluntarios sanos jóvenes

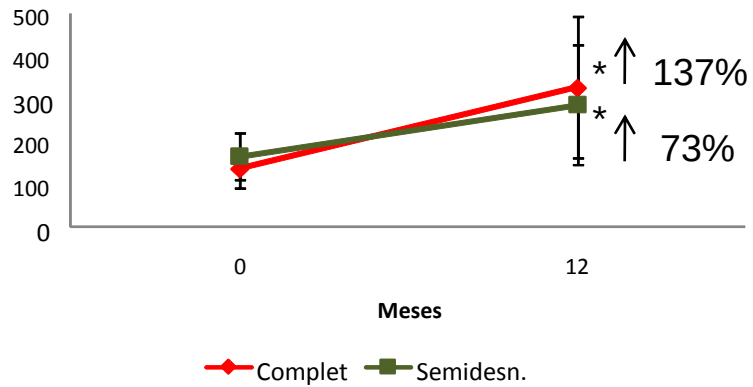
Osteoprotegerina



RANKL



OPG / RANKL



Voluntarias perimenopáusicas

*p > 0.05, ** p > 0.01, *** p > 0.001 vs T0



Denosumab for Prevention of Fractures in Postmenopausal Women with Osteoporosis

Steven R. Cummings, M.D., Javier San Martin, M.D., Michael R. McClung, M.D., Ethel S. Siris, M.D., Richard Eastell, M.D., Ian R. Reid, M.D., Pierre Delmas, M.D., Ph.D., Holly B. Zoog, Ph.D., Matt Austin, M.S., Andrea Wang, M.A., Stepan Kutilek, M.D., Silvano Adami, M.D., Ph.D., Jose Zanchetta, M.D., Cesar Libanati, M.D., Suresh Siddhanti, Ph.D., Claus Christiansen, M.D., for the FREEDOM Trial

ABSTRACT

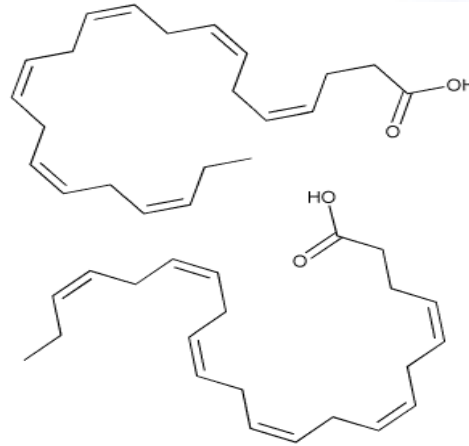
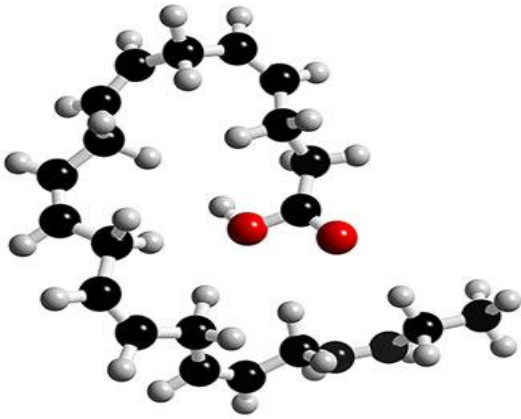
Background Denosumab is a **fully human monoclonal antibody to the receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) that blocks its binding to RANK, inhibiting the development and activity of osteoclasts, decreasing bone resorption, and increasing bone density.** Given its unique actions, denosumab may be useful in the treatment of osteoporosis.

Methods We enrolled 7868 women between the ages of 60 and 90 years who had a bone mineral density T score of less than -2.5 but not less than -4.0 at the lumbar spine or total hip. Subjects were randomly assigned to receive either 60 mg of denosumab or placebo subcutaneously every 6 months for 36 months. The primary end point was new vertebral fracture. Secondary end points included nonvertebral and hip fractures.

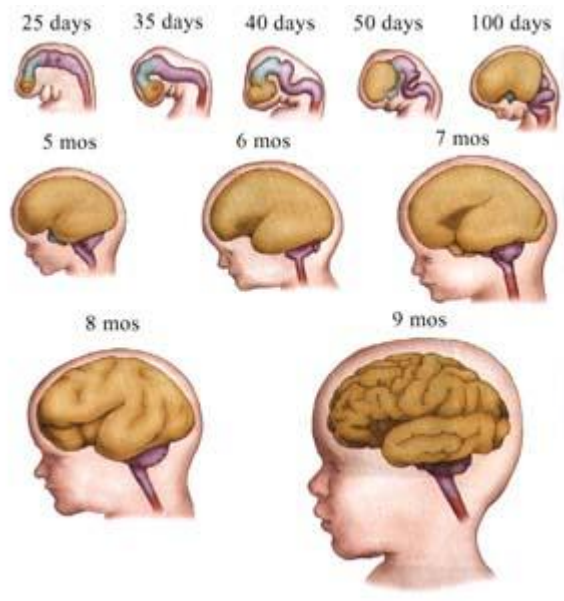
Results As compared with placebo, denosumab reduced the risk of new radiographic vertebral fracture, with a cumulative incidence of 2.3% in the denosumab group, versus 7.2% in the placebo group (risk ratio, 0.32; 95% confidence interval [CI], 0.26 to 0.41; $P < 0.001$) — a relative decrease of 68%. Denosumab reduced the risk of hip fracture, with a cumulative incidence of 0.7% in the denosumab group, versus 1.2% in the placebo group (hazard ratio, 0.60; 95% CI, 0.37 to 0.97; $P = 0.04$) — a relative decrease of 40%. Denosumab also reduced the risk of nonvertebral fracture, with a cumulative incidence of 6.5% in the denosumab group, versus 8.0% in the placebo group (hazard ratio, 0.80; 95% CI, 0.67 to 0.95; $P = 0.01$) — a relative decrease of 20%. There was no increase in the risk of cancer, infection, cardiovascular disease, delayed fracture healing, or hypocalcemia, and there were no cases of osteonecrosis of the jaw and no adverse reactions to the injection of denosumab.

Conclusions Denosumab given subcutaneously twice yearly for 36 months was **associated with a reduction in the risk of vertebral, nonvertebral, and hip fractures in women with osteoporosis.** (ClinicalTrials.gov number, NCT00089791 [ClinicalTrials.gov].) *N Engl J Med.* 2009 Aug 20;361(8):756-65.





DocosaHexaenoic Acid 22:6 ω 3



Niños sanos (8 a 12 años)

	<u>Leche entera</u>		<u>Leche enriquecida</u>	
	<u>0 meses</u>	<u>5 meses</u>	<u>0 meses</u>	<u>5 meses</u>
Dígitos	7.92 0.33	8.78 0.37	8.58 0.43	10.02 0.42 ⁺
Letras y Números-Aritmética	7.88 0.51	7.57 0.41	8.29 0.44	8.53 0.48
Memoria de Trabajo	86.90 228	88.45 2.05	89.81 2.38	94.37 2.34
Claves	8.44 0.36	9.73 0.48	9.37 0.42	9.87 0.48
Búsqueda de símbolos-animales	9.30 0.34	9.73 0.37	9.69 0.44	9.92 0.45
Velocidad de procesamiento	95.28 1.70	99.83 1.96	98.69 2.05	100.52 2.23
Velocidad lectora	224.15 17.24	197.11 14.62	243.80 16.38	197.12 12.07 ⁺
Comprensión lectora	7.60 0.55	9.06 0.40 ⁺	7.82 0.60	9.31 0.39 ⁺
Conducta Padres	15.31 0.89	15.58 1.11	13.73 0.82	13.47 0.83
Conducta Profesores	14.71 1.92	16.57 1.44	15.13 1.21	14.86 1.63

n = 102

Media error estándar.

+ Diferencias significativas entre el punto 0 y a los 5 meses para cada tipo de leche (p<0,05)

RESEARCH ARTICLE

Improved Working Memory but No Effect on Striatal Vesicular Monoamine Transporter Type 2 after Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation

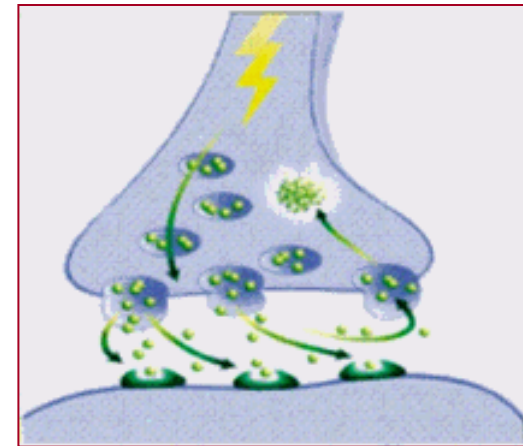
Rajesh Narendran^{1,2*}, William G. Frankle^{1,2}, Neale S. Mason¹,

Matthew F. Muldoon³, Bitu Moghaddam⁴

¹ Department of Radiology, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania, United States of America, ² Department of Psychiatry, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania, United States of America, ³ Department of Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania, United States of America, ⁴ Department of Neuroscience, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania, United States of America

Abstract

Studies in rodents indicate that diets deficient in omega-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA) lower dopamine neurotransmission as measured by striatal vesicular monoamine transporter type 2 (VMAT2) density and amphetamine-induced dopamine release. This suggests that dietary supplementation with fish oil might increase VMAT2 availability, enhance dopamine storage and release, and improve dopamine-dependent cognitive functions such as working memory. To investigate this mechanism in humans, positron emission tomography (PET) was used to measure VMAT2 availability pre- and post-supplementation of n-3 PUFA in healthy individuals. Healthy young adult subjects were scanned with PET using [¹¹C]-(+)-α-dihydrotetrabenzine (DTBZ) before and after six months of n-3 PUFA supplementation (Lovaza, 2 g/day containing docosahexaenoic acid, DHA 750 mg/d and eicosapentaenoic acid, EPA 930 mg/d). In addition, subjects underwent a working memory task (n-back) and red blood cell membrane (RBC) fatty acid composition analysis pre- and post-supplementation. RBC analysis showed a significant increase in both DHA and EPA post-supplementation. In contrast, no significant change in [¹¹C]DTBZ binding potential (BP_{ND}) in striatum and its subdivisions were observed after supplementation with n-3 PUFA. No correlation was evident between n-3 PUFA induced change in RBC DHA or EPA levels and change in [¹¹C]DTBZ BP_{ND} in striatal subdivisions. However, pre-supplementation RBC DHA levels was predictive of baseline performance (i.e., adjusted hit rate, AHR on 3-back) on the n-back task ($y = 0.19 + 0.07x$, $r^2 = 0.55$, $p = 0.009$). In addition, subjects AHR performance improved on 3-back post-supplementation (pre 0.65 ± 0.27 , post 0.80 ± 0.15 , $p = 0.04$). The correlation between n-back performance, and DHA levels are consistent with reports in which higher DHA levels is related to improved cognitive performance. However, the lack of change in [¹¹C]DBTZ BP_{ND} indicates that striatal VMAT2 regulation is not the mechanism of action by which n-3 PUFA improves cognitive performance.



post 0.80 ± 0.15 , $p = 0.04$). The correlation between n-back performance, and DHA levels are consistent with reports in which higher DHA levels is related to improved cognitive performance. However, the lack of change in [¹¹C]DBTZ BP_{ND} indicates that striatal VMAT2 regulation is not the mechanism of action by which n-3 PUFA improves cognitive performance.

Citation: Narendran R, Frankle WG, Mason NS, Muldoon MF, Moghaddam B (2012) Improved Working Memory but No Effect on Striatal Vesicular Monoamine Transporter Type 2 after Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation. PLoS ONE 7(10): e46832. doi:10.1371/journal.pone.0046832

Docosahexaenoic Acid for Reading, Cognition and Behavior in Children Aged 7–9 Years: A Randomized, Controlled Trial (The DOLAB Study)

Alexandra J. Richardson*, Jennifer R. Burton, Richard P. Sewell, Thees F. Spreckelsen, Paul Montgomery

Centre for Evidence-Based Intervention, University of Oxford, Oxford, United Kingdom

Abstract

Background: Omega-3 fatty acids are dietary essentials, and the current low intakes in most modern developed countries are believed to contribute to a wide variety of physical and mental health problems. Evidence from clinical trials indicates that dietary supplementation with long-chain omega-3 may improve child behavior and learning, although most previous trials have involved children with neurodevelopmental disorders such as attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) or developmental coordination disorder (DCD). Here we investigated whether such benefits might extend to the general child population.

Objectives: To determine the effects of dietary supplementation with the long-chain omega-3 docosahexaenoic acid (DHA) on the reading, working memory, and behavior of healthy schoolchildren.

Design: Parallel group, fixed-dose, randomized, double-blind, placebo-controlled trial (RCT).

Setting: Mainstream primary schools in Oxfordshire, UK (n=74).

Participants: Healthy children aged 7–9 years initially underperforming in reading ($\leq 33^{\text{rd}}$ centile). 1376 invited, 362 met study criteria.

Intervention: 600 mg/day DHA (from algal oil), or taste/color matched corn/soybean oil placebo.

Main Outcome Measures: Age-standardized measures of reading, working memory, and parent- and teacher-rated behavior.

Results: ITT analyses showed no effect of DHA on reading in the full sample, but significant effects in the pre-planned subgroup of 224 children whose initial reading performance was $\leq 20^{\text{th}}$ centile (the target population in our original study design). Parent-rated behavior problems (ADHD-type symptoms) were significantly reduced by active treatment, but little or no effects were seen for either teacher-rated behaviour or working memory.

Conclusions: DHA supplementation appears to offer a safe and effective way to improve reading and behavior in healthy but underperforming children from mainstream schools. Replication studies are clearly warranted, as such children are known to be at risk of low educational and occupational outcomes in later life.

Trial Registration: ClinicalTrials.gov NCT01066182 and Controlled-Trials.com ISRCTN99771026

Conclusions: DHA supplementation appears to offer a safe and effective way to improve reading and behavior in healthy but underperforming children from mainstream schools. Replication studies are clearly warranted, as such children are known to be at risk of low educational and occupational outcomes in later life.



MUCHAS GRACIAS

Come and visit our new "virtual home"
www.biosearchlife.com

Passion for INNOVATION
Passion for LIFE

Innovation | Manufacturing | Quality





Aspectos legales relativos al aceite de pescado en consumo humano



LEGISLACIÓN

REQUISITOS PARA LAS MATERIAS PRIMAS

- ✓ Reglamento 853/2004
- ✓ Modificado por el Reglamento 1020/2008
 - Anexo III, Sección VIII, Capítulo IV, parte B del Reglamento consolidado
- ✓ Reglamento 2074/2005
- ✓ Modificado por el Reglamento 1022/2008

REQUISITOS PARA LOS ACEITES (Contaminantes)

- ✓ Reglamento 1881/2006
- ✓ Modificado por el Reglamento 835/2011

REQUISITOS PARA LAS MATERIAS PRIMAS

- ✓ Proceder de establecimientos, incluidos los buques, registrados o autorizados en virtud del Reglamento 852/2004 o con arreglo al Reglamento 853/2004
- ✓ Derivar de productos de la pesca aptos para el consumo humano y que cumplen las disposiciones establecidas en el reglamento 853/2004
- ✓ Ser transportadas y almacenadas en condiciones higiénicas
- ✓ ser refrigeradas lo antes posible y permanecer a las temperaturas indicadas:

REQUISITOS PARA LAS MATERIAS PRIMAS

Próxima a la de fusión del hielo

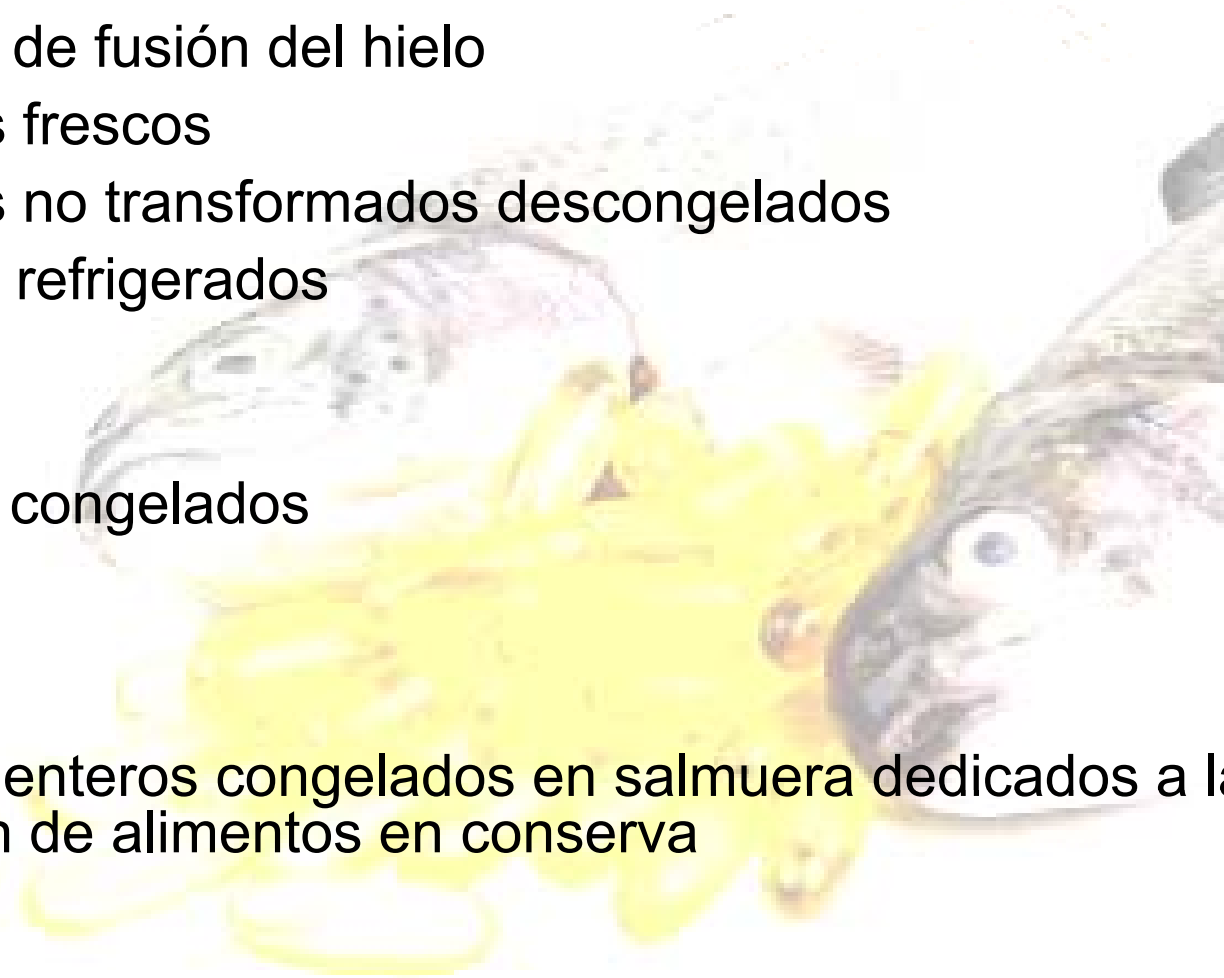
- ✓ Productos frescos
- ✓ Productos no transformados descongelados
- ✓ Cocidos y refrigerados

$\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$

- ✓ Productos congelados

$\leq -9\text{ }^{\circ}\text{C}$

- ✓ Pescados enteros congelados en salmuera dedicados a la fabricación de alimentos en conserva



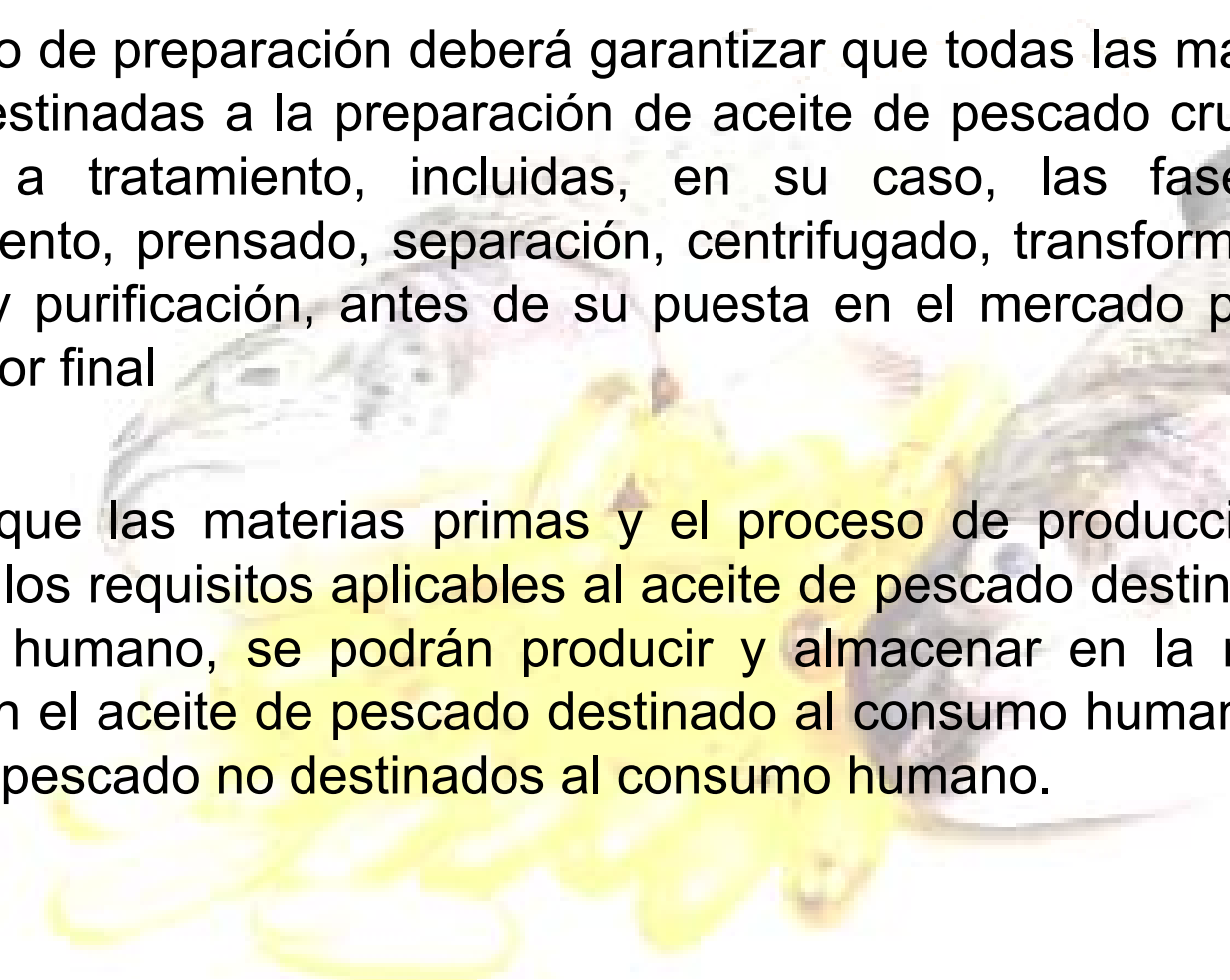
REQUISITOS PARA LAS MATERIAS PRIMAS

No hay obligación de refrigerar las materias primas si:

- ✓ Los productos enteros se van a utilizar directamente en la preparación de aceite de pescado
- ✓ Las materias primas se han transformado en las 36 horas inmediatas a su carga
- ✓ Se cumplen los criterios de frescura y el valor del nitrógeno básico volátil total (NBVT) de los productos de la pesca sin transformar no sobrepase los 60 mg de nitrógeno/100 g de producto

REQUISITOS PARA LAS MATERIAS PRIMAS

- ✓ El proceso de preparación deberá garantizar que todas las materias primas destinadas a la preparación de aceite de pescado crudo se sometan a tratamiento, incluidas, en su caso, las fases de calentamiento, prensado, separación, centrifugado, transformación, refinado y purificación, antes de su puesta en el mercado para el consumidor final
- ✓ Siempre que las materias primas y el proceso de producción se ajusten a los requisitos aplicables al aceite de pescado destinado al consumo humano, se podrán producir y almacenar en la misma instalación el aceite de pescado destinado al consumo humano y el aceite de pescado no destinados al consumo humano.



REQUISITOS PARA LOS ACEITES

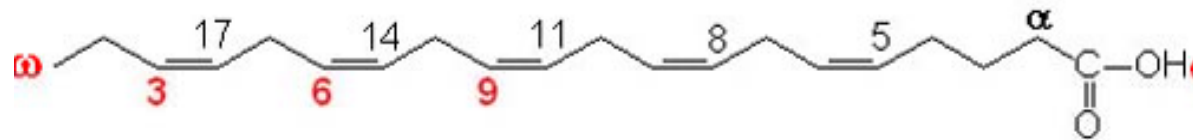
Contenidos máximos (pg/ g de grasa)		
Dioxinas y PCB's	Suma de dioxinas	Suma de dioxinas y PCBs similares a las dioxinas
Aceites marinos	2,0	10,0
Contenidos máximos (µg/kg)		
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	Benzo(a)pireno	Suma de Benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno y criseno (45)
Aceites y grasas (excluida la manteca de cacao y el aceite de coco)	2.0	10.0
Contenido máximo (ppm)		
Metales pesados	Plomo	Mercurio
Grasas y aceites	0,1	0,5 y 1,0 en la materia prima, dependiendo de la especie

PRODUCTOS NUTRACEÚTICOS

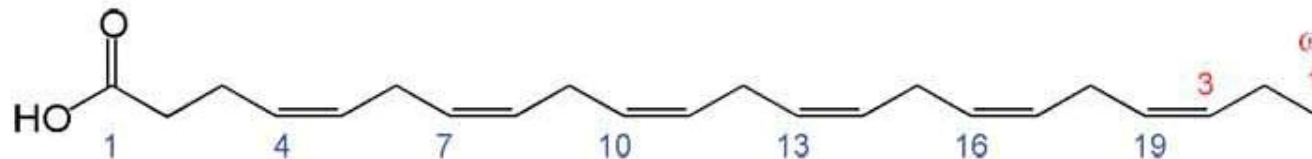
Complementos alimentarios



Ácidos grasos Omega 3



Ácido eicosapentaenoico (EPA)



Ácido docosahexaenoico (DHA)

PRODUCTOS NUTRACEÚTICOS

Complementos alimentarios

- ✓ Se trata de alimentos que complementan la dieta normal (Fuentes concentradas de nutrientes, vitaminas o minerales)
- ✓ No requieren autorización previa, sino notificación de puesta en el mercado
- ✓ El RD 1487/2009 establece normas específicas para vitaminas y minerales utilizados como ingredientes
- ✓ Para el resto de nutrientes se tendrán en cuenta los informes del Comité Científico de la nutrición humana
- ✓ El Principio de reconocimiento mutuo permite comercializar en un país de la UE complementos que contengan sustancias autorizadas en otro país miembro
- ✓ El Reglamento 1925/2006 deja abierta la posibilidad de añadir en su Anexo III una sustancia cuya adición esté sujeta a prohibición o restricciones

PRODUCTOS NUTRACEÚTICOS

Complementos alimentarios

✓ España (2012)

La AESAN propone una cantidad máxima diaria de EPA + DHA de 3 g

Se basa en la opinión científica de EFSA que afirma que dosis de hasta 5g diarios no plantean problemas de seguridad (2012)

✓ Bélgica (1992) e Italia (2012)

Autorización en complementos sin establecer una cantidad máxima diaria

✓ Dinamarca (2011)

Autorización con cantidades máximas diarias de 1.050 mg (DHA) y 1.500 mg (EPA)

Alegaciones de salud

Reglamento 1924/2006

Para poder realizarse las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables

- ✓ El efecto nutricional o fisiológico de un nutriente o sustancia debe estar científicamente probado
- ✓ Debe de estar presente en una cantidad suficiente para producir los efectos beneficiosos indicados
- ✓ La EFSA es la encargada de valorar los estudios científicos
- ✓ No es un aval de seguridad alimentaria, sino una valoración de la relación causa efecto, entre la ingesta de una determinada cantidad y el efecto que se quiere alegar

Alegaciones de salud

Reglamento 432/2012

- ✓ Primera lista de declaraciones de propiedades saludables de los alimentos

Ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados

- ✓ La sustitución de grasas saturadas por grasas insaturadas en la dieta contribuye a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo

Al menos un 45% de los ácidos grasos y aportan más del 20% del valor energético del producto

Alegaciones de salud

Ácido eicosapentaenoico (EPA) / ácido docosahexaenoico (DHA)

- ✓ Contribuyen al funcionamiento normal del corazón
- ✓ 40 mg EPA + DHA por 100 g y por 100 Kcal
- ✓ Ingesta diaria mínima de 250 mg de EPA y DHA

Ácido docosahexaenoico (DHA)

- ✓ Contribuye a mantener el funcionamiento normal del cerebro y al mantenimiento de la visión en condiciones normales
- ✓ 40 mg DHA por 100 g y por 100 Kcal
- ✓ Ingesta diaria de 250 mg de DHA

Estándares de calidad

- CRN Council for Responsible Nutrition
- WHO World Health Organization Standards
- EPS European Pharmacopeia Standard
- GOED Global Organization for EPA and DHA omega-3s
- NMS Norwegian Medicinal Standards
- IFOS International Fish Oil Standards

Estándares de calidad

- ✓ IFOS: es el líder internacional que se ocupa de determinar y certificar la calidad de los productos de Omega 3, teniendo en cuenta los estándares internacionales para pureza, concentración y oxidación establecidos por la OMS y el Consejo de Nutrición Responsable
- ✓ Tiene una página web para que la industria de los suplementos de aceite de pescado pueda publicar los resultados
- ✓ La calificación más completa es la de cinco estrellas, que implica aceites de pescado ultra refinados y concentrados. A un aceite de pescado se le da una calificación de “5 Estrellas” si satisface los criterios en 5 áreas específicas

Estándares de calidad

- ✓ Estrella 1: Cumple todos los estándares de la OMS y del CRN
- ✓ Estrella 2: Demuestra una concentración mínima del 60% de EPA y DHA
- ✓ Estrella 3: Oxidación con un nivel menor del 75% de los estándares del CRN
- ✓ Estrella 4: Niveles de PCB de menos del 50% del estándar del CRN
- ✓ Estrella 5: Niveles de Dioxina y Furanos de menos del 50% del estándar de la OMS

Estándares de calidad

Parámetro	IFOS 5 estrellas	CRN	GOED	EPS
Peróxidos (meq/kg)	3.75	5	5 / 2	10
Anisidina (meq/kg)	15	20	20	30
Oxidación total (meq/kg)	20	26	26	50
Acidez (mg KOH/kg)	2,25	3 ,0	3,0	3 ,0
Cadmio (ppm)	0,1	0,1	0,1	0,1
Plomo (ppm)	0,1	0,1	0,1	0,1
Mercurio (ppm)	0,1	0,1	0,1	0,1
Arsénico (ppm)	0,1	0,1	0,1	0,1
Dioxinas y furanos (ppt)	1	2	2	2
PCBs (ppb)	45	90	90	NA

Rancidez

- ✓ No se ha comprobado la relación entre el grado de frescura de las materias primas y el grado de oxidación lipídica.
- ✓ Los valores del índice de peróxidos o anisidina no están relacionados cuantitativamente con la concentración de compuestos volátiles de oxidación específicos.
- ✓ No hay estudios de los efectos de los compuestos de oxidación sobre la salud
- ✓ Los niveles recomendados para el índice de peróxidos son suficientes para que el aceite pueda presentar mal olor
 - Para el empleo en alimentos se recomiendan valores inferiores a 0,5 meq/kg

Muchas gracias por su atención

Diego Méndez Paz

División de Medio Ambiente y Valorización de Productos del Mar

dmendez@anfaco.es

