



**MUÑOZ ABOGADOS**  
**IURIS MARK**

55

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
Rad: 08-059/92- -00002-0000  
Pec: 2008-11-15 16:03:41 Usp. 2008 NUEVAS CREACIONES  
IND 11 PATENTEITO  
EVR: 219 FASENALJUNALI  
Act 444 RESPUESTAQUEL Folio: 49

Bogotá D.C.

**SEÑORA**  
**ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL**  
**JEFE DE LA DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES**  
**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**  
**CIUDAD.**

**EXPEDIENTE : 06-59792**  
**PATENTE : RECUPERACIÓN DE FITONUTRIENTES DESDE**  
**ACEITES**  
**ACTUACIÓN : CONTESTACIÓN A REQUERIMIENTO**  
**OFICIO : 10454**

Respetada Señora,

**DIEGO MUÑOZ MARROQUÍN**, identificado con cédula de ciudadanía 7.888.292 de Nelva (Huila), abogado en ejercicio, con tarjeta profesional 134.000 del C. S. de la J., obrando en calidad de Apoderado **CAROTECH INC**, estando dentro del término legal me permito dar respuesta al requerimiento formulado mediante oficio No. 10454 de Septiembre 15 de 2006, en los siguientes términos:

- 1- La Traducción de los anexos del Reporte de Examen Preliminar Internacional. (copia autentica)
- 2- Copia Auténtica del Documento en el que consta la cesión del derecho de Patente del inventor **HO, DAVID SUE SAN**, al solicitante **CAROTECH INC**. Documento que cuenta con el sello del Notario Público de Malaysia reconocido y con el sello del Consulado de Colombia en Kuala Lumpur.
- 3- Poder debidamente otorgado por **HO, DAVID SUE SAN**, representante de **CAROTECH INC**, a favor de **WENDY DIAZ Y ASSOCIATES P.A.**, quien otorga poder a **DIEGO MUÑOZ MARROQUIN** para actuar en Colombia con el lleno de los requisitos legales para su validez.

Calle 84 No. 3-41  
Pbx.: (57-1) 248 1211 Fax.: (57-1) 481 8304  
e-mail: info@iurismark.com  
www.iurismark.com  
Bogotá D.C., Colombia

**COLOMBIA - VENEZUELA**



**MUÑOZ ABOGADOS**  
**IURIS MARK**

- 4- Certificado expedido por el Consejero encargado de Funciones Consulares de la Embajada de Colombia en Kuala Lumpur, que acredita la existencia y la representación legal de la empresa solicitante por tratarse de una persona jurídica.

Conforme a lo anteriormente expuesto, doy por contestado el requerimiento efectuado por ese Despacho, por lo cual ruego seguir adelante con el trámite de solicitud, ordenando su publicación en la Gaceta de la propiedad industrial.

Atentamente,

**DIEGO MUÑOZ MARROQUÍN**  
**C. C. 7.688.292 de Nelva Hulla**  
**T. P. 134.000 del C. S. de la J.**

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

PCT

INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD  
(Capítulo II del Tratado de Cooperación en materia de Patentes)

(Artículo 36 y Regla 70 del PCT)

|                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                              |                                                          |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Referencia del expediente del solicitante o del mandatario<br>PT/Logfisher/05/kl                                                                                                                                                            | PARA CONTINUAR<br>LA TRAMITACIÓN<br>Véase formulario PCT/IPEA/416            |                                                          |
| Solicitud internacional N°<br>PCT/SG2003/000240                                                                                                                                                                                             | Fecha de presentación internacional<br>(día/mes/año)<br>8 de Octubre de 2003 | Fecha de prioridad (día/mes/año)<br>24 de Agosto de 2003 |
| Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o a la vez clasificación nacional y CIP<br>A01G 23/00 (2006.01) B66C 23/18 (2006.01) E02F 3/38 (2006.01)<br>B60P 3/41 (2006.01) B66C 23/72 (2006.01) B65G 67/12 (2006.01) B66D 1/60 (2006.01) |                                                                              |                                                          |
| Solicitante<br>LOGFISHER TECHNOLOGY PTE LTD et al                                                                                                                                                                                           |                                                                              |                                                          |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. El presente informe preliminar internacional sobre patentabilidad, se establece por esta Administración encargada del examen preliminar internacional según el Artículo 35 y se transmite al solicitante conforme al Artículo 36.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 2. Este INFORME comprende <u>3</u> hojas, incluida la presente primera hoja.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 3. Este informe también contiene ANEXOS, que comprenden:<br>a. <input type="checkbox"/> (remitido al solicitante y a la Oficina Internacional) un total de <u>7</u> hojas descritas a continuación:<br><input type="checkbox"/> hojas de la descripción, las reivindicaciones y/o los dibujos que han sido modificados y que sirven de base al presente informe, y/o de hojas que contienen rectificaciones autorizadas por esta Administración (véase la Regla 70.16 y la Instrucción Administrativa 607 del PCT).<br><input type="checkbox"/> hojas que reemplazan a otras hojas anteriores, pero que esta Administración considera que contienen modificaciones que se extienden más allá de la divulgación de la invención tal como fue originalmente presentada, según se indica en el punto 4 del Recuadro I y en el Recuadro Suplementario.<br>b. <input type="checkbox"/> (remitido únicamente a la Oficina Internacional) un total de (indicar tipo y número de soporte(s) electrónico(s)) _____, que contiene una lista de secuencias y/o tabla(s) relativa(s), solo en formato electrónico, como se indica en el Recuadro Suplementario relativo a listas de secuencias (ver Instrucción Administrativa 802). |
| 4. El presente informe contiene indicaciones relativas a los puntos siguientes:<br><input checked="" type="checkbox"/> Recuadro I Base de este informe<br><input type="checkbox"/> Recuadro II Prioridad<br><input type="checkbox"/> Recuadro III No formulación de opinión sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial<br><input type="checkbox"/> Recuadro IV Falta de unidad de invención<br><input type="checkbox"/> Recuadro V Declaración motivada según el Artículo 35.2) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración<br><input type="checkbox"/> Recuadro VI Ciertos documentos citados<br><input type="checkbox"/> Recuadro VII Defectos en la solicitud internacional<br><input type="checkbox"/> Recuadro VIII Observaciones relativas a la solicitud internacional                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

|                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Fecha de presentación de la solicitud de examen preliminar internacional<br>24 de Marzo de 2005.                                                                                                                                         | Fecha de finalización del presente informe<br>Enero 11 de 2006.    |
| Nombre y dirección postal de la Administración encargada del examen preliminar internacional<br>OFICINA PATENTES AUSTRALIANA, APTO. POSTAL 200,<br>ACTA WODEN 2606, AUSTRALIA, E-mail: pcipaustalia.gov.aus<br>N° de fax: (02) 6285 3929 | Funcionario autorizado<br>A. SEN<br>N° de teléfono: (02) 6283 2158 |

Formulario PCT/IPEA/409 (primera hoja) (Abril 2005)

**INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE  
PATENTABILIDAD**

Solicitud internacional N°

PCT/SG2003/000240

**Recuadro I Base de este informe**

1. Por lo que respecta al idioma, este informe se ha establecido sobre la base:

- ☐ de la solicitud internacional en el idioma en el cual se depositó  
de una traducción del idioma original al siguiente idioma \_\_\_\_\_, que es el de una traducción  
proporcionada a los fines de:
- ☐ búsqueda internacional (según Reglas 12.3.a) y 23.1.b))  
☐ publicación de la solicitud internacional (según Regla 12.4.a))  
☐ examen preliminar internacional (según Reglas 55.2 y/o 55.3.a))

2. Por lo que respecta a los elementos de la solicitud internacional, esta opinión se ha establecido sobre la base de (las  
hojas de reemplazo que hayan sido enviadas a la Oficina Receptora en respuesta a un requerimiento según el  
Artículo 14 se las denomina en este informe como "inicialmente presentadas" y no se anexan al informe):

☐ la solicitud internacional tal y como fue inicialmente presentada/enviada

☒ la descripción:  
páginas \_\_\_\_\_ tal como se presentaron/enviaron inicialmente  
páginas \* \_\_\_\_\_ recibidas por esta Administración en fecha \_\_\_\_\_  
páginas \* 1 - 6 \_\_\_\_\_ recibidas por esta Administración en fecha 3/01/2006 \_\_\_\_\_

☒ las reivindicaciones:  
páginas \_\_\_\_\_ tal como se presentaron/enviaron inicialmente  
páginas \* \_\_\_\_\_ modificadas (acompañadas de una declaración) según el Artículo 19  
páginas \* \_\_\_\_\_ recibidas por esta Administración en fecha \_\_\_\_\_  
páginas \* 7 \_\_\_\_\_ recibidas por esta Administración en fecha 3/01/2006 \_\_\_\_\_

☒ los dibujos:  
páginas 1/5 - 5/5 \_\_\_\_\_ tal como se presentaron/enviaron inicialmente  
páginas \* \_\_\_\_\_ recibidas por esta Administración en fecha \_\_\_\_\_  
páginas \* \_\_\_\_\_ recibidas por esta Administración en fecha \_\_\_\_\_

☐ una lista de secuencias y/o tabla(s) relativa(s) - ver Recuadro Suplementario relativo a listas de secuencias

3. ☐ Las modificaciones han ocasionado la anulación de:

- ☐ la descripción, hojas \_\_\_\_\_  
☐ las reivindicaciones, Nos. \_\_\_\_\_  
☐ los dibujos, hojas/fig. \_\_\_\_\_  
☐ la lista de secuencias (precisar): \_\_\_\_\_  
☐ tabla(s) relativa(s) a la lista de secuencias (precisar): \_\_\_\_\_

4. ☐ Por lo que respecta a cualquier secuencia nucleotídica / o de amino ácidos  
anexadas a este informe y listadas abajo, ya que se ha considerado que iban más allá de la divulgación de la  
invención tal como fue presentada, como se indica en el Recuadro Suplementario (Regla 70.2.c)).

- ☐ la descripción, hojas \_\_\_\_\_  
☐ las reivindicaciones, Nos. \_\_\_\_\_  
☐ los dibujos, hojas/fig. \_\_\_\_\_  
☐ la lista de secuencias (precisar): \_\_\_\_\_  
☐ tabla(s) relativa(s) a la lista de secuencias (precisar): \_\_\_\_\_

\* Si se utiliza el punto 4, algunas o todas estas páginas pueden llevar el sello de "sustituida"

INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE  
PATENTABILIDAD

Solicitud internacional N°  
PCT/SG2003/000240

Recuadro V. Declaración motivada según el Artículo 35.2) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

1. Declaración

|                       |                  |       |    |
|-----------------------|------------------|-------|----|
| Novedad               | Reivindicaciones | 1 - 7 | SI |
|                       | Reivindicaciones |       | NO |
| Actividad inventiva   | Reivindicaciones | 1 - 7 | SI |
|                       | Reivindicaciones |       | NO |
| Aplicación industrial | Reivindicaciones | 1 - 7 | SI |
|                       | Reivindicaciones |       | NO |

2. Citas y explicaciones (Regla 70.7)

## RECUPERACIÓN DE FITONUTRIENTES DE LOS ACEITES

### Campo Técnico del Invento

Este invento está relacionado con la recuperación de fitonutrientes de los aceites y más particularmente con un proceso integrado para la extracción y purificación de  
 5      tocotrienoles o tocoferoles, carotenoides y esteroides de los aceites vegetales y otros aceites comestibles.

### Antecedentes del Invento

La vitamina E es una de las vitaminas más populares y más usadas en los Estados  
 10      Unidos. El término vitamina E es ahora considerado como el nombre genérico que describe tanto a los tocoferoles como a los tocotrienoles. Estructuralmente, los tocoferoles y los tocotrienoles comparten ciertos parecidos. Sin embargo, los tocoferoles y los tocotrienoles se distinguen por sus cadenas laterales. Mientras el tocoferol tiene una cola saturada, el tocotrienol tiene una cadena lateral isoprenoide  
 15      insaturada. Los tocoferoles y los tocotrienoles se separan además en compuestos individuales asignados por los prefijos de letras griegas – alpha, beta, gama y delta ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ). Los tocoferoles y los tocotrienoles se encuentran en la dieta regular en cereales como el trigo, la cebada y el centeno. Son también encontrados en un alto nivel en aceites vegetales como cártamo, soya, maní, semilla de algodón, linaza, girasol, colza, palma y otras fuentes vegetales. El aceite de palma crudo y el aceite  
 20      de cáscara de arroz contienen grandes concentraciones tanto de tocotrienoles como de tocoferoles.

Los efectos hipocolesterolémicos de los tocotrienoles son conocidos y se ha  
 25      demostrado que reducen el nivel de colesterol lipoproteico de baja densidad en la sangre y el total del suero de colesterol, mientras que incrementan la proporción del colesterol lipoproteico de alta densidad a la fracción lipoproteica de baja densidad (Qureshi *et al.*, *American Journal of Clinical Nutrition*, 1991 : 53 : 1042S – 1046S; Bierenbaum ML, *et al.*, *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 1997; 6(1) : 72 – 75). Es sabido que los Tocotrienoles son de gran beneficio si se quiere mantener un sistema cardiovascular sano.

Los Carotenoides son pigmentos solubles en el aceite de colores que van del amarillo al rojo anaranjado y se encuentran en muchas plantas y animales. Generalmente hay dos clases de carotenoides, carotenos y xantofilas. Los carotenos son carotenoides de hidrocarbano mientras que las xantofilas son carotenoides oxigenados. Los carotenoides son un grupo de compuestos altamente no saturados y son fácilmente descompuestos por el calor, la luz y el oxígeno. Los carotenos más conocidos son alfa, beta y gama carotenos y el licopeno. Los beta-carotenos y los alfa-carotenos son los precursores de la vitamina A y han demostrado ser capaces de inhibir el crecimiento de tumores (Giovannucci E, *et al.*, *Am . J. Clin. Nutr.*, Vol. 7294; 990-997, 2000; Murakoshi, M, *et al. Cancer Research*, 52;: 6583-6587, 1992.). Los Carotenoides están presentes en la mayoría de las frutas, vegetales y en numerosos aceites vegetales. De los aceites vegetales ampliamente consumidos, el aceite de palma contiene la más alta concentración conocida de carotenoides naturalmente derivados.

Fitoesteroles (incluyendo esteroides y estanoles de plantas) son componentes naturales de los aceites vegetales comestibles, tales como el aceite de palma, el aceite de soya, el aceite de semilla de girasol, al ser estos constituyentes naturales de la dieta humana. Estos compuestos de las plantas similares a los lípidos están presentes en bajo nivel en los granos, frutas y vegetales. Hay aproximadamente 250 esteroides y compuestos relacionados diferentes en materiales de plantas y marinos con los más comunes beta-sitosterol, estigmasterol, y campesterol.

Un amplio grupo de las investigaciones que se remontan hasta los años 1950 han documentado la habilidad de los fitoesteroides de bloquear la absorción de colesterol y de reducir los niveles de colesterol en la sangre. Debido a que las moléculas del colesterol y las del fitoesterol son similares, el cuerpo humano no los diferencia. Los fitoesteroides compiten con el colesterol por ser absorbidos en el intestino delgado. Sin embargo, los fitoesteroides mismos no son absorbidos por el cuerpo humano.

Históricamente, la extracción y purificación de los tocotrienoles/tocoferoles (de aquí en adelante llamados tocoles), carotenoides y esteroides han sido incompletas,

de bajo rendimiento (no viables económicamente) y han conllevado una alta inversión de capital. Por ejemplo, los carotenoides se han extraído del aceite crudo de palma pero los tocoles y los esteroides se pierden durante el proceso de extracción. Igualmente, los carotenoides se pierden durante la extracción de tocoles o esteroides de los aceites. Los procesos conocidos usados son extracción con  
5 solventes, fraccionamiento con solventes, tratamiento de resina por intercambio de iones y método de cromatografía. La mayoría de estos métodos comerciales de producción no son exitosos o comercialmente atractivos con baja producción y degradación sustancial de los compuestos con alteración de la proporción natural de los varios isómeros de los tocotrienoles y los carotenoides después de la separación y la purificación. Adicionalmente, el método cromatográfico emplea el uso de  
10 solventes orgánicos, los cuales se sabe que son cancerígenos.

Este invento provee un método novedoso y eficiente para la extracción y la purificación de tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides de los aceites, que es simple, con buena relación costo-beneficio, con alta producción al tiempo que retiene la composición natural y la proporción de los tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides naturales encontrados en los aceites esenciales. Los tocoles  
15 y carotenoides concentrados son producidos sin el uso de solventes orgánicos dañinos como el hexano, heptano, etc.

**Resumen del Invento**

Así las cosas, el objeto de este invento es proveer un proceso integrado para la extracción y purificación de tocoles, carotenoides y esteroides presentes en los  
20 aceites vegetales.

Este y otros objetivos del presente invento se logra a través de un proceso para extraer y purificar tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides y producir ésteres ácidos grasos de los aceites, comprendiendo los siguientes pasos:

- a. Transesterificación de aceite con contenido de tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides, esteroides, ácidos grasos, mono-, di- y triglicéridos, por un periodo  
25 de tiempo a una temperatura específica en presencia de alcohol monohídrico y base o ácido para formar una capa rica en ésteres y una capa rica en glicéridos;

- b. Separando la capa rica en ésteres de la capa rica en glicéridos obtenidas en (a) por asentamiento gravitacional, decantación o separación por fuerzas centrífugas;
- 5 c. Lavando y secando la capa rica en ésteres obtenida en (b) bajo condiciones suficientes para remover todas las impurezas y bases o ácidos sin destruir los tocotrienoles/tocoferoles y carotenoides en la capa rica en ésteres;
- 25 d. Destilación molecular por medio del método de regresión lineal múltiple Stepwise o cualquier otra destilación de la capa rica en ésteres seca resultante obtenida (c) para producir una mezcla concentrada de tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides a una temperatura y presión específicas;
- 30 e. Posterior transesterificación de la mezcla obtenida en (d) que contiene tocotrienoles/tocoferoles, carotenos, esteroides, ácidos grasos, mono-, di- y triglicéridos concentrados, por un periodo de tiempo a una temperatura específica en presencia de un alcohol monohídrico, con base o ácido para convertir glicéridos en el aceite y así formar una capa super rica en ésteres y una capa rica en glicerina; y
- f. Repitiendo las reacciones de transesterificación y destilaciones moleculares Stepwise anteriores para lograr la concentración deseada de tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides.
- 5

#### **Etapa Uno : Primera Transesterificación**

- La Etapa Uno involucra la transesterificación del aceite con un alcohol de bajo alquilo en presencia de una base bajo condiciones suficientes para convertir los glicéridos del aceite en ésteres de alquilo de ácidos grasos y en glicerina y así
- 10 formar una capa rica en ésteres y una capa rica en glicerina.

La capa rica en glicerina es entonces separada de la capa rica en ésteres a través de asentamiento gravitacional o el uso de separador o centrífuga. La capa rica en

ésteres restante se somete entonces a lavado convencional directo con agua caliente o a un proceso de lavado a contracorriente con agua caliente y un subsiguiente secado de la capa rica en ésteres anteriormente lavada, a través de un proceso de secado por aspiración previo a la destilación molecular. Al final de la destilación molecular de múltiples etapas, hay dos tipos de productos – ésteres de alquilo de ácidos grasos (FAAE por sus siglas en inglés) y una mezcla concentrada de carotenoides, tocoles y esteroides (Concentrado-1). Este Concentrado-1 se somete entonces a un posterior proceso (por ejemplo: Etapa-Dos: Segunda Trans - Esterificación).

El FAAE puede ser vendido como está o fraccionado adicionalmente varios cortes de ésteres de alquilo (varias combinaciones de ésteres de alquilo con cadenas largas de carbono) y vendido como un producto oleoquímico.

#### **Etapa Dos : Segunda Transesterificación**

El Concentrado-1 de la Etapa Uno – Primera Reacción de Esterificación es posteriormente sometido a una adicional reacción de transesterificación que involucra un alcohol de bajo alquilo en presencia de una base bajo condiciones suficientes para convertir la mayor parte de los glicéridos restantes en el Concentrado-1 en ésteres de alquilo de ácidos grasos y en glicerina para así formar una capa super rica en ésteres y una capa rica en glicerina. La mezcla resultante puede ser o i) lavada con agua caliente para sacar las impurezas tales como la glicerina y seguido por un lavado directo con agua caliente o por un proceso de lavado a contracorriente con agua caliente.

La capa super rica en ésteres restante se somete entonces a un lavado convencional con agua caliente o a un proceso de lavado a contracorriente con agua caliente y un subsiguiente secado de la capa super rica en ésteres lavada, a través de un proceso de secado al vacío previo a la destilación molecular.

Al final de la destilación molecular de múltiples etapas, hay dos tipos de productos – ésteres de alquilo de ácidos grasos destilados (FAAE) y una mezcla concentrada

15 de carotenoides, tocoles y esteroides (Concentrado-2). Este Concentrado-2 es entonces sujeto a una posterior destilación molecular de múltiples etapas para separar el concentrado de carotenoides de la mezcla de tocol/esterol.

El concentrado de carotenoides obtenido del Concentrado-2 es sometido a un lavado alcohólico al ponerlo en contacto con un alcohol de bajo alquilo o con una  
20 combinación de alcoholes de bajo alquilo bajo condiciones suficientes para remover cualquier impureza en el concentrado de carotenoides. El alcohol de bajo alquilo es decantado a través de un proceso de asentamiento o fuerzas centrífugas. Este proceso de lavado alcohólico puede ser repetido varias veces para lograr la concentración deseada de carotenoides. Después del lavado alcohólico, cualquier  
25 metanol o combinación de alcoholes de bajo alquilo se evapora a través de evaporación al vacío o destilación con evaporador de película limpia o destilación simple.

Por otro lado, la mezcla de tocol/esterol obtenida del Concentrado-2 es adicionalmente sometida a cristalización en presencia de un alcohol de bajo alquilo o combinación de alcoholes de bajo alquilo a baja temperatura. La reducción de la  
30 temperatura durante el proceso de cristalización puede ser llevada a cabo por medio de la utilización del método Stepwise para asegurar la óptima cristalización de los esteroides y puede también ser repetida varias veces para alcanzar la concentración deseada de tocoles en el alcohol de alquilo (alcohol de alquilo rico en tocoles) y esteroides cristalizados. Revolviendo lenta y cuidadosamente durante la  
5 cristalización induce a que los esteroides se precipiten afuera.

Los esteroides cristalizados son separados del alcohol de alquilo rico en tocoles a través un filtrado a presión o por otros medios de separación sólido-líquida tales como separador / centrifugación, filtración al vacío, etc. El alcohol de alquilo en el  
10 alcohol de alquilo rico en tocoles es removido a través de evaporación por destilación o destilación con evaporador de película limpia o destilación simple. El concentrado de tocoles resultante puede también contener otros compuestos tales como escualenos, esteroides, carotenoides y CoQ10.

15 Los esteroides cristalizados y filtrados son entonces secados usando un método de secado por aire tradicional, o un método de horno o un método de secado de fluidos de cama. Los esteroides secados se ponen entonces en contacto con solventes seleccionados de un grupo constituido por, pero no limitado a, hexano, heptano, isooctano, acetona o acetato etílico. El solvente seleccionado disolverá los

20 glicéridos restantes (mono-, di- y triglicéridos) con los esteroides quedando como sólidos en el solvente. Los esteroides cristalizados son separados del solvente a través un filtrado a presión o por otros medios de separación sólido-líquida tales como separador / centrifugación, filtración al vacío, etc. El solvente en los esteroides es evaporado a través de evaporación por destilación o destilación con evaporador de película limpia o destilación simple.

25

Este invento tiene muchas ventajas. En general, provee un proceso económico y mejorado de extracción y purificación de tocoles, carotenoides y esteroides de aceites tales como el aceite crudo de palma o la oleína cruda de palma o aceite/oleína de palma roja y otros tipos de aceites. Posterior separación de componentes

30 individuales en alta concentración puede ser económicamente lograda.

#### **Descripción Detallada del Invento**

Este invento provee un proceso integrado para la extracción y purificación de tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides presentes en los aceites vegetales y comestibles que contengan tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides. Aceites adecuados para el proceso incluyen, pero no se encuentran limitados a,

5 aceite crudo de palma, oleína cruda de palma, aceite/oleína de palma roja, estearina de palma, aceite neutralizado de palma roja, oleína neutralizada de palma roja, aceite de girasol, aceite de coco, germen de trigo, aceites de zanahoria, soya, colza, oliva y derivados de dichos aceites.

#### **Etapa Uno : Primera Transesterificación**

10 La Etapa Uno involucra la transesterificación del aceite con una solución de esterificación que comprende un alcohol de bajo alquilo en presencia de una base o ácido bajo condiciones suficientes para convertir los glicéridos del aceite en ésteres de alquilo de ácidos grasos y en glicerina y de formar una capa rica en ésteres y una

15 capa rica en glicerina. Los ésteres de alquilo producidos en este proceso de transesterificación son preferiblemente los metil, etil, e isopropil o butil ésteres de los ácidos grasos. En este invento, los alcoholes de bajo alquilo son alcoholes con cadenas saturadas de carbono entre uno y cuatro carbonos. Ejemplos tales de alcoholes de bajo alquilo son, pero no están limitados a, metanol o etanol o isopropanol o butanol. En este invento, la base comprende, pero no está limitada a metóxido de sodio o hidróxido de sodio con metanol o hidróxido de potasio con metanol mientras que los ácidos catalíticos comprenden pero no están limitados a, 20 ácido hidrociorhídrico, ácido fosfórico o ácido cítrico.

25 Una solución de esterificación tal como metóxido de sodio o hidróxido de sodio con metanol o hidróxido de potasio con metanoles es el catalizador preferido para convertir los glicéridos en el aceite en ésteres de alquilo a una temperatura de 5°C a 90°C por un periodo de 0.5 a 16 horas con una agitación entre 10 – 500 rpm. La proporción de aceite/solución de esterificación está en el rango entre 0.5-10 partes de aceite a 1 parte de solución de esterificación. La proporción de base a alcohol de bajo alquilo en la solución de esterificación está en el rango entre 0.005 a 5 partes de base a 1 parte de alcohol de bajo alquilo.

5 La capa rica en glicerina se separa entonces de la capa rica en ésteres a través de asentamiento gravitacional o el uso de un separador/centrífuga. La capa rica en glicerina, con un nivel de glicerina entre 10 – 60% (también conocida como glicerina cruda) se refina entonces para obtener una glicerina de más pureza con una concentración típica de glicerina entre 80 – 99%.

10 La capa rica en ésteres que contiene tocoles, carotenoides y esteroides se someten entonces a un lavado convencional con agua o a un proceso de lavado a contracorriente con agua caliente y un subsecuente secado de la capa super rica en ésteres lavada, a través de un proceso de secado al vacío previo a la destilación molecular. En un ensayo, la capa rica en ésteres restante recibe un lavado directo a contracorriente o convencional para retirar el contenido restante de glicerina y todas las impurezas solubles en la fase acuosa. El agua caliente usada está en un rango entre 5°C a 90°C. El proceso de lavado se sigue bajo las condiciones suficientes

15 para remover todas las impurezas y base o ácidos remanentes de la capa rica en ésteres, preservando la calidad e integridad de los tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides en la misma capa rica en ésteres. En el ensayo, agua caliente en un rango de entre uno y diez volúmenes por volumen de capa rica en ésteres es usada para remover sustancialmente cualquier base o ácido que quedan en la capa rica en ésteres. Este proceso de lavado con agua caliente se repite cuantas veces sea necesario para lograr un pH de entre 6 – 8 en la capa rica en ésteres. Una capa más baja de agua que contiene base o ácido de la capa rica en ésteres se forma entonces.

25 Esta capa más baja de agua puede ser separada de la capa rica en ésteres a través de un proceso de asentamiento y decantada o a través de un separador/centrífuga. La capa rica en ésteres lavada se somete entonces a un proceso de secado para remover tanta agua/humedad como sea posible lo cual incluye un proceso de secado al vacío a temperaturas que van de los 50 – 200°C y un vacío de 5 – 100 mbar de 30 minutos a 10 horas. El contenido de humedad en la capa rica en ésteres secada está entre 0.001% a 0.20%.

5 La capa rica en ésteres secada se somete entonces a una destilación molecular de múltiples etapas. La proceso de destilación molecular de múltiples etapas involucra destilación al vacío operando a 0.00001 mbar a 1.0 mbar y a temperaturas que varían de 50°C a 300°C. Al final de la destilación molecular de múltiples etapas, hay dos tipos de productos – ésteres de alquilo de ácidos grasos destilados (FAAE) y una mezcla concentrada de carotenoides, tocoles y esteroides (Concentrado-1). La concentración de cada uno de estos componentes individuales en el Concentrado-1 son típicamente 0.1% - 10% tocoles, 0.1% - 10% carotenoides y 0.1% - 10% esteroides. Este Concentrado-1 se somete entonces a un posterior proceso de (por ejemplo: Etapa -Dos: Segunda Trans -Esterificación).

10 El FAAE puede ser vendido como está o fraccionado adicionalmente varios cortes de ésteres de alquilo (varias combinaciones de ésteres de alquilo con cadenas de largo de carbono) y vendido como un producto oleoquímico

**15 Etapa Dos : Segunda Transesterificación**

El Concentrado-1 de la Etapa Uno – Primera Reacción de Esterificación es posteriormente sometido a una adicional reacción de transesterificación que involucra un alcohol de bajo alquilo en presencia de una base bajo condiciones (solución de esterificación) suficientes para convertir la mayor parte de los glicéridos restantes en el Concentrado-1 en ésteres de alquilo de ácidos grasos y en glicerina para así formar una capa super rica en ésteres y una capa rica en glicerina. Metóxido de sodio o hidróxido de sodio con metanol o hidróxido de potasio con metanol es el catalizador preferido para convertir los glicéridos en el Concentrado-1 en ésteres de alquilo a una temperatura de 5°C a 90°C por un periodo de 0.5 a 16 horas con una agitación entre 10 – 500 rpm. La proporción de Concentrado-1/solución de esterificación está en el rango entre 0.5-10 partes de aceite a 1 parte de solución de esterificación. La proporción de base o ácido a alcohol de bajo alquilo en la solución de esterificación está en el rango entre 0.005 a 5 partes de base o ácido a 1 parte de alcohol de bajo alquilo.

La mezcla resultante puede ser o i) lavada con agua caliente para sacar las impurezas tales como la glicerina o ii) sometida a separador o centrífuga para sacar la glicerina, seguida por una lavada directa con agua caliente o un proceso de lavado de contracorriente con agua caliente de la capa rica en ésteres.

La capa rica en ésteres que contiene tocoles, carotenoides y esteroides se someten entonces a un lavado convencional con agua o a un proceso de lavado a contracorriente con agua caliente y un subsecuente secado de la capa super rica en ésteres lavada, a través de un proceso de secado al vacío previo a la destilación molecular.

En un ensayo, la capa rica en ésteres restante recibe un lavado directo a contracorriente o convencional para retirar el contenido restante de glicerina y todas las impurezas solubles en la fase acuosa. El agua caliente usada está en un rango entre 5°C a 90°C. El proceso de lavado se sigue bajo las condiciones suficientes para remover todas las impurezas y base o ácidos remanentes de la capa rica en ésteres, preservando la calidad e integridad de los tocotrienoles/tocoferoles,

carotenoides y esteroides en la misma capa rica en ésteres. En el ensayo, agua caliente en un rango de entre uno y diez volúmenes por volumen de capa rica en ésteres es usada para remover sustancialmente cualquier base o ácido que quedan en la capa rica en ésteres. Este proceso de lavado con agua caliente se repite cuantas veces sea necesario para lograr un pH de entre 6 – 8 en la capa rica en ésteres. Una capa más baja de agua que contiene base o ácido de la capa rica en ésteres se forma entonces.

Esta capa más baja de agua puede ser separada de la capa rica en ésteres a través de un proceso de asentamiento y decantada o a través de un separador/centrífuga. La capa rica en ésteres lavada se somete entonces a un proceso de secado para remover tanta agua/humedad como sea posible lo cual incluye un proceso de secado al vacío a temperaturas que van de los 50 – 200°C y un vacío de 5 – 100 mbar de 30 minutos a 10 horas. El contenido de humedad en la capa rica en ésteres secada está entre 0.001% a 0.20%.

La capa rica en ésteres secada se somete entonces a una destilación molecular de múltiples etapas. La proceso de destilación molecular de múltiples etapas involucra destilación al vacío operando a 0.00001 mbar a 1.0 mbar y a temperaturas que varían de 50°C a 300°C. Al final de la destilación molecular de múltiples etapas, hay dos tipos de productos – ésteres de alquilo de ácidos grasos destilados (FAAE) y una mezcla concentrada de carotenoides, tocoles y esteroides (Concentrado-2). La concentración de cada uno de estos componentes individuales en el Concentrado-2 son típicamente 5% - 50% tocoles, 5% - 30% carotenoides y 5% - 50% esteroides.

El Concentrado-2 se somete de nuevo a posterior destilación molecular de múltiples etapas para separar el concentrado de carotenoides de la tocol/esterol. La destilación molecular de múltiples etapas se lleva a cabo a una temperatura entre 50°C y 300°C y un vacío de 0.00001 a 1.0 mbar. La mezcla de tocol/esterol se destila hasta que el concentrado de carotenoides queda como residuo. La típica concentración total de tocos y de esteroides en la mezcla de tocol/esterol es de 5% – 30% y 5 – 50% respectivamente. La concentración total carotenoides en el residuo es entre 5% - 30%.

El concentrado de carotenoides obtenido de la destilación molecular de múltiples etapas del Concentrado -2 es posteriormente sujeto a lavado con alcohol poniéndolo en contacto con un alcohol de bajo alquilo bajo condiciones suficientes para remover las impurezas. Los alcoholes de bajo alquilo apropiados para lavado con alcohol incluyen, pero no están limitados a, metanol o etanol o propanol o butanol o isopropil alcohol o una combinación de estos alcoholes de alquilo. En un ensayo, el alcohol de bajo alquilo comprende metanol o una mezcla de uno o más tipos de alcoholes de bajo alquilo es incorporada. La proporción de alcohol de bajo alquilo para el lavado con alcohol está en el rango entre uno a 20 volúmenes por volumen de concentrado de carotenoides. En un ensayo, entre uno a cinco volúmenes de metanol por volumen de capa rica en carotenoides son incorporados. El concentrado de alcoholes de alquilo seleccionados y carotenoides es agitado por un periodo de tiempo entre media hora y treinta horas a una temperatura entre 5°C y 90°C. La capa superior de alcohol alquilo es entonces decantada. Este proceso de lavado alcohólico puede ser repetido varias veces hasta alcanzar la concentración deseada de carotenoides. Después del lavado alcohólico, cualquier remanente de metanol o combinación de alcohol de bajo alquilo es evaporada a través de evaporación al vacío o destilación con evaporador de película limpia o destilación simple. El concentrado de carotenoides resultante tiene una concentración de carotenos de entre 20 – 50%.

La mezcla de tocoles/esteroles obtenida de la destilación molecular de etapas múltiples del Concentrado-2 es adicionalmente sometida a cristalización en presencia de un alcohol de bajo alquilo o combinación de alcoholes de bajo alquilo a baja temperatura. El alcohol de bajo alquilo puede ser seleccionado de, pero no limitándose a, metanol o etanol o propanol o butanol o alcohol isopropil o combinación de esos alcoholes de alquilo. En un ensayo, el alcohol de bajo alquilo está compuesto de una mezcla de metanol en donde uno o más tipos de alcoholes de bajo alquilo son utilizados. La proporción de alcohol de bajo alquilo está en el rango de entre un volumen a veinte volúmenes por volumen de mezcla de tocoles/esteroles. En un ensayo, entre uno y cinco volúmenes de metanol por volumen de mezcla de tocoles/esteroles son usados. La mezcla de alcoholes de

12

alquilo seleccionados y de tocoles/esteroles es agitada por un periodo de tiempo y la temperatura de cristalización está entre  $-60^{\circ}\text{C}$  y  $0^{\circ}\text{C}$  por un periodo de 3 horas a 10 días.

La reducción de la temperatura durante la cristalización puede ser llevada a cabo por medio de la utilización del método Stepwise para asegurar la óptima cristalización de los esteroides y puede ser repetida varias veces para lograr la concentración deseada de tocoles en el alcohol de alquilo (alcohol de alquilo rico en tocoles) y esteroides cristalizados.

Los esteroides cristalizados se separan del alcohol de bajo alquilo rico en tocoles a través de un filtro de prensa u otros medios de separación sólido-líquida tales como separador / centrifugación, filtración al vacío, etc. El alcohol de alquilo en el alcohol de alquilo rico en tocoles es evaporado a través de evaporación al vacío o destilación con evaporador de película limpia o destilación simple. El concentrado de tocoles resultante tiene un contenido de tocotrienoles/tocoferoles de entre 20 - 90%. El concentrado de tocoles puede también contener otros compuestos tales como escualenos, esteroides, carotenoides y CoQ10 con rangos de concentración típica entre 0.5 - 20%, 0.5 - 20%, 0.05 - 10% y 0.001 - 2% respectivamente.

Los esteroides filtrados o cristalizados tienen una concentración total de esteroides de entre 10 - 60%. Entonces se seca usando un método convencional de secado por aire o un método de horno o de secado de fluidos por cama. Los esteroides secos se ponen entonces en contacto con solventes seleccionados de un grupo consistente en, pero no limitado a, hexano o heptano o isooctano o acetona o acetato etílico. El solvente elegido disolverá los glicéridos restantes (mono-, di- y triglicéridos) quedando los esteroides como sólidos en el solvente. Los esteroides cristalizados son separados a través de un filtro de prensa u otros medios de separación sólido-líquida tales como separador / centrífuga, filtración al vacío, etc. Este proceso de lavado con un solvente como el hexano puede ser efectuado repetidamente para lograr la concentración y el color deseados de fitoesterol. En un ensayo, los esteroides cristalizados son lavados con hexano y filtrados entre 5 - 30 veces y la proporción de esteroides cristalizados a hexano en este proceso de lavado varía entre 1:1 y 10:1.

Los esteroides filtrados resultantes tendrán una concentración entre 30 - 90% de esteroides totales.

Una vez se logre la concentración deseada, el esteroide filtrado es disuelto en solventes seleccionados de un grupo consistente de, pero no limitado a, hexano o heptano o isooctano o acetona o hexano de acetato etílico. La proporción de esteroides filtrados a solvente está entre 1 : 1 y 10 : 1. La mezcla es entonces ligeramente calentada a temperaturas entre 10 – 80°C para disolver los esteroides en el solvente usado. Una vez disuelta, la mezcla se enfría a temperaturas entre -30°C y 10°C en un proceso llamado cristalización. El tiempo de cristalización está entre 12 - 72 horas. Al final del proceso de cristalización, los esteroides cristalizados son filtrados con un filtro de prensa u otro método de separación sólido-líquida. El esteroide resultante es secado con una máquina de secado en spray u otros métodos de secado hasta obtener un polvo blanco con un contenido de fitoesteroide 70 – 99%. En el ensayo, los 200kg de esteroides filtrados con una concentración de 40% son disueltos en 1400 L de hexano y calentados a 50°C. Esta mezcla es entonces enfriada a -20°C por 36 horas. Al final del proceso de cristalización, los esteroides cristalizados son filtrados de nuevo usando un filtro de prensa. El esteroide resultante es secado con spray hasta obtener un polvo blanco con un contenido de fitoesteroide de 90%.

El concentrado final de tocoles con una concentración de tocotrienoles/tocoferoles entre 20 – 90% tiene un bajo nivel de carotenoides (0.001% - 2%). Para aplicación tópica, especialmente cremas tópicas, los carotenoides son un componente no deseable puesto que da un color amarillo a la crema tópica. Estos carotenoides en el concentrado de tocoles pueden ser removidos a través de unos simples procesos de decolorización y/o deodorización. El concentrado de tocoles se pone en contacto con un solvente seleccionado de un grupo consistente en, pero no limitado a, hexano o heptano o isooctano o acetona o acetato etílico o una mezcla de estos solventes. La mezcla es entonces sujeta a tratamiento con un absorbente como, pero no limitado a, tierra de blanqueo o carbón activado, en una proporción de una a diez partes de absorbente por mezcla de concentrado de tocoles por un periodo de tiempo a una temperatura específica. En un ensayo, el tratamiento dura de 1 a 24

horas a una temperatura de 10°C a 90°C. La mezcla es agitada de 10 rpm a 1000 rpm. Al completar dicho tratamiento, el filtrado decolorizado es separado del absorbente, tierra de blanqueo o carbón activado con una simple filtración usando un filtro de prensa o filtración al vacío, centrifugación o simple asentamiento y decantación. El filtrado de color claro es objeto de un proceso de evaporación a través de un evaporador de vacío, o destilación con evaporador de película limpia o destilación simple a una temperatura entre 10°C y 90°C y vacío de 1 mbar a 0.0001mbar para remover los solventes y dejar atrás un concentrado de tocoles decolorizados concentrados apropiados para el uso en la industria cosmética. La reducción del color de dicho proceso varía entre 20R y 80R (medidos con la celda de 5 ½ pulgadas de un Tintómetro Lovibond o equipo APHA de medición de color) en el concentrado de tocoles inicial a entre 1R y 20R en el concentrado de tocoles decolorizado final.

Mientras el marco de realización de las pruebas particulares del invento ha sido descrito, será obvio para aquellos con habilidad en el campo que varios cambios y modificaciones al invento pueden ser hechos sin alejarse del espíritu y el campo de acción del invento. Se pretende cumplir, en los apéndices, todas las modificaciones que están en el campo de acción de este invento.

**Reivindicaciones:**

1. Un proceso integrado para extraer y purificar tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides y producción de ésteres de ácido graso de los aceites, comprendiendo las siguientes etapas:
  - 5           a.    Transesterificación de aceite con contenido de tocotrienoles/tocoferoles, carotenos, esteroides, ácidos grasos, mono-, di- y triglicéridos, por un periodo de tiempo a una temperatura específica en presencia de un alcohol monohídrico, y una base o ácido para formar una capa rica en ésteres y una capa rica en glicerol;
  - 10          b.    Separando la capa rica en ésteres de la capa rica en glicerol obtenida en (a) por asentamiento gravitacional, decantación o separación por fuerzas centrífugas;
  - c.    Lavando y secando la capa rica en ésteres obtenida en (b) bajo condiciones suficientes para remover todas las impurezas, bases y ácidos sin destruir los tocotrienoles, tocoferoles y carotenoides capa  
15           rica en ésteres;
  - d.    Destilación molecular por medio del método de regresión lineal múltiple Stepwise o cualquier otro método de destilación de la capa  
20           rica en ésteres seca resultante obtenida en (c) para producir una mezcla concentrada de tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides a una temperatura y presión específicas;
  - e.    Transesterificación adicional de la mezcla obtenida en (d) con un contenido concentrado de tocotrienoles/tocoferoles, carotenos, esteroides, y ácidos grasos, mono-, di- tri glicéridos, por un periodo de  
25           tiempo a una temperatura específica en presencia de un alcohol monohídrico, y bases o ácidos para convertir los glicéridos en el aceite para formar una capa super rica en ésteres y una capa rica en glicerol; y
  - f.    Repitiendo las reacciones de transesterificación anteriores y destilaciones moleculares con el método Stepwise para lograr la concentración deseada de tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y

esteroles.

- 5                   2. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde los carotenoides concentrados son tratados con un alcohol de alquilo inferior bajo condiciones suficientes para formar micelas de carotenoides sin destruir los mismos, formando así una capa rica en carotenoides.
- 10                   3. La capa rica en carotenoides de acuerdo a la Reivindicación 2, en donde la mencionada capa rica en carotenoides se somete a una evaporación o a un proceso de destilación para destilar el alcohol de bajo alquilo y así formar un extracto de carotenoide concentrado.
- 15                   4. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la mezcla concentrada de tocotrienoles/tocoferoles/esteroles es tratada con un alcohol monohídrico bajo por un periodo de tiempo a una temperatura específica para cristalizar los esteroles y los mono-, di-, y tri-glicéridos de la mezcla.
5. La mezcla concentrada de tocotrienoles/tocoferoles/esteroles de acuerdo a la Reivindicación 4, donde dicha mezcla es sometida a una filtración sólido-líquida para obtener una masa rica en filtrado de tocotrienoles/tocoferoles/esteroles y esteroles.
- 20                   6. El filtrado de tocotrienoles/tocoferoles/esteroles de acuerdo a la Reivindicación 5, en donde dicho filtrado es sujeto a una evaporación o a un proceso de destilación para destilar el alcohol de bajo alquilo para formar un extracto de tocotrienoles/tocoferoles concentrados.
- 25                   7. La maza de esteroles, de acuerdo a la Reivindicación 5, donde la maza de esteroles es tratada con los apropiados solventes por un periodo de tiempo a una temperatura específica para concentrar así los esteroles.
8. El extracto de tocotrienoles/tocoferoles concentrados obtenido del proceso de cristalización de acuerdo a la Reivindicación 4, donde los

tocotrienoles/tocoferoles concentrados son tratados con solventes y absorbentes apropiados, tierra de blanqueo o carbón activado por un periodo de tiempo a una temperatura específica para reducir el color, y obtener un concentrado de tocotrienoles/tocoferoles de un color más claro.

- 5            9. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde el aceite usado en la transesterificación se selecciona de pero no está limitado a, aceite crudo de palma, oleína cruda de palma, aceite de palma roja, oleína de palma roja, aceite vegetal o cualquier otro aceite comestible apropiado.
- 10           10. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde los glicéridos en el aceite son convertidos en ésteres de alquilo de ácidos grasos y glicerol, y así formar una capa rica en ésteres y una capa rica en glicerina, a través de poner en contacto el aceite con una solución de esterificación que comprenda un alcohol de bajo alquilo y una base o ácido.
- 15           11. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la proporción entre el aceite y la solución de esterificación se encuentra en un rango entre 0.5 - 10 partes de aceite a 1 parte de solución de esterificación.
- 20           12. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la base usada en la solución de esterificación se selecciona de un grupo que comprende, pero no esta limitado a, metóxido de sodio, metóxido de potasio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, o cualquier otra base apropiada.
13. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 1 o 12, donde la proporción entre la base y el alcohol de bajo alquilo en la solución de esterificación se encuentra en un rango entre 0.005 a 5 partes de base por 1 parte de alcohol de bajo alquilo.
- 25           14. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde el ácido usado se selecciona de un grupo que comprende, pero no esta limitado a, ácido hidroc্লórico, ácido fosfórico, ácido cítrico o cualquier otro ácido apropiado.

15. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 1 o 14, la proporción entre ácido y alcohol de bajo alquilo en la solución de esterificación se encuentra en un rango entre 0.005 a 5 partes de ácido a 1 parte de alcohol de bajo alquilo.
- 5 16. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde el alcohol de bajo alquilo usado se selecciona de un grupo que comprende, pero no esta limitado a, metanol, etanol, butanol, propanol o cualquier otro alcohol de bajo alquilo apropiado.
- 10 17. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la transesterificación se lleva a cabo a una temperatura entre 5°C a 90°C con un periodo de tiempo entre 0.50 a 16 horas.
- 15 18. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la mezcla de transesterificación se agita a una velocidad de entre 10 rpm a 500 rpm.
19. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde los ésteres de alquilo producidos comprenden metil, etil, e isopropil o butil ésteres de los ácidos grasos, dependiendo del tipo de alcohol de bajo alquilo usado.
- 20 20. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la capa rica en ésteres o capa super rica en ésteres es separada de la capa rica en glicerina por asentamiento gravitacional convencional o fuerzas centrífugas.
21. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la capa rica en ésteres o capa super rica en ésteres es lavada con agua fría o caliente a través de contacto directo con agua caliente o a contracorriente con columna de agua caliente a una temperatura entre 30 y 90°C.
- 25 22. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la capa rica en ésteres o capa super rica en ésteres es lavada con agua caliente hasta que se alcanza un nivel de pH de 6 a 8.

23. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la capa rica en ésteres o capa super rica en ésteres lavada se somete a evaporación al vacío o a un evaporador de película limpia o destilación simple para lograr un contenido de humedad entre 0.001% y 0.20%.
- 5 24. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la capa rica en ésteres o capa super rica en ésteres seca se somete a una destilación molecular de múltiples etapas a una temperatura entre 50°C y 300°C y a un vacío de 0.00001 a 1.0 mbar.
- 10 25. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la mezcla obtenida en 1(d) comprende una mezcla concentrada de tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides en un grado de concentración de entre 0.1-10%, 0.1-10% y 0.1-10% respectivamente.
- 15 26. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la destilación molecular de múltiples etapas de la capa rica en ésteres seca producirá un extracto de tocotrienoles/tocoferoles/esteroides como el destilado y un extracto de carotenoides como el residuo.
- 20 27. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 1 o 26, donde el contenido de tocotrienoles/tocoferoles/esteroides en el destilado es de 5% a 30% total de tocotrienoles/tocoferoles y 5% -50% total de esteroides y un contenido de carotenoides en el residuo de entre 5% - 30%.
28. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 2 o 3, donde el alcohol de bajo alquilo usado en el lavado con alcohol se selecciona de un grupo constituido por, pero no limitado a, metanol o etanol o propanol o butanol o isopropil alcohol o cualquier combinación de estos alcoholes de alquilo.
29. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 2 o 3, donde los tiempos de lavado y agitación varían entre media hora y 30 horas y la temperatura se encuentra en un rango entre 5°C y 90°C.

30. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 2 o 3, donde el extracto de carotenoides concentrados tiene una concentración total de carotenoides de entre 20%-50%.
- 5 31. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 2 o 3, donde el extracto de carotenoides concentrados consiste en alfa-caroteno y beta-caroteno como los principales carotenoides y otros carotenoides tales como gama-caroteno, licopeno, fitoeno y fitoflueno en más baja concentración.
- 10 32. El proceso de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 4 a 6, donde el alcohol de bajo alquilo usado en la cristalización de la mezcla de tocotrienoles/tocoferoles/esteroles se selecciona de un grupo constituido por, pero no limitado a, metanol o etanol o propanol o butanol o cualquier combinación de estos alcoholes de bajo alquilo.
- 15 33. El proceso de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 4 a 6, donde la temperatura de la cristalización oscila entre - 60°C y 0°C por un periodo entre 3 horas y 10 días.
34. El proceso de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 4 a 6, donde la temperatura de evaporación oscila entre 10°C y 90°C.
- 20 35. El proceso de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 4 a 6, donde el concentrado de tocoles resultante tiene una concentración de tocotrienoles y tocoferoles de entre 20% y 90%.
36. El proceso de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 4 a 6, donde el concentrado de tocoles resultante comprende las ocho formas de la vitamina E, a saber, alfa-tocoferol, beta-tocoferol, gama-tocoferol, delta-tocoferol y alfa-tocotrienol, beta-tocotrienol, gama-tocotrienol y delta-tocotrienol.
37. El proceso de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 4 a 6, donde el concentrado de tocoles resultante puede también contener otros compuestos tales

como escualeno, esteroides, carotenoides y CoQ10 con una concentración típica oscilando entre 0.5%-20%, 0.5% - 20%, 0.05% - 10% y 0.001% - 2% respectivamente.

- 5      38. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 5 o 7, donde el solvente usado en la purificación de los esteroides se selecciona de un grupo constituido por, pero no limitado a, hexano, heptano, iso-octano, acetona or etil acetato o cualquier combinación de estos solventes, en una proporción que oscila entre 1:1-10:1.
- 10      39. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 5 o 7, donde la cristalización de los esteroides es llevada a cabo en un rango de temperatura de -30°C a 10°C de 12 a 72 horas y los esteroides filtrados y secos resultantes tienen un contenido total de fitoesteroides que varía de 70% a 90%.
40. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 5 o 7, donde la temperatura de purificación de los esteroides está entre 10°C a 80°C en un periodo entre 1 y 10 horas.
- 15      41. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 8, donde el rango de temperatura del proceso de decolorización esta entre 10°C y 90°C en un periodo de 1 a 24 horas por lote.
42. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 8, donde la mezcla es agitada por un rango de 10 rpm a 1000 rpm.
- 20      43. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 8, donde la mezcla después de la reacción es filtrada con un filtro de prensa o filtración al vacío o centrifugación o por asentamiento simple y el filtrado resultante es evaporado a una temperatura oscilando entre 10°C y 90°C y un vacío de 1 mbar a 0.0001 mbar.
44. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 8, donde el concentrado decolorizado de tocoles tiene un rango de color entre 1R y 20R al ser medido con una celda de 5½ pulgadas del Tintómetro Lovibond.

45. Los tocotrienoles, tocoferoles, carotenoides y esteroides recuperados de los aceites de acuerdo a como ha sido reivindicado en cada una de las Reivindicaciones precedentes.

**SINTESIS****RECUPERACIÓN DE FITONUTRIENTES EN ACEITES**

El presente invento se relaciona al mejorado e integrado proceso de extracción y purificación de tocotrienoles o tocoferoles, carotenoides y esteroides de vegetales y otros aceites comestibles. Los ácidos grasos en los aceites vegetales son sometidos a esterificación con alcohol para formar una capa rica en ésteres que incluye ésteres de alquilo de ácidos grasos, carotenoides, tocotrienoles o tocoferoles, y esteroides. Una de las ventajas de este proceso es que los tocotrienoles o tocoferoles, carotenoides y esteroides son producidos eficientemente sin presentarse descomposición substancial alguna o degradación de estos fitonutrientes.

## ASSIGNMENT OF RIGHTS OVER INVENTION

In the City of Kuala Lumpur  
 On this 27 day of June  
 year 2006, I (we) HO. DAVID SUE SAN

domiciled at \_\_\_\_\_

owner of the invention titled \_\_\_\_\_

RECOVERY OF PHYTONUTRIENTS FROM OILS

hereby assign(s), sell(s) and transfer(s) all rights and interest in  
 and to his (their) invention (s) to \_\_\_\_\_

CAROTECH BHD

domiciled at \_\_\_\_\_

including the right to claim the priority of this invention based  
 on application no.(s) \_\_\_\_\_

filed on \_\_\_\_\_

at \_\_\_\_\_ the Patent Offices of  
 (country) \_\_\_\_\_

## CESION DE DERECHOS SOBRE INVENCION

En la ciudad de \_\_\_\_\_  
 el \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_\_ yo  
 (nosotros) \_\_\_\_\_

con domicilio en \_\_\_\_\_

propietario de la invención titulada \_\_\_\_\_

por esta medio vende(n), cede (n) y transfiere(n) a \_\_\_\_\_

con domicilio en \_\_\_\_\_

Incluyendo el derecho de reclamar el beneficio de la  
 prioridad sobre esta invención basada en la solicitud no. \_\_\_\_\_

depositada en fecha \_\_\_\_\_

en las oficinas de patentes de (país) \_\_\_\_\_

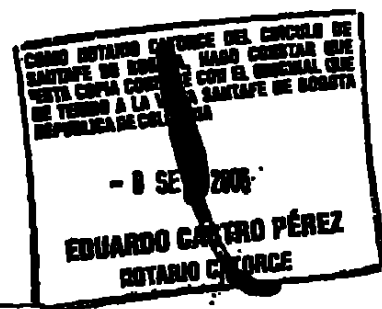


Notarization required.

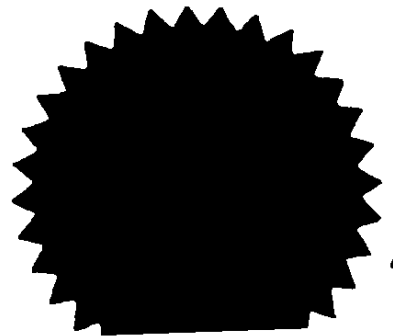
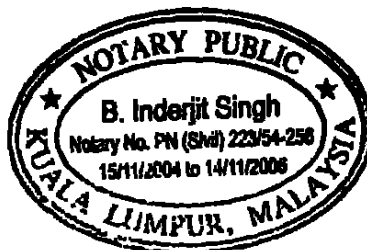
FIRMAS /SIGNATURES

DAVID HO SUE SAN

Assignor(s) Cedente(s)



**B. Inderjit Singh**  
 NOTARY PUBLIC  
 6TH FLOOR, BANGKOK BANK BUILD.  
 105, JALAN TUN H.S. LEE,  
 50000 KUALA LUMPUR, MALAYSIA.  
 TEL: 20727426



PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE USS  
PAGADOS DERECHOS CONSULARES USS

CONSULADO DE COLOMBIA  
KUALA LUMPUR

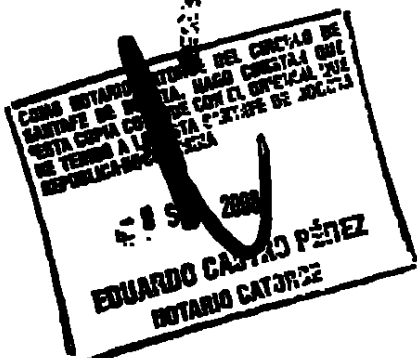
Nº 67

El suscrito Consol de Colombia CERTIFICA  
que el señor Lokman Sayuti  
que autoriza el presente documento, ej  
legalmente, en la fecha allí expresada  
funciones de Official Consul

y que la firma y sello que en el documen  
aparecen como suyos son los que usa y  
agostumbra en sus actos oficiales.

El Consol no assume responsabilidad al  
por el contenido del documento

*[Signature]*



This is to certify the signature that  
appears on this document/Certificate/Marriage  
Certificate/Gift/Darsh Certificate is that of  
R.INDERJIT SINGH.....who  
is.....from Notary Public.....  
The Ministry of Foreign Affairs, Malaysia is not  
responsible of the accuracy of the information  
contained therein.



**LOKMAN SAYUTI**  
Executive Officer  
Consular Division  
Ministry of Foreign Affairs  
Putrajaya Malaysia

6 JUL 2006

TELAH DI BAYAR RM \_\_\_\_\_  
NO. RESIT \_\_\_\_\_



*Consulado de Colombia*  
*Kuala Lumpur, Malasia*

85

**EL SUSCRITO CONSEJERO ENCARGADO DE FUNCIONES  
CONSULARES DE LA EMBAJADA DE COLOMBIA EN  
KUALA LUMPUR, MALASIA,  
CERTIFICA**

**CON BASE EN LOS DOCUMENTOS QUE TUVO A LA VISTA  
QUE:**

**1.- EL SEÑOR HO DAVID SUE SAN FIRMÓ EL DOCUMENTO  
ADJUNTO, EN NOMBRE DE LA COMPAÑÍA "CAROTECH INC."  
DE MALASIA AUTORIZANDO A WENDY DIAZ Y ASSOCIATES P.A.  
DE REPUBLICA DOMINICANA PARA QUE REALICE TODOS LOS  
TRAMITES DE REGISTRO Y PROTECCION DE SUS MARCAS.**

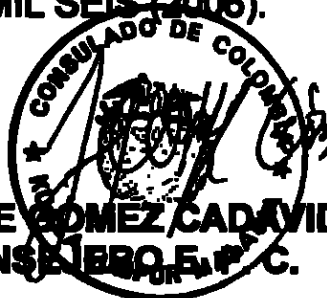
**2.- LA COMPAÑÍA CITADA EN EL PARRAFO ANTERIOR, TIENE  
COMO DIRECTOR EL MENCIONADO ANTERIORMENTE:**

**HO DAVID SUE SAN**

**3.- QUE LA COMPAÑÍA "CAROTECH INC" PRESENTO SU  
DOCUMENTACION EN MALASIA Y ELLO HA SIDO CERTIFICADO  
POR NOTARIO PUBLICO CONFORME CON LAS LEYES DE ESTE  
PAIS EL 26 DE JUNIO DE 2006 POR LO TANTO, EXISTE  
LEGALMENTE.**

**4.- QUE UNA DE LAS ACTIVIDADES PRINCIPALES DE LA  
COMPAÑÍA "CAROTECH INC" ESTA RELACIONADA CON LA  
PRODUCCION Y COMERCIALIZACION DE BIODIESEL,  
FITONUTRIENTES Y MEDICAMENTOS PARA FINES MEDICOS.**

**DADA EN KUALA LUMPUR, MALASIA A LOS (26) DÍAS DEL MES  
DE JULIO DEL AÑO DOS MIL SEIS (2006).**

  
**JORGE GOMEZ CAVAID**  
**CONSEJERO E. P. C.**



31

PODER

El que suscribe

Pasaporte no.

en su carácter de

de la firma

domiciliada en

Autorizo a \_\_\_\_\_

para que en nuestro nombre y representación gestione, ante las autoridades correspondientes en las siguientes jurisdicciones: COLOMBIA ya sea en persona o por medio de representación del correspondiente agente local, todo lo relacionado con el registro y protección de nuestras Marcas, Lemas Comerciales, Patentes de Invención, Modelos Industriales, registro sanitario de productos, derechos de autor, nombres de dominio, así como todos y cualesquiera derechos relacionados con asuntos de propiedad intelectual y a hacer lo que sea necesario para preservar nuestros derechos sobre tales asuntos con poderes amplios y suficientes que incluyen pero no se limitan a hacer depósitos de solicitudes para registros, renovaciones, traspasos, solicitar prórrogas, efectuar enmiendas y modificaciones, presentar recursos de reconsideración y apelaciones, contestar requerimientos oficiales, realizar cambio de nombre o de dirección, presentar renuncia o abandono voluntario, inscribir licencias y franquicias. Asimismo para que en nuestro nombre cumpla con todas las formalidades para ejecutar cesiones y aceptar traspasos, realice cualquier otro trámite que considere necesario a estos efectos, incluyendo pero no limitando a solicitudes, acciones o litigios referidos a los derechos arriba mencionados por ante las autoridades de COLOMBIA, ya sean iniciados por nosotros o contra nosotros, tales como oposición, nulidad, cancelación, caducidad, o cualquier otra acción relacionada con nuestros derechos.

Dado en \_\_\_\_\_  
el día \_\_\_\_\_ en el mes de \_\_\_\_\_ de 200\_\_

Firma :

LEGALIZACION POR NOTARIO PUBLICO

Yo \_\_\_\_\_ Notario Público debidamente autorizado para el ejercicio de mi ministerio, por este medio CERTIFICO que la firma que antecede fue puesta libremente por \_\_\_\_\_ de generales que constan para los fines establecidos en el documento que antecede.

En testimonio de lo cual sello y firmo el presente documento el día \_\_\_\_\_ del mes \_\_\_\_\_ año 200\_\_.

NOTARIZACION REQUERIDA.

POWER OF ATTORNEY

The undersigned HO, DAVID SUE SAN

Passport no.

In his/her capacity as MANAGING DIRECTOR

of the company CAROTECH INC.

domiciled at

Hereby appoints Weedy Diaz & Associates, P.A.  
Santa Domingo Office, Av. Los Arroyos #49, Plaza Los Arroyos,  
Suite 3-C, Arroyo Road, Santo Domingo, DOMINICAN REPUBLIC.

to act and represent us for and on our behalf before corresponding authorities of the following jurisdictions: COLOMBIA either in person or by representation of corresponding local agent in order to perform all necessary procedures to obtain registration and protection of our Trademarks, slogans, invention patents, industrial models, sanitary registration of products, copyrights, domain names, as well as in any other Intellectual Property related matters and do whatever necessary in order to preserve our rights over such matters with powers including but not limited to file applications for registrations, renewals, assignments, extensions of term, carry on amendments and modifications, file petition for reconsideration and appeal, answer to official summons, change of the corporate name or domicile, file voluntary resignation and waiver and register licenses and franchises in addition to complying with all formalities to execute and accept assignments, do any act deemed appropriate in connection thereto. Including but not limited to applications, actions or litigation related to the above matters to preserve our rights before corresponding authorities in COLOMBIA and to act in defense of its interest in any matter initiated by or against us such as opposition, nullity, cancellation, forfeiture or any other action involving our rights. Local Appointed Agent: DIEGO MUNOZ MARROQUIN.

Done in Malaysia  
On this 25th day of May of 2006.

Signature:

*[Signature]*

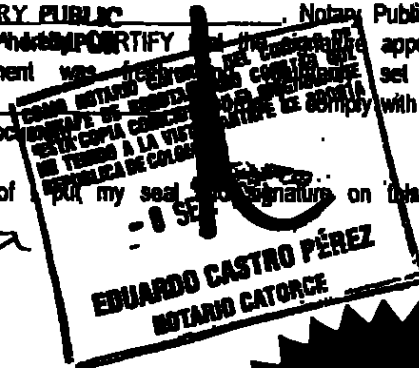
NOTARY PUBLIC LEGALIZATION

B. Inderjit Singh

NOTARY PUBLIC

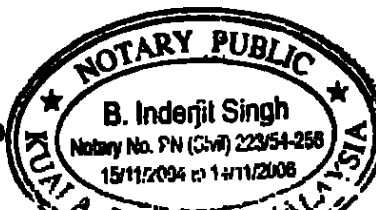
I, \_\_\_\_\_ Notary Public duly sworn for my exalted office, hereby CERTIFY that the foregoing document was freely and voluntarily executed and set before me by \_\_\_\_\_ of the foregoing document and that the same is in conformity with the purposes of the foregoing document.

In witness thereof, I have hereunto set my hand and seal on this 23 day of June 2006.



NOTARIZATION REQUIRED.

B. Inderjit Singh  
NOTARY PUBLIC  
6TH FLOOR, BANGKOK BANK BUILD  
105, JALAN TUN H.S. LEE,  
50000 KUALA LUMPUR, MALAYSIA.  
TEL: 20777414





This is to certify the signature that appears on this document/Certificate/Marriage Certificate/Birth/Death Certificate is that of .....**BINDERUT SINGH**.....who is.....from Netry Public..... The Ministry of Foreign Affairs Malaysia is not responsible of the accuracy of the information contained therein.



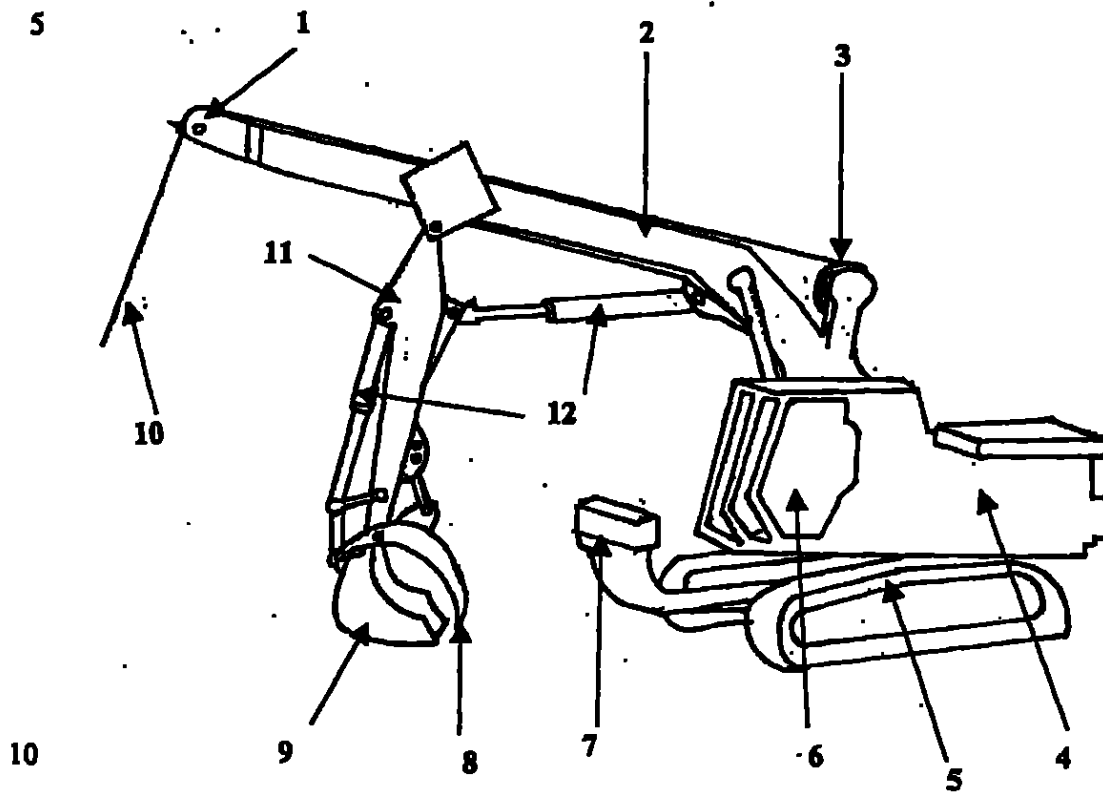
**LUKMAN SAYUTI**  
Executive Officer  
Consular Division  
Ministry of Foreign Affairs  
Putrajaya Malaysia

06 JUL 2006

**METHOD OF WINCHING CUT TIMBER IN A FOREST  
AND A MACHINE DESIGNED TO ACCOMPLISH THIS**  
DRAWINGS - SHEET 1 OF 5

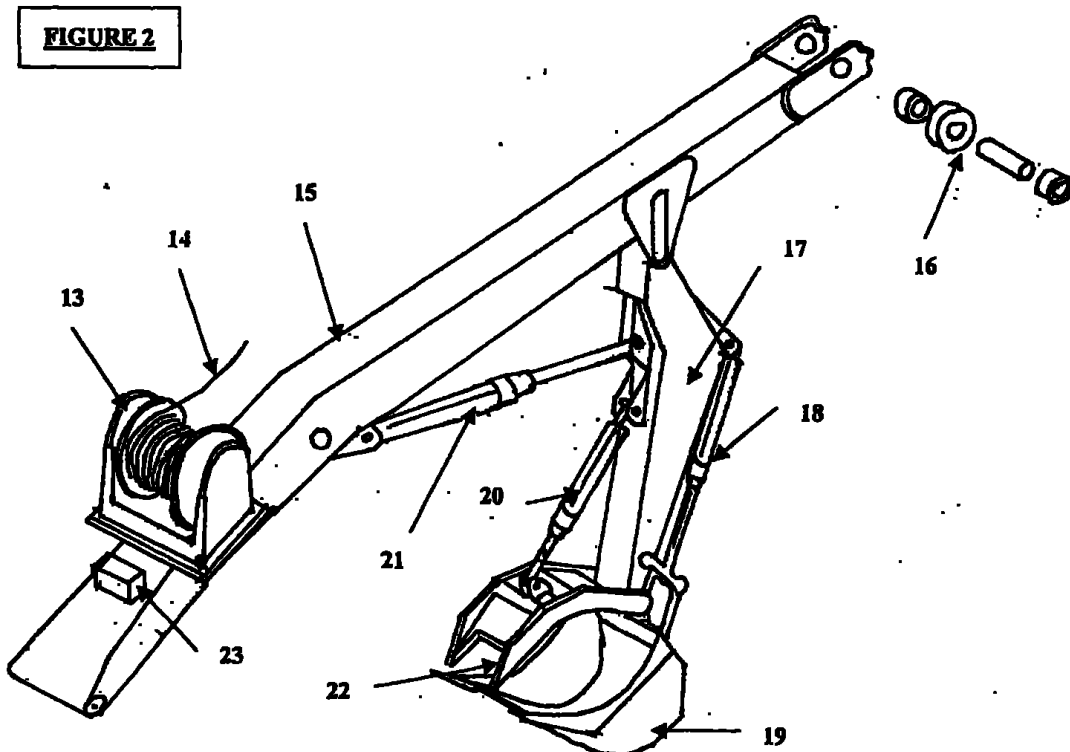
87

**FIGURE 1**



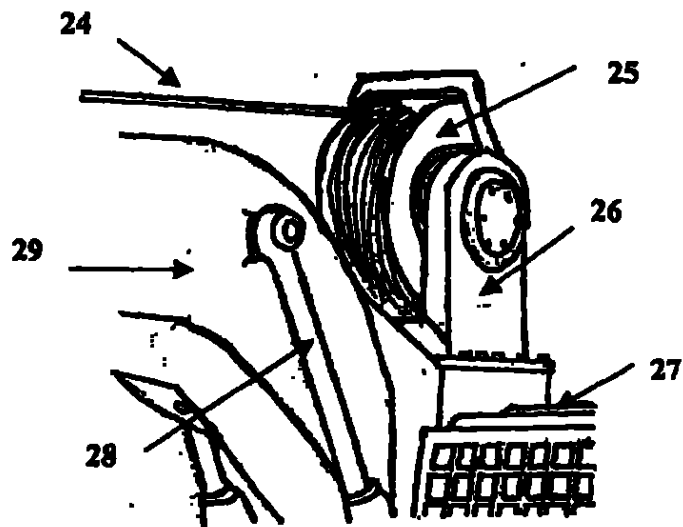
33

METHOD OF WINCHING CUT TIMBER IN A FOREST  
AND A MACHINE DESIGNED TO ACCOMPLISH THIS  
DRAWINGS - SHEET 2 OF 5



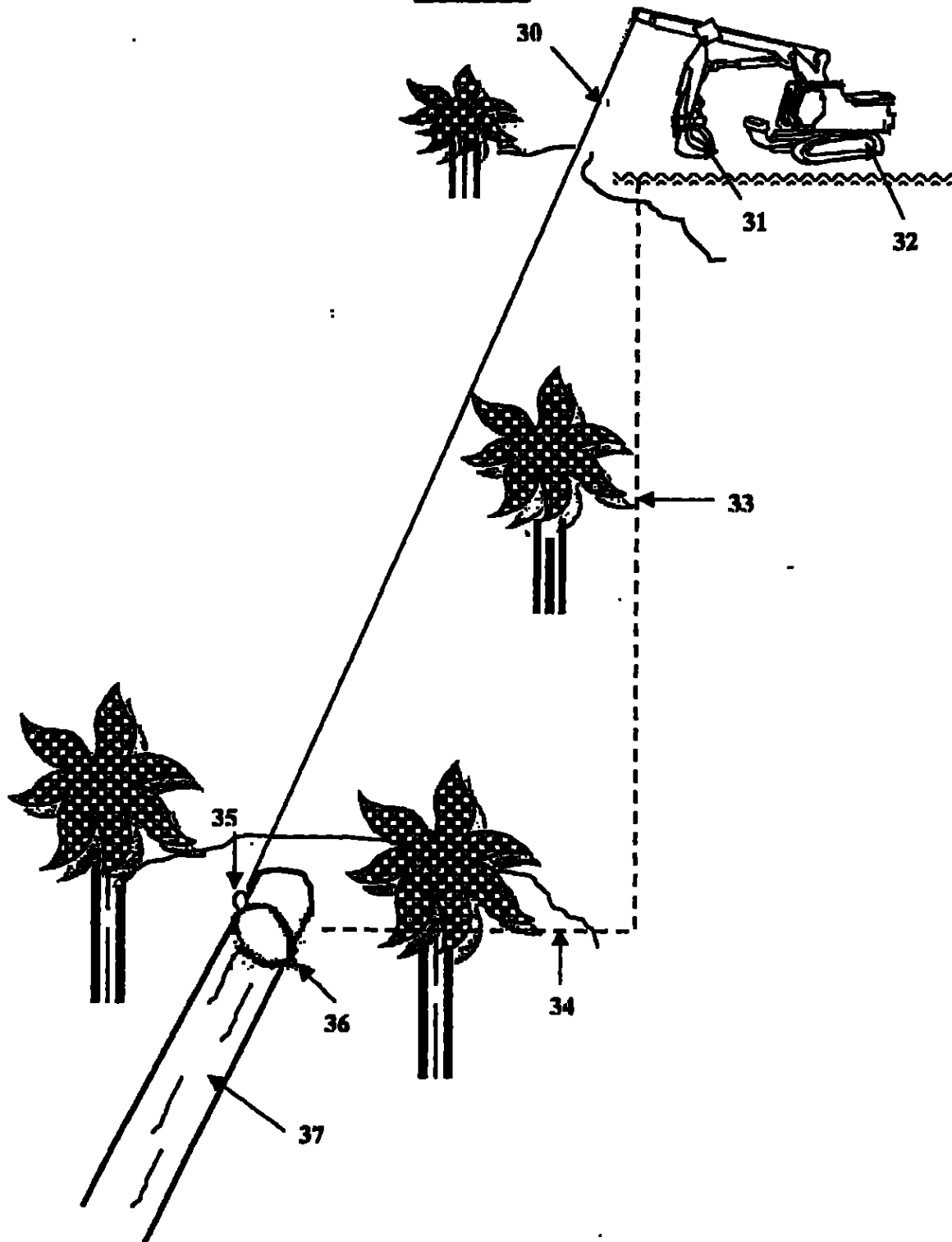
**METHOD OF WINCHING CUT TIMBER IN A FOREST**  
**AND A MACHINE DESIGNED TO ACCOMPLISH THIS**  
**DRAWINGS - SHEET 3 OF 5**

**FIGURE 3**



**METHOD OF WINCHING CUT TIMBER IN A FOREST**  
**AND A MACHINE DESIGNED TO ACCOMPLISH THIS**  
**DRAWINGS - SHEET 4 OF 5**

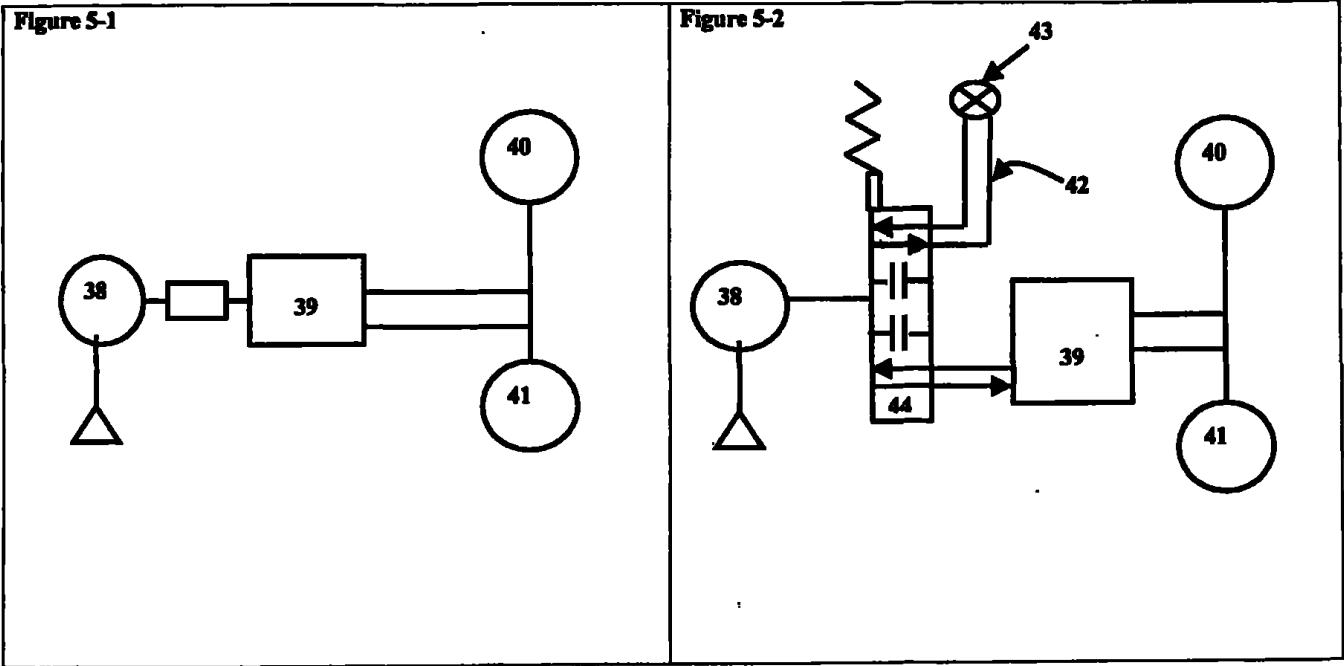
**FIGURE 4**



**METHOD OF WINCHING CUT TIMBER IN A FOREST  
AND A MACHINE DESIGNED TO ACCOMPLISH THIS  
DRAWINGS - SHEET 5 OF 5**

91

**FIGURE 5**



PCT/SG 03/00260

|                |                                                               |
|----------------|---------------------------------------------------------------|
| (FORMA P-104)  |                                                               |
| EXTRACTO       |                                                               |
| 21             | Dibujo Característico<br>se puede pegar aquí<br>6cms. x 6cms. |
| 22             |                                                               |
| 15 / 06 / 2006 |                                                               |
| 31             |                                                               |
| 32             |                                                               |
| 33             |                                                               |
| 51             |                                                               |
| 74             | DIEGO MUÑOZ MARROQUÍN                                         |
| 72             | DAVID HO SUE SAN                                              |

Título No. Fecha 92

(57) Reivindicación Número 1.

Una composición que comprende:

1. Un proceso integrado para extraer y purificar tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides y producción de ésteres de ácido graso de los aceites, comprendiendo las siguientes etapas:

|                                                                                           |                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 71                                                                                        | CAROTECH INC                                          |
| 21, Balmoral Village, Talmadge Court, Edison, New Jersey 08817, United States of America. |                                                       |
| 54                                                                                        | TITULO "RECUPERACION DE FITONUTRIENTES DESDE ACEITES" |

|                                                               |                                     |                    |                          |                   |                          |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------|--------------------|--------------------------|-------------------|--------------------------|
| PATENTE                                                       | <input checked="" type="checkbox"/> | MODELO DE UTILIDAD | <input type="checkbox"/> | DISEÑO INDUSTRIAL | <input type="checkbox"/> |
| SOLICITANTES, RAZON SOCIAL O APELLIDOS Y NOMBRES CAROTECH INC |                                     |                    |                          |                   |                          |
| DOMICILIO New Jersey 08817, United States of America          |                                     |                    |                          |                   |                          |
| 30.                                                           |                                     |                    |                          |                   |                          |
| Representante Legal DIEGO MUÑOZ MARROQUÍN                     |                                     |                    |                          |                   |                          |
| TITULO "RECUPERACION DE FITONUTRIENTES DESDE ACEITES"         |                                     |                    |                          |                   |                          |
| CLASIFICACION                                                 |                                     |                    |                          |                   |                          |
| EXPEDIENTE No. FECHA DE SOLICITUD 15/06/2006 ROLLO MICROFILM  |                                     |                    |                          |                   |                          |
| CERTIFICADO No. FECHA DE CONCESION VIGENCIA DESDE HASTA       |                                     |                    |                          |                   |                          |
| PRORROGA CAMBIO DE NOMBRE                                     |                                     |                    |                          |                   |                          |
| TRASPASO A                                                    |                                     |                    |                          |                   |                          |
| INVENTORES DAVID HO SUE SAN                                   |                                     |                    |                          |                   |                          |
| OTROS                                                         |                                     |                    |                          |                   |                          |

| EXTRACTO PARA LA PUBLICACIÓN<br>SOLICITUD DE PATENTE DE MODELO DE UTILIDAD<br>DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| (21) NO. SOLICITUD:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | (51) INT. CL. :                          |
| (22) FECHA DE PRESENTACIÓN: 15 / 06 / 2006                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | (71) SOLICITANTE: CAROTECH INC           |
| (30) PRIORIDAD:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                          |
| (31) No. DE SOLICITUD PI 2003 4440                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | (72) INVENTORES: DAVID HO SUE<br>SAN     |
| (32) FECHA DE PRESENTACIÓN: 19/11/2003                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                          |
| (33) PAÍS: MALASIA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | (74) APODERADO: DIEGO MUÑOZ<br>MARROQUÍN |
| (54) TITULO: "RECUPERACION DE FITONUTRIENTES DESDE ACEITES"                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                          |
| <b>RESUMEN:</b><br><br>El presente invento se relaciona al mejorado e integrado proceso de extracción y purificación de tocotrienoles o tocoferoles, carotenoides y esteroides de vegetales y otros aceites comestibles. Los ácidos grasos en los aceites vegetales son sometidos a esterificación con alcohol para formar una capa rica en ésteres que incluye ésteres de alquilo de ácidos grasos, carotenoides, tocotrienoles o tocoferoles, y esteroides. Una de las ventajas de este proceso es que los tocotrienoles o tocoferoles, carotenoides y esteroides son producidos eficientemente sin presentarse descomposición substancial alguna o degradación de estos fitonutrientes. |                                          |
| <b>REIVINDICACIONES:</b><br><br>1. Un proceso integrado para extraer y purificar tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides y producción de ésteres de ácido graso de los aceites, comprendiendo las siguientes etapas:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                          |

- a. Transesterificación de aceite con contenido de tocotrienoles/tocoferoles, carotenos, esteroides, ácidos grasos, mono-, di- y triglicéridos, por un periodo de tiempo a una temperatura específica en presencia de un alcohol monohídrico, y una base o ácido para formar una capa rica en ésteres y una capa rica en glicerol;
  - b. Separando la capa rica en ésteres de la capa rica en glicerol obtenida en (a) por asentamiento gravitacional, decantación o separación por fuerzas centrífugas;
  - c. Lavando y secando la capa rica en ésteres obtenida en (b) bajo condiciones suficientes para remover todas las impurezas, bases y ácidos sin destruir los tocotrienoles, tocoferoles y carotenoides capa rica en ésteres;
  - d. Destilación molecular por medio del método de regresión lineal múltiple Stepwise o cualquier otro método de destilación de la capa rica en ésteres seca resultante obtenida en (c) para producir una mezcla concentrada de tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides a una temperatura y presión específicas;
  - e. Transesterificación adicional de la mezcla obtenida en (d) con un contenido concentrado de tocotrienoles/tocoferoles, carotenos, esteroides, y ácidos grasos, mono-, di- tri glicéridos, por un periodo de tiempo a una temperatura específica en presencia de un alcohol monohídrico, y bases o ácidos para convertir los glicéridos en el aceite para formar una capa super rica en ésteres y una capa rica en glicerol; y
  - f. Repitiendo las reacciones de transesterificación anteriores y destilaciones moleculares con el método Stepwise para lograr la concentración deseada de tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides.
- 2 El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde los carotenoides concentrados son tratados con un alcohol de alquilo inferior bajo condiciones suficientes para formar micelas de carotenoides sin destruir los mismos, formando así una capa rica en carotenoides.
  3. La capa rica en carotenoides de acuerdo a la Reivindicación 2, en donde la mencionada capa rica en carotenoides se somete a una evaporación o a un proceso de destilación para destilar el alcohol de bajo alquilo y así formar un extracto de carotenoide concentrado.

4. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la mezcla concentrada de tocotrienoles/tocoferoles/esteroles es tratada con un alcohol monohídrico bajo por un periodo de tiempo a una temperatura específica para cristalizar los esteroles y los mono-, di-, y tri-glicéridos de la mezcla.
5. La mezcla concentrada de tocotrienoles/tocoferoles/esteroles de acuerdo a la Reivindicación 4, donde dicha mezcla es sometida a una filtración sólido-líquida para obtener una masa rica en filtrado de tocotrienoles/tocoferoles/esteroles y esteroles.
6. El filtrado de tocotrienoles/tocoferoles/esteroles de acuerdo a la Reivindicación 5, en donde dicho filtrado es sujeto a una evaporación o a un proceso de destilación para destilar el alcohol de bajo alquilo para formar un extracto de tocotrienoles/tocoferoles concentrados.
7. La masa de esteroles, de acuerdo a la Reivindicación 5, donde la masa de esteroles es tratada con los apropiados solventes por un periodo de tiempo a una temperatura específica para concentrar así los esteroles.
8. El extracto de tocotrienoles/tocoferoles concentrados obtenido del proceso de cristalización de acuerdo a la Reivindicación 4, donde los tocotrienoles/tocoferoles concentrados son tratados con solventes y absorbentes apropiados, tierra de blanqueo o carbón activado por un periodo de tiempo a una temperatura específica para reducir el color, y obtener un concentrado de tocotrienoles/tocoferoles de un color más claro.
9. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde el aceite usado en la transesterificación se selecciona de pero no está limitado a, aceite crudo de palma, oleína cruda de palma, aceite de palma roja, oleína de palma roja, aceite vegetal o cualquier otro aceite comestible apropiado.
10. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde los glicéridos en el aceite son convertidos en ésteres de alquilo de ácidos grasos y glicerol, y así formar una capa rica en ésteres y una capa rica en glicerina, a través de poner en contacto el aceite con una solución de esterificación que comprenda un alcohol de bajo alquilo y una base o ácido.
11. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la proporción entre el aceite y la solución de esterificación se encuentra en un rango entre 0.5 - 10 partes de aceite a 1 parte de solución de esterificación.

12. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la base usada en la solución de esterificación se selecciona de un grupo que comprende, pero no esta limitado a, metóxido de sodio, metóxido de potasio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, o cualquier otra base apropiada.
13. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 1 o 12, donde la proporción entre la base y el alcohol de bajo alquilo en la solución de esterificación se encuentra en un rango entre 0.005 a 5 partes de base por 1 parte de alcohol de bajo alquilo.
14. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde el ácido usado se selecciona de un grupo que comprende, pero no esta limitado a, ácido hidrocórico, ácido fosfórico, ácido cítrico o cualquier otro ácido apropiado.
15. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 1 o 14, la proporción entre ácido y alcohol de bajo alquilo en la solución de esterificación se encuentra en un rango entre 0.005 a 5 partes de ácido a 1 parte de alcohol de bajo alquilo.
16. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde el alcohol de bajo alquilo usado se selecciona de un grupo que comprende, pero no esta limitado a, metanol, etanol, butanol, propanol o cualquier otro alcohol de bajo alquilo apropiado.
17. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la transesterificación se lleva a cabo a una temperatura entre 5°C a 90°C con un periodo de tiempo entre 0.50 a 16 horas.
18. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la mezcla de transesterificación se agita a una velocidad de entre 10 rpm a 500 rpm.
19. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde los ésteres de alquilo producidos comprenden metil, etil, e isopropil o butil ésteres de los ácidos grasos, dependiendo del tipo de alcohol de bajo alquilo usado.
20. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la capa rica en ésteres o capa super rica en ésteres es separada de la capa rica en glicerina por asentamiento gravitacional convencional o fuerzas centrífugas.
21. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la capa rica en ésteres o

capa super rica en ésteres es lavada con agua fría o caliente a través de contacto directo con agua caliente o a contracorriente con columna de agua caliente a una temperatura entre 30 y 90°C.

22. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la capa rica en ésteres o capa super rica en ésteres es lavada con agua caliente hasta que se alcanza un nivel de pH de 6 a 8.
23. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la capa rica en ésteres o capa super rica en ésteres lavada se somete a evaporación al vacío o a un evaporador de película limpia o destilación simple para lograr un contenido de humedad entre 0.001% y 0.20%.
24. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la capa rica en ésteres o capa super rica en ésteres seca se somete a una destilación molecular de múltiples etapas a una temperatura entre 50°C y 300°C y a un vacío de 0.00001 a 1.0 mbar.
25. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la mezcla obtenida en 1(d) comprende una mezcla concentrada de tocotrienoles/tocoferoles, carotenoides y esteroides en un grado de concentración de entre 0.1-10%, 0.1-10% y 0.1-10% respectivamente.
26. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 1, donde la destilación molecular de múltiples etapas de la capa rica en ésteres seca producirá un extracto de tocotrienoles/tocoferoles/esteroides como el destilado y un extracto de carotenoides como el residuo.
27. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 1 o 26, donde el contenido de tocotrienoles/tocoferoles/esteroides en el destilado es de 5% a 30% total de tocotrienoles/tocoferoles y 5% -50% total de esteroides y un contenido de carotenoides en el residuo de entre 5% - 30%.
28. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 2 o 3, donde el alcohol de bajo alquilo usado en el lavado con alcohol se selecciona de un grupo constituido por, pero no limitado a, metanol o etanol o propanol o butanol o isopropil alcohol o cualquier combinación de estos alcoholes de alquilo.
29. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 2 o 3, donde los tiempos de lavado y agitación varían entre media hora y 30 horas y la temperatura se

encuentra en un rango entre 5°C y 90°C.

30. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 2 o 3, donde el extracto de carotenoides concentrados tiene una concentración total de carotenoides de entre 20%-50%.
31. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 2 o 3, donde el extracto de carotenoides concentrados consiste en alfa-caroteno y beta-caroteno como los principales carotenoides y otros carotenoides tales como gama-caroteno, licopeno, fitoeno y fitoflueno en más baja concentración.
32. El proceso de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 4 a 6, donde el alcohol de bajo alquilo usado en la cristalización de la mezcla de tocotrienoles/tocoferoles/esteroles se selecciona de un grupo constituido por, pero no limitado a, metanol o etanol o propanol o butanol o cualquier combinación de estos alcoholes de bajo alquilo.
33. El proceso de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 4 a 6, donde la temperatura de la cristalización oscila entre - 60°C y 0°C por un periodo entre 3 horas y 10 días.
34. El proceso de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 4 a 6, donde la temperatura de evaporación oscila entre 10°C y 90°C.
35. El proceso de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 4 a 6, donde el concentrado de tocoles resultante tiene una concentración de tocotrienoles y tocoferoles de entre 20% y 90%.
36. El proceso de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 4 a 6, donde el concentrado de tocoles resultante comprende las ocho formas de la vitamina E, a saber, alfa-tocoferol, beta-tocoferol, gama-tocoferol, delta-tocoferol y alfa-tocotrienol, beta-tocotrienol, gama-tocotrienol y delta-tocotrienol.
37. El proceso de acuerdo a cualquiera de las Reivindicaciones 4 a 6, donde el concentrado de tocoles resultante puede también contener otros compuestos tales como escualeno, esteroides, carotenoides y CoQ10 con una concentración típica oscilando entre 0.5%-20%, 0.5% - 20%, 0.05% - 10% y 0.001% - 2% respectivamente.
38. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 5 o 7, donde el solvente usado

en la purificación de los esteroides se selecciona de un grupo constituido por, pero no limitado a, hexano, heptano, iso-octano, acetona or etil acetato o cualquier combinación de estos solventes, en una proporción que oscila entre 1:1-10:1.

39. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 5 o 7, donde la cristalización de los esteroides es llevada a cabo en un rango de temperatura de  $-30^{\circ}\text{C}$  a  $10^{\circ}\text{C}$  de 12 a 72 horas y los esteroides filtrados y secos resultantes tienen un contenido total de fitoesteroides que varía de 70% a 90%.
40. El proceso de acuerdo a las Reivindicaciones 5 o 7, donde la temperatura de purificación de los esteroides está entre  $10^{\circ}\text{C}$  a  $80^{\circ}\text{C}$  en un periodo entre 1 y 10 horas.
41. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 8, donde el rango de temperatura del proceso de decolorización esta entre  $10^{\circ}\text{C}$  y  $90^{\circ}\text{C}$  en un periodo de 1 a 24 horas por lote.
42. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 8, donde la mezcla es agitada por un rango de 10 rpm a 1000 rpm.
43. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 8, donde la mezcla después de la reacción es filtrada con un filtro de prensa o filtración al vacío o centrifugación o por asentamiento simple y el filtrado resultante es evaporado a una temperatura oscilando entre  $10^{\circ}\text{C}$  y  $90^{\circ}\text{C}$  y un vacío de 1 mbar a 0.0001 mbar.
44. El proceso de acuerdo a la Reivindicación 8, donde el concentrado decolorizado de tocoles tiene un rango de color entre 1R y 20R al ser medido con una celda de  $5\frac{1}{2}$  pulgadas del Tintómetro Lovibond.
45. Los tocotrienoles, tocoferoles, carotenoides y esteroides recuperados de los aceites de acuerdo a como ha sido reivindicado en cada una de las Reivindicaciones precedentes.