

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-079059- -00009-0000

Fecha: 2012-09-18 15:41:45 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 63

Clarke, Modet & C^o

COLOMBIA

P-1292

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente No. **08.079.059** ✓
Solicitud de patente a nombre de **CAROTECH SDN.BHD**

Yo, DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, actuando como apoderada sustituta de acuerdo con la sustitución adjunta, identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la carrera 11 A No. 86-53, piso 6, obrando como apoderada de la sociedad **CAROTECH SDN.BHD**, domiciliada en Chemor, Perack, Malasia, solicitante de la patente de la referencia, en respuesta al oficio No 11025 notificado por fijación en lista el 22 de junio de 2012, me permito manifestar:

1. Con fundamento en la facultad que confiere el artículo 34 de la Decisión 486 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, presento junto con este memorial nuevo capítulo reivindicatorio que consta de 7 cláusulas que corresponden a la materia otorgada en la patente europea EP 1 818 388 B1.

Sobre este particular, nos permitimos manifestar que las modificaciones anteriormente mencionadas no amplían el alcance original de la invención y se dan con el ánimo de subsanar las objeciones de claridad, establecidas por el señor examinador en su concepto técnico del oficio No. 11025.

Teniendo en cuenta el concepto técnico emitido por el Señor Superintendente Delegado para la propiedad intelectual GianCarlo Marcenaro Jiménez a la doctora Ana Maria Castro Wey, que da alcance a las comunicaciones No. 09-001524 y 09-012566, no se presenta una tasa adicional, toda vez que la solicitud fue presentada con anterioridad al 1 de enero de 2009.

2. Claridad

En relación con las objeciones planteadas por el señor examinador, atentamente nos permitimos decir que con el nuevo capítulo reivindicatorio se superan dichas objeciones.

Adicionalmente, en el nuevo juego de reivindicaciones, en especial en la reivindicación 1 se definen de manera clara las etapas del proceso.

3. Nivel inventivo

El señor examinador indica en su concepto técnico que: *“Los documentos D1 y D2 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque divulgan el proceso para la extracción y fraccionamiento de compuestos de alto valor añadido presentes en la hoja de olivo (D1, resumen) y un método de purificación de concentrado que contiene carotenos (D2, resumen).”*

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1 y el procedimiento de D1 se encuentra en las etapas de adsorción y desorción.

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1 y el procedimiento de D2 consiste en la extracción con fluidos supercríticos.

El efecto que logra el incluir las etapas de separación; adsorción y desorción es adsorber la fracción de la separación a contracorriente que contiene el fluido supercrítico.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “cómo proporcionar un proceso de extracción para obtener fracciones altamente enriquecida de compuestos naturales, procedimiento conocido en D1 para solucionar los inconvenientes que se presentan con la utilización de solventes orgánicos en una gran cantidad como eluyente y la recuperación de los solventes mediante destilación.”

Sin embargo, la separación de la segunda etapa del proceso, mediante adsorción, ya está divulgada en el documento D2 en donde se utiliza gel de sílice o alúmina activada como adsorbente y un solvente no polar como eluyente para el enriquecimiento de carotenos (resumen).

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría este tipo de etapas de separación, como la adsorción con gel de sílice o alúmina activada con lo que se consigue un alto grado de purificación y además posee una ventaja industrial debido a que genera una pequeña pérdida de presión y además de que el concentrado con carotenos es alimentado a un relleno para adsorber el concentrado sobre el relleno, el componente de carotenos es subsecuentemente eluido y recolectado (reivindicación 1). (Col. 2, Líneas 57 a 63).

En cuanto a la reivindicación dependiente 2 el documento D1 revela:

- *a extracción con fluido supercrítico se realiza en un intervalo de temperatura entre 35 y 50°C (Pag. 4, Líneas 15 a 20).*
- *La extracción con fluido supercrítico se realiza en un intervalo de temperatura entre 15 a 35 MPa (Pag. 4, Líneas 15 a 20).*
- *La extracción se realiza mediante contacto prolongado mediante un tiempo comprendido entre 30 y 60 horas si se emplea hexano o entre 100 y 160 horas si se emplea etanol, en una proporción hoja/disolvente comprendida entre 1/4, 1/20 (peso/volumen)."*

En relación con estos argumentos, respetosamente nos permitimos decir que es deseo del solicitante informar a ese despacho que en el Informe de Búsqueda Europea practicado a la solicitud de patente europea No. 06002687.9 de la cual se deriva la presente solicitud de patente colombiana, menciona que el documento D1 (WO 2005/075614) como un documento de categoría A, lo cual significa "solamente es un antecedente tecnológico (¡no específicamente relevante para la invención!).

De esta manera, el Examinador concluyó en su reporte bajo el ítem 5 solamente los documentos identificados en dicho Informe, es decir los documentos D1 a D5 deben ser identificados. La referencia WO se refiere a la extracción de hojas de los árboles de olivo, de este modo, divulga una extracción de un material sólido el cual **no tiene relación con el proceso de la reivindicación 1**, incluso cuando los tocoferoles y los carotenoides se extraen en una concentración muy baja, no comparable con los resultados de la presente invención.

Ahora bien, el solicitante desea dirigir amablemente la atención del señor examinador sobre el hecho que el documento EP 0 242 148 fue citado en la solicitud original por los propios inventores con una breve discusión (véase párrafo 0026 de la patente europea Anexo 1) y no por alguna oficina de patentes examinadora. Los inventores no consideraron y hoy en día tampoco consideran que dicho documento sea, de ninguna manera, pertinente para la presente invención.

Respecto al argumento del señor examinador en cuanto a que D1 y D2 son considerados como los documentos más cercanos porque se refieren a un método para obtener compuestos de alto valor añadido a partir de las hojas de olivo, atentamente nos permitimos decir que la similitud a la

reivindicación 1 de la presente solicitud es vista por el Examinador en la formulación de una extracción a contracorriente con el CO₂ supercrítico y la recolección de dos fracciones.

En ese orden de ideas, primero, la extracción a contracorriente con el CO₂ supercrítico para enriquecer compuestos de alto valor añadido es bien conocida en la literatura, mucho antes que la presentación de la patente citada fuera hecha.

La diferencia con la reivindicación 1 de la presente invención es clara: se está reclamando una separación a contracorriente para una alimentación específica. La alimentación de la reivindicación 1 es aceite de palma, lo cual es totalmente diferente al extracto de hojas de olivo.

La separación a contracorriente de la presente reivindicación es específica puesto que comprende dos separaciones subsecuentes. La primera es para remover los subproductos volátiles, y luego la segunda para remover los compuestos objetivo en la parte superior. Esta técnica de dos etapas es totalmente diferente a una separación de una sola etapa, puesto que la separación de dos etapas proporciona una mezcla de los compuestos objetivo, esencialmente libres de otros subproductos diferentes. Una separación de una etapa resulta en dos fracciones y cada una de ellas contiene subproductos, uno de los cuales es de alta volatilidad, la otra es de una volatilidad baja.

Segundo, la patente D2 se refiere a un paso de adsorción-desorción. La patente D2 es muy diferente de la materia objeto de la reivindicación 1 y las reivindicaciones siguientes. En efecto, la patente D2 se refiere a una técnica de separación cromatográfica. Una separación cromatográfica también involucra mayormente un adsorbente y un medio de desorción, pero la diferencia en principio es que las técnicas cromatográficas son multi-etapas. Es la característica de cromatografía que la separación tome lugar en una repetición de etapas de adsorción y desorción. El número de etapas es de al menos aproximadamente 100 y puede ir hasta 10,000. Además, las separaciones cromatográficas son llevadas a cabo a concentraciones muy bajas o a proporciones muy altas de solvente a alimentación.

En claro contraste, el proceso de acuerdo con la reivindicación 1 de la presente invención como ahora se modificó, se lleva a cabo en un proceso de una sola etapa, que comprende una etapa de adsorción y

subsecuentemente una etapa de desorción. El efecto es sorprendente. La concentración es mucho más alta, resultando en un rendimiento específico de al menos 1,500 veces más alto que la de una técnica cromatográfica.

Además, las etapas de separación a contracorriente y las subsecuentes adsorción y desorción, no pueden ser llevadas a cabo sólo por combinación de dos técnicas. Es absolutamente necesario para introducir directamente el producto que se remueve de la segunda separación a contracorriente a la etapa de adsorción. El producto debe contener el solvente supercrítico con el fin que la viscosidad sea reducida y el producto pueda ser transferido al adsorbente. Los solventes líquidos, como se divulgan en el documento D2, no pueden alcanzar esta tarea, puesto que su viscosidad y su tensión superficial son altas y de esta forma no permiten acceder a los poros finos del adsorbente que son necesarios para la separación de adsorción-desorción.

Aunado a lo anterior, la patente D2 ignora tales dificultades, debido al hecho que con las técnicas cromatográficas la concentración es tan baja que estos efectos son bajos.

Así las cosas, la presente invención como se reclama actualmente no es obvia a la luz de los documentos citados D1 y D2.

En este sentido, es deseo del solicitante poner en consideración del señor examinador la Declaración del Inventor principal: el Profesor Gerd Brunner, la cual habla sobre la novedad y actividad inventiva de la presente invención. (Anexo 2)

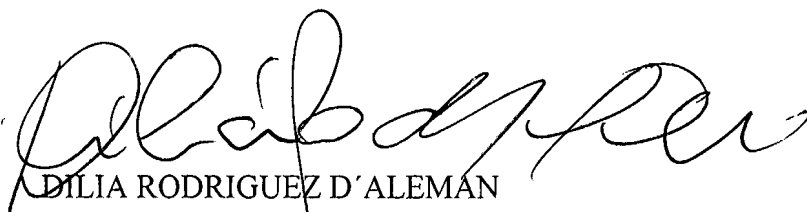
Finalmente, es deseo del solicitante informar a ese despacho que la presente invención se ha otorgado en países como Ghana, Nigeria, Camerún, Singapore, Malasia e Indonesia. En Estados Unidos y Europa se ha otorgado también con los números de patentes US 8,048,462 B2 (anexo 3) y EP 1 818 388 B1 respectivamente. Se adjuntan archivos de dichas patentes.

Habiendo atendido cabalmente las objeciones presentadas por ese despacho, atentamente solicitamos se conceda el privilegio de patente de invención a la solicitud en estudio o si el señor examinador considera que subsisten razones para objetar la presente invención, rogamos expedir otro examen de fondo con los debidos motivos y razones que sustenten su objeción con el fin de que nuestro mandante tenga la posibilidad de

exponer sus argumentos con base en la interpretación de los artículos 45 de la Decisión 486 -el cual otorga la facultad al examinador para emitir los exámenes de fondo-, 35 y 59 del Código Contencioso Administrativo que señala que: *"habiéndose dado oportunidad a los interesados para expresar sus opiniones, y con base en las pruebas e informes disponibles, se tomará la decisión que será motivada al menos en forma sumaria si afecta a particulares"* y *"(..) deberá proferirse la decisión definitiva. Esta se motivará en sus aspectos de hecho y de derecho, y en los de conveniencia si es el caso"*, respectivamente (El subrayado es nuestro).

En consecuencia, solicitamos a ese despacho pronunciarse en relación con todos los argumentos presentados en este memorial dando estricta aplicación al principio del debido proceso consagrado en el artículo 29 de la Constitución Nacional.

Señor Superintendente,



DILIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

C.C. 41.654.882 de Bogotá

T.P. 20824 del C.S.J.

mc

notificaciones@clarkemodet.com.co

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la producción de fracciones altamente enriquecidas de compuestos blanco, es decir tocotrienoles, carotenoides, y esteroides a partir de aceite de palma con un primer paso de separación que comprende la separación de etapas múltiples a contracorriente con fluidos supercríticos y/o casi críticos que eliminan los volátiles superiores en la parte superior, proporcionando una fracción del fondo enriquecida en los compuestos blanco y otra separación de etapas múltiples a contracorriente con fluidos supercríticos y/o casi críticos que eliminan los compuestos naturales blanco en la parte superior, limpiándolos así de las impurezas volátiles inferiores, y caracterizado porque un segundo paso que comprende la adsorción y desorción selectiva al adsorber directamente la fracción de la separación a contracorriente que contiene el fluido supercrítico o casi crítico en un adsorbente, y posteriormente eluir la mezcla del adsorbente mediante el mismo u otro fluido supercrítico o casi crítico y recolectar las diferentes fracciones.

2. Un proceso para la producción de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado por la utilización de dióxido de carbono supercrítico y/o propano casi crítico a condiciones
5 de operación para la temperatura de 313 hasta 383 K, de preferencia entre 323 y 363 K, y presiones de 5 hasta 45 MPa, de preferencia entre 10 y 30 MPa, una proporción de solvente a alimentación de 1 hasta 500, de preferencia entre 50 y 300, utilizando un
10 reflujo de extracto en la parte superior de la columna en el intervalo de 0.1 hasta 50, de preferencia entre 2 y 20.

3. Un proceso para la producción de
15 conformidad con la reivindicación 1, caracterizado por un segundo paso que comprende la adsorción y desorción selectivas al adsorber directamente la fracción de la separación a contracorriente que contiene el dióxido de carbono y/o propano en fluido
20 supercrítico o casi crítico, a la misma presión y temperatura o a densidad reducida, en un adsorbente, gel de sílice, de preferencia un gel de sílice de nombre comercial Zeofree, en una proporción de 4

8

hasta 10, de tal forma que se cargue sólo alguna parte del adsorbente con el material de alimentación entrante, y en donde la desorción, en forma de elución o extracción, se lleva a cabo con el mismo u
5 otro fluido supercrítico o casi crítico en uno o más pasos, de preferencia en dos pasos a presión, en donde en un primer paso de elución, a presión inferior en el intervalo de 12 hasta 15 MPa, los compuestos volátiles superiores que aún permanecen
10 en la mezcla adsorbida serán eliminados, y en una segunda elución posterior, a una presión mejorada en el intervalo de 22 hasta 35 MPa, de preferencia 25 MPa, a temperaturas entre 313 y 373 K se extraen los compuestos volátiles inferiores, y en donde un
15 tercer paso de elución comprende el uso de propano casi crítico a condiciones de 3 hasta 10 MPa, de preferencia 5 hasta 7 MPa.

4. Un proceso para la producción de
20 conformidad con las reivindicaciones 1 hasta 3, caracterizado porque es para fracciones de tococromanol.

P-1292
Rvs modificadas
Septiembre 17, 2012

5. Un proceso para la producción de conformidad con las reivindicaciones 1 hasta 3, caracterizado porque es para fracciones de carotenoides.

5

6. Un proceso para la producción de conformidad con las reivindicaciones 1 hasta 3, caracterizado porque es para fracciones de esterol.

10

7. Un proceso para la producción de conformidad con las reivindicaciones 1 hasta 3, caracterizado porque es para la coenzima Q10.

ANEXO 1

Correspondiente patente concedida en Europa EP 1 818 388 B1.

PROCESO PARA LA PRODUCCIÓN DE FRACCIONES ALTAMENTE
ENRIQUECIDAS DE COMPUESTOS NATURALES PROVENIENTES
DE
ACEITE DE PALMA CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS Y CASI
5 CRÍTICOS

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con un proceso
10 para la producción de fracciones enriquecidas de compuestos
blanco, es decir tocotrienoles, carotenoides, y esteroides
de aceite de palma de acuerdo al preámbulo de la
reivindicación 1.

Tal proceso es conocido a partir de Jungfer, M.:
15 "Gegenstromtrennung von schwerflüchtigen Naturstoffen mit
überkritischen Gasen unter Verwendung von Schleppmitteln,
Oh. D. Thesis" 2000, Hamburg University of Technology,
Hamburg, Germany, XP002392988, and Gast, K., Jungfer, M.,
Saure, C., and Brunner, G.: "Purification of tocopherols
20 from edible oil" Journal of Supercritical Fluids, Vol. 324,
2005, XP002392985 USPRE PRESS, and DE 196 38 459 A1 (Peter,
Siegfried, Prof. Dr., 91080 Uttenreuth, DE) 26 de marzo de
1998.

A partir del aceite de palma se pueden derivar
25 compuestos valiosos como los tococromanos, carotenoides,

fitoesteroles, y otros. El enriquecimiento a fracciones altamente concentradas se obstaculiza por el inmenso número de componentes implicados, la muy baja volatilidad, la muy baja solubilidad de muchos de los compuestos en solventes orgánicos, y la alta viscosidad de las mezclas que serán procesadas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Como un ejemplo para la producción de fracciones pre-concentradas, se puede llevar a cabo el proceso Carotech (Figura 1). Caromin^{MR}, es un derivado enriquecido con carotenoides de aceite de palma crudo, que contiene aproximadamente 10% de carotenoides. El proceso integrado para la extracción de carotenoides y tocotrienoles (vitamina E) se lleva a cabo de acuerdo con la patente de los Estados Unidos No. 5,157,142 y se resume en la Figura 1. Esto implica la transesterificación de aceite de palma crudo (CPO, por sus siglas en inglés) a ésteres de metilo (FAME, por sus siglas en inglés), seguida por destilación al vacío y otros pasos, dando por resultado en una capa rica en carotenos y una capa rica en tocotrienoles. La capa rica en carotenoles, así como también la capa rica en tocotrienoles, se concentran adicionalmente para producir productos altamente concentrados de un contenido máximo de 30% para carotenoides, y un contenido máximo de

aproximadamente 50% para tococromanoles; en su mayor parte tocotrienoles. El enriquecimiento adicional con métodos convencionales probó no ser posible debido a la alta viscosidad, muy baja volatilidad, y baja solubilidad en solventes orgánicos convencionales. Aunque se han llevado a cabo varias investigaciones sobre diversas mezclas, en su mayor parte tocoferoles, con fluidos supercríticos, ningún proceso fue capaz de producir fracciones a altas concentraciones tanto para los tococromanoles como los carotenoides provenientes de aceite de palma crudo u otras fuentes naturales.

Jungfer, véase arriba, utiliza separación a contracorriente sin aplicar un adsorbente, para

- Remover metilésteres de ácidos grasos a partir de compuestos blanco de muy baja concentración con una concentración que comienza en el intervalo de 0.1% en peso,

- procesar mezclas de bajo contenido de compuestos blanco, mucho menores a 10% en peso.

No es posible usar tal procesamiento para mezclas de contenido más alto de 10% en peso de compuestos blanco

- debido a la alta viscosidad,
- debido a la baja solubilidad en la forma gaseosa (o líquida) de dióxido de carbono, aún a altas presiones alrededor de hasta 300 bar),
- debido a la muy baja selectividad para los

compuestos blanco si se utiliza propano, i.e. las diferencias en las concentraciones entre los compuestos blanco es despreciable (en base libre del gas),

- debido al hecho que las mezclas de gases no combinan ambos efectos en una manera favorable.

Jungfer aplica la separación a contracorriente al aceite de palma sin modificar (CPO) que no conduce al aumento sustancial de la concentración de los compuestos blanco. Lo mismo se observó cuando se mezcló CPO con ésteres de ácidos grasos, los cuales se pretendía actuaran como modificantes.

Jungfer describe la purificación adsortiva de tocoferol (pp. 74-75), la cual se relaciona a la purificación del tocoferol sintético bruto, como se describe en la página 16, donde una composición de la mezcla está listada.

Este trabajo tiene una tarea totalmente diferente para el proceso propuesto, y tiene diferentes características, las cuales son:

- Los tocoferoles crudos son rápidamente enriquecidos (aproximadamente 94%),
- El número de compuestos contaminantes es pequeño,
- El carácter de los compuestos contaminantes es diferente del de tocoferol,

- El tocoferol sintético es líquido a temperatura ambiente.

Carotenos: que imparten el color naranja-rojo distintivo al aceite de palma, junto con los tocoferoles contribuyen a la estabilidad y valor alimenticio del aceite. A un grado mayor, éstos y otros constituyentes menores determinan las características de calidad del aceite de palma. Los carotenoides con frecuencia se recuperan de grasa natural o aceite, en particular del aceite de palma. Los carotenoides se pueden extraer de los residuo de destilación sin saponificar. Los mismos también se pueden extraer al emplear un adsorbente en alguna etapa del proceso. Durante la extracción, son necesarias grandes cantidades de solventes orgánicos. Los procesos adsortivos hasta la fecha no han conducido a fracciones de caroteno bastante concentradas a partir de fuentes naturales. Las razones son las concentraciones bajas iniciales, la alta viscosidad de las fracciones de caroteno, y la inestabilidad de los carotenos en la mayoría de los adsorbentes. Se han realizado muchos intentos por diseñar un proceso para la producción de fracciones concentradas mayores de carotenos.

Carotenoides: son los pigmentos más difundidos e importantes en organismos vivos. La mayoría de carotenos ampliamente conocidos son los α -, β - y γ -carotenos, y

licopenos. Junto con su color, los carotenoides, en especial β -carotenos, es bien conocido que poseen actividad pro-vitamina A y se pueden transformar en vitamina A *in vitro*. Se ha encontrado que también inhiben las propiedades anti-cáncer debido a su capacidad para desactivar oxi-radicales. Ya que los carotenos son compuestos naturales con propiedad de vitamina A, los mismos desempeñan una función positiva en aplicaciones comerciales para síntesis de productos farmacéuticos y nutricionales. [1, 2].

Los carotenoides se encuentran en muchos aceites vegetales, entre los que se incluyen aceite de nuez molida, aceite de colza, aceite de semilla de girasol y aceite de semilla de algodón. La concentración de carotenoides en estos aceites en general es baja, menor a 100 ppm. Entre éstos, el aceite de palma es la fuente vegetal natural más rica de caroteno en los términos de equivalente de retinol, con Malasia que contribuye al mayor porcentaje de producción de aceite de palma en el mundo. El aceite de palma contiene la mayor concentración conocida de carotenoides, que varía de 500 hasta 3000 ppm, dependiendo de la especie de la fruta de palma de la cual se obtiene el aceite. [1, 2] La concentración de carotenos en el aceite de palma crudo proveniente de Malasia varía entre 500 hasta 700 ppm, con α - y β -caroteno de hasta 90% de los carotenos

totales. [3].

Hoy en día, los carotenos encontrados en el mercado son β -caroteno o caroteno sintético químicamente extraído de las algas *Dunaliella*. Ya que es más probable
5 que los carotenoides crezcan en importancia y valor, se torna importante la recuperación de carotenoides a partir del aceite de palma y sus subproductos. A través de los años se han desarrollado diversos métodos de extracción para la recuperación de carotenos a partir de aceite de
10 palma entre los que se incluyen saponificación, procesamiento de urea, extracción con solventes selectivos, destilación molecular, separación mediante adsorción, cristalización, y transesterificación seguida por destilación de ésteres. [1, 4, 5].

15 **Tococromanoles:** las vitaminas son sustancias importantes para la salud humana. Las mismas regulan diversos procesos en el cuerpo y tienen efectos positivos en muchas funciones vitales. En términos generales, las vitaminas actúan como co-enzimas o pro-hormonas mientras
20 que la mayoría de sus otras funciones como efectos anti-carcinógenos o antioxidantes todavía están en investigación. La mayoría de las vitaminas no se pueden sintetizar por el cuerpo humano y por lo tanto estos nutrientes se deben ingerir con los alimentos. Debido a
25 que las vitaminas varían en su estructura y sus funciones,

un primer acercamiento es categorizarlas en grupos solubles en agua y solubles en aceite. Las vitaminas solubles en agua se distribuyen dentro de todo el cuerpo y por lo tanto hacen efecto en casi todos los órganos, mientras que las
5 vitaminas solubles en aceite están principalmente presentes en las membranas. El transporte en la corriente sanguínea y la digestión de estas vitaminas sólo se puede realizar si están presentes una cantidad suficiente de lípidos oleosos y micelas.

10 Vitamina E, es el término genérico para ocho sustancias del grupo de tococromanoles que posee una actividad de vitamina E. Los tococromanoles se pueden subdividir en dos grupos: los tococromanoles y los
15 tocotrienoles: con los tocotrienoles que posee tres dobles enlaces insaturados en su cadena de hidrocarburos y los tocoferoles que poseen una cadena de hidrocarburos totalmente insaturados. Los subgrupos tanto de tocoferol como de trienol consisten en cuatro homólogo, designados como α -, β -, δ -, y γ -tocoferol (-trienol), dependiendo de
20 los sustitutos de su anillo de cromano. Los tococromanoles son antioxidantes solubles en aceite que se encuentran principalmente en la membrana celular de órganos, γ -tocoferol tiene la mayor actividad antioxidante y por lo tanto se utiliza principalmente como antioxidante en la
25 industria de alimentos y cosmética. No obstante, estudios

19

recientes reportan funciones adicionales de los otros homólogos de tococromanol similares a propiedades anticarcinógenas anti-tumorales.

Como consecuencia, está aumentando cada vez más la demanda de mezclas de tococromanol natural que consisten de todos los homólogos. Los frutos de la palma oleosa de Malasia poseen el mayor contenido de tococromanoles en el mundo. El aceite de palma crudo (CPO) consiste de 94% en peso de triglicéridos, 3-4% en peso de ácidos grasos libres (FFA, por sus siglas en inglés), y sólo 1% en peso del CPO consiste de tococromanoles, carotinoides y fitonutrientes. El aceite de palma está disponible en grandes cantidades y a un precio comparativamente bajo. Es la mayor fuente de tocotrienoles. Los tocotrienoles se pueden recuperar de las fracciones destiladas obtenidas durante la refinación y desodorización del aceite de palma crudo. Los carotenoides se destruyen durante este proceso. Por lo tanto es razonable tratar de recuperar ambos grupos de compuestos en una secuencia de proceso. La forma más económica podría ser adsorber estos compuestos del aceite de palma crudo en un adsorbente adecuado y retirar los compuestos posteriormente del adsorbente. Se han realizado muchos intentos. Hasta la fecha no se ha tenido éxito. Por lo tanto, la necesidad de otro procedimiento conduce a la transesterificación de triglicéridos del aceite de palma a

metilésteres de ácido graso y su retiro mediante destilación al vacío. El proceso adicional para generar mayores fracciones concentradas se limita por las propiedades mencionadas de las mezclas. Son evidentes las
5 necesidades para un proceso diferente.

Aquí, la extracción de fluidos supercríticos (SFE, por sus siglas en inglés) es una alternativa a la extracción convencional con solventes orgánicos. La SFE, es capaz de proporcionar en un extracto libre de solventes
10 y debido a su baja temperatura crítica se puede utilizar para el tratamiento de sustancias sensibles a la temperatura similares a vitaminas. Los fluidos supercríticos pueden disolver los componentes menos volátiles y transportarlos a través de cualquier proceso
15 vía la fase gaseosa. Además, soluciones líquidas bastante viscosas disuelven una gran cantidad de fluidos supercríticos, en particular dióxido de carbono y propano, con el efecto de una viscosidad bastante reducida. Entonces, incluso las soluciones líquidas se pueden
20 manipular en un proceso.

Aunque estos hechos cada uno así mismo se ha conocido por algún tiempo, no se han reconocido los efectos sorprendentes de un enriquecimiento adicional de los tococromanoles y los carotenoides al aplicar combinaciones
25 adecuadas de separación SFE a contracorriente y adsorciones

SFE con la posterior desorción SFE selectiva. El estado de la técnica alcanzado hasta la fecha se revisa en lo siguiente.

5 **Tococromanoles:**

En estos días está aumentando la búsqueda hecha sobre la extracción de materiales naturales con dióxido de carbono supercrítico. Los parámetros críticos del dióxido de carbono son 7.4MPa y 31.06°C (304.21 K) [6]. Debido a estos parámetros críticos bajos, la utilización de dióxido de carbono supercrítico está dando por resultado en bajos costos de operación y debido a la temperatura crítica baja incluso se pueden extraer materiales sensibles a la temperatura. Contrario al solvente orgánico, el dióxido de carbono no es tóxico, no inflamable, e inerte. Además, el dióxido de carbono está disponible fácilmente y se puede eliminar completamente del producto deseado sin residuos. La solubilidad del dióxido de carbono se puede ajustar mediante la densidad, por lo tanto, se puede ajustar al material de alimentación. Estas son las razones para la inmensa cantidad de trabajo de investigación en el campo de la extracción de dióxido de carbono supercrítico. Ill'es et al. [7] y Gnayfeed et al. [8] por ejemplo, estuvieron investigando la extracción de aceite de pimienta roja y pimienta con CO₂ supercrítico y propano subcrítico con

10
15
20
25

respecto al contenido de tocoferol y carotina. Se encontró que la solubilidad del dióxido de carbono supercrítico no fue suficiente para disolver la carotina. La solubilidad de los tocoferoles en ambos solventes fue buena, y fue posible disolver los tocoferoles tanto en CO₂ como en propano. Nagesha et al. [9] y Shishikura et al. [10] han investigado el enriquecimiento de tocoferoles a partir de destilado de desodorizante de soya mediante la extracción de fluidos supercríticos. Además, se ha realizado la investigación sobre el enriquecimiento de escualeno a partir de un intermediario de la producción de aceite de oliva (Dreschner et al. [11]) y el enriquecimiento de tocoferolacetato y tocoferol (Fleck [12]).

El ajuste de la solubilidad del dióxido de carbono supercrítico a través de la densidad proporciona la extracción supercrítica y alta flexibilidad. Aunque debido a la falta de polaridad del dióxido de carbono, se limita la solubilidad para sustancias polares. Una posibilidad para aumentar la solubilidad es agregar un modificador al dióxido de carbono supercrítico. Los modificadores comunes son iso-propanol, etanol y propano. No se debe olvidar que un aumento de solubilidad con modificadores con frecuencia está acompañado de una disminución en la selectividad. De esta forma, estudios recientes se enfocan sobre un proceso de adsorción adicional antes de la extracción supercrítica.

Debido a la adsorción adicional, se puede aumentar la selectividad del proceso, ya que el adsorbente tiene una afinidad diferente a los componentes diferentes. El resultado es que los componentes se adsorben y desorben a un grado diferente. Wang et al. [13] investigaron la separación de α -tocoferol y escualeno utilizando una técnica de adsorción oscilante a presión con dióxido de carbono supercrítico como solvente. En la primera etapa del proceso, la alimentación se mezcla con CO₂ supercrítico y entra a una columna rellena con gel de sílice a baja presión, donde la alimentación se adsorbe sobre el gel de sílice. En la segunda etapa, el adsorbente se desorbe del gel de sílice con dióxido de carbono supercrítico puro bajo alta presión. Durante estos experimentos, Wang et al. fueron capaces de enriquecer α -tocoferol de un 20% en peso alimentado hasta 60% en peso y escualeno de 80% en peso hasta 98% en peso. El trabajo teórico sobre adsorción y desorción en dióxido de carbono supercrítico se ha realizado por Reverchon et al. [14] y Goto et al. [15]. El grupo de investigación de Reverchon utilizó una isoterma de adsorción de múltiples componentes similar a Langmuir para describir el comportamiento de adsorción de una mezcla de terpeno complejo bajo condiciones supercríticas, mientras que el grupo de investigación de Goto utilizó la isoterma de adsorción BET para realizar su simulación. Ambos

trabajos conducen a modelos matemáticos que son capaces de simular datos experimentales con alta exactitud.

Lee et al., [16] publicaron un trabajo sobre la cinética de adsorción de fosfolípidos a partir de aceite de soya tratado sobre arcilla regenerada. El grupo de investigación de Lee, utilizó una ecuación cinética de reacción para describir el proceso de adsorción al medir la concentración antes y después de la adsorción. Este fue un procedimiento totalmente diferente, ya que no se utilizó isothermas de adsorción en la totalidad para describir el sistema. No obstante el grupo de investigación de Lee fue capaz de derivar una ecuación de reacción que es capaz de predecir los datos experimentales. La regeneración de arcilla modificada con dióxido de carbono supercrítico se investigó por Cavalcante et al. [17] y Carneiro et al. [18]. La arcilla modificada es un adsorbente importante en la tecnología ambiental, ya que su capacidad para adsorber sustancias orgánicas es muy importante en el campo del tratamiento de aguas. Por lo tanto, la regeneración de la arcilla es un problema económico importante para la eficacia económica del proceso. Zetzl [19] aborda la separación de sabores de aceite de limón al aplicar una adsorción selectiva sobre gel de sílice seguida por una desorción bajo dióxido de carbono supercrítico. La curva de desorción de limonen y citral se investigó y se

introdujo un modelo que describió los datos experimentales con una gran exactitud.

Una patente para la técnica de separación de adsorción selectiva seguida por una desorción con CO₂ supercrítico se presentó para separar terpenos de aceites esenciales. La patente europea EP 0363971 A2 [20] describe este proceso. El aceite se mezcla al agitar a una temperatura constante con el adsorbente y luego se extrae con CO₂ supercrítico. Esto es posible debido a la baja viscosidad del aceite tratado.

Carotenoides:

La patente japonesa JP200226723 [21] presenta un método para el enriquecimiento de carotenos a partir de aceite de palma. El aceite de palma primero se transesterifica. El éster luego se extrae con un solvente hidrofílico tal como metanol para separarlo en una fase de éster concentrado. Este concentrado luego se aplica a una columna empacada con gel de sílice para adsorción de caroteno. El caroteno luego se desorbe utilizando hexano que contiene aproximadamente 4000 ppm de acetona.

La concentración adsortiva del concentrado rico en carotenos también se empleó en la patente de los Estados Unidos No. 6072092 [22], donde se utilizó gel de sílice como adsorbente y se utilizó una gran cantidad de solvente

no polar para recuperar los carotenos.

La patente europea EP0242148 [23] describe un método similar utilizando gel de sílice o alúmina activada como adsorbente y un solvente no polar que contiene ciertas cantidades de solventes polares como eluyente para el enriquecimiento de carotenos.

La patente japonés JP63132871 [24] describe un proceso para el enriquecimiento de carotenos al aplicar zeolita como adsorbente y un solvente no polar, tal como tetracloruro de carbono como eluyente.

La patente de los Estados Unidos No. 5157132 [25] describe un proceso para recuperar carotenos a partir del aceite a través de la transesterificación y saponificación. El caroteno enriquecido se puede extraer del residuo saponificado con un solvente orgánico. El residuo obtenido tiene un contenido de carotenos del 20%. La patente europea EP1398311 [26] describe un proceso similar. Se puede obtener del 10% hasta 20% de concentrado de carotenos.

La patente alemana DE 4429506 [27] presenta la extracción de carotenoides a partir del material seco con propano o butano. Se encontró que la solubilidad de ambos gases se puede mejorar en gran medida cuando se utiliza un co-solvente.

Estas patentes requieren solventes orgánicos en

una gran cantidad como eluyente y la recuperación de los solventes mediante destilación para obtener el concentrado de carotenoides. En el proceso novedoso sólo se utilizan propano y CO₂ supercrítico como solvente a bajas 5 temperaturas para obtener el concentrado. Estos solventes se pueden eliminar fácilmente mediante expansión.

SUMARIO DE LA INVENCION

La mayoría de las técnicas descritas en la 10 literatura que utilizan dióxido de carbono supercrítico u otros gases comprimidos para el enriquecimiento tanto de fitoesteroles como tococromanoles a partir de aceite comestible, inician a partir de muy bajas concentraciones de los componentes tratados aquí. Por lo tanto, el enfoque 15 principal de estos trabajos depende de la evacuación del aceite de las sustancias similares a triglicéridos o FAME, debido a que estas son las sustancias más prominentes cuando se relacionan con aceite crudo o esterificado, respectivamente. Adicionalmente, la mayoría de los 20 procesos descritos se operan por lotes. De esta forma, el procedimiento descrito aquí, inician a partir de un derivado de aceite de palma ya enriquecido y al emplear una combinación de una columna de extracción operada continuamente con una operación de adsorción/desorción por 25 un lado y una extracción posterior todavía no se ha

aplicado.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Muestra un proceso para la producción
5 de fracciones concentradas de carotenoides y tocotrienoles
mezclados (patente de los Estados Unidos No. 5,157,142).

Figura 2. Hoja de flujo del proceso para
concentrar tococromanoles y carotenoides mediante
tecnología SFE.

10

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Generalmente, los compuestos de vitamina del
grupo de tococromanoles y carotenoides se enriquecen a
partir de mezclas derivadas de aceites naturales en el
15 proceso descrito más adelante. Estas mezclas contienen
metilésteres de ácido graso o etilésteres de ácido graso,
escualeno, monoglicéridos, diglicéridos, esteroides, y los
compuestos blanco.

Con dióxido de carbono supercrítico como
20 solvente, en una primera secuencia de separación (Figura 2,
columnas C1 y C2), a partir de los tococromanoles o los
carotenoides se eliminaron los compuestos más soluble en
dióxido de carbono supercrítico que los compuestos blanco
en la parte superior de una columna de separación operada a
25 contracorriente, y los compuestos menos solubles en el

fondo. Este proceso conduce a la concentración de los tococromanoles de aproximadamente 70% en peso, y de los carotenoides de aproximadamente 30% en peso. Los detalles de esta separación se proporcionan más adelante.

5 En una segunda secuencia, siguiendo directamente el proceso a contracorriente, las mezclas se procesan mediante pasos de adsorción y desorción selectiva (Figura 2, adsorbentes A1, A2, A3). La adsorción se lleva a cabo a partir del flujo másico tomado de la separación a
10 contracorriente que comprende un fluido supercrítico o casi crítico y los compuestos blanco, y se deposita directamente sobre el adsorbente. De esta forma, se hace posible la manipulación de la solución bastante viscosa o solución sólida. Posteriormente, la desorción se lleva a cabo a
15 partir del lecho fijo cargado con la mezcla de alimentación. La desorción se puede llevar a cabo con el mismo fluido supercrítico o casi crítico, o uno diferente, o una en una secuencia de dos o más de estos solventes. La desorción también se lleva a cabo a diferentes condiciones
20 en comparación con la adsorción, es decir, diferentes valores de presión, temperatura, magnitud de flujo del gas. Los solventes supercríticos o casi críticos pueden comprender mezclas de fluidos supercríticos o casi críticos, de preferencia de dióxido de carbono y propano.

25 Se encontró que la separación mediante adsorción

y desorción se puede mejorar sin llenar el adsorbente total con la mezcla de alimentación, aunque sólo parte del mismo. Durante la desorción se puede llevar a cabo una secuencia de pasos de adsorción y desorción, lo cual aumenta la eficiencia de separación, y de esta forma las concentraciones de las fracciones separadas. La proporción de la primera sección adsorbida a la sección libre del lecho mezclado de adsorbente es variable, por lo general de 0.5 hasta 0.1.

10

Tococromanoles

El proceso novedoso para la producción de fracciones de tococromanol altamente enriquecido, que contienen en su mayoría tocotrienoles provenientes de mezclas derivadas de aceite de palma combina una separación de múltiples etapas a contracorriente continua utilizando un fluido supercrítico, de preferencia dióxido de carbono, para eliminar los volátiles ligeros (es decir, los compuestos más solubles en el compuesto supercrítico, dióxido de carbono resp.) sobre la parte superior de la columna. Los fondos de la columna son una fracción enriquecida en tocotrienoles con un contenido relativamente alto de esteroides y otros compuestos algo polares. Esta fracción inferior se hace pasar sobre un adsorbente adecuado. Se encontró que el gel de sílice es un

25

adsorbente aplicable. La mezcla adsorbida se desorbe mediante un fluido supercrítico, de preferencia dióxido de carbono en dos pasos de desorción. El primero se lleva a cabo a una presión de aproximadamente 137.29 kg/cm^2 (140 bar) y elimina más volátiles o más compuestos solubles en dióxido de carbono supercrítico. En el segundo paso de desorción, llevado a cabo a aproximadamente 245.17 kg/cm^2 (250 bar), se extraen fracciones de tococromanol altamente enriquecidas, que contienen en su mayoría tocotrienoles. Las fracciones extraídas se pueden separar adicionalmente al recolectarlas en diferentes recipientes. Dependiendo del corte de las fracciones, la concentración de tocotrienoles está en la variación de 85 hasta casi 100% con un rendimiento de aproximadamente el 50% de la mezcla de alimentación. El adsorbente se regenera con solventes líquidos similares a etanol etc. y se vuelven a utilizar para el paso de adsorción.

El proceso inicia con una fracción pre-enriquecida que se puede obtener mediante diversos métodos, una forma comprende la transesterificación de los gliceridos con metanol y la eliminación de los ésteres de ácido graso obtenidos mediante destilación de trayectoria corta o mediante extracción con fluidos supercríticos, similares a dióxido de carbono. Por ejemplo, el material de partida para el primer paso de extracción fue un

derivado de aceite de palma que entre otras sustancias
contuvo 56% en peso de tococromanoles (con γ -tocotrienol,
 α -tocotrienol, y α -tocoferol que son los componentes
principales), 16% en peso de esqualeno, 5% en peso de
5 fitoesteroles (con β -citosterol y campesterol que son la
especies más prominentes), y 11% en peso de mono- y
diglicéridos. Este material se alimentó en una columna de
extracción operada continuamente, empleando dióxido de
carbono supercrítico como solvente. La columna se empacó
10 con un empacador Sulzer EX estructurado y tuvo un diámetro
interno de 17.5 mm y una altura total de 7 m, del cual se
empacaron 6 m. Al emplear presiones de 20-30 MPa y
temperaturas de 49.86 hasta 84.85°C (323 hasta 358 K), fue
posible producir un producto superior libre de esterol y
15 tococromanol, extrayendo específicamente FAME, esqualeno, y
monoglicéridos, obteniendo así un producto en el fondo
enriquecido a aproximadamente 70% de tococromanoles con
fitoesteroles y otros compuestos probablemente más polares
que comprenden el resto.

20 Una columna más larga podría haber vaciado
completamente la fase inferior de los componentes volátiles
superiores. Con métodos de diseño químico, se calculó la
altura necesaria para la separación completa de FAME,
esqualeno, y monoglicéridos a partir de tococromanoles,
25 esteroides, y otros componentes volátiles inferiores. Los

resultados son que es posible una separación completa de estos componentes con 13 etapas de separación teórica, correspondientes a una altura de la columna de aproximadamente 15 m, una proporción de solvente a alimentación de 80 hasta 140, con una proporción de reflujo de 6 hasta 12, a una temperatura de 49.85°C (323 K), y una presión de 20-25 MPa.

Teóricamente, debe ser posible el enriquecimiento adicional de tocotrienoles al emplear otra separación a contracorriente utilizando un fluido supercrítico. Investigaciones experimentales revelaron que la solubilidad del producto en el fondo enriquecido con tocotrienol en dióxido de carbono es muy baja para ser considerado como un solvente para un proceso de separación. Por lo tanto, se mezclaron modificadores con el fluido supercrítico básico, dióxido de carbono, para aumentar la solubilidad. Se investigaron las siguientes composiciones de solventes: CO₂ + propano con un contenido de propano de 29, 55, y 83%, así como también, CO₂ + solvente orgánico líquido, a saber etanol, iso-propanol, 1-butanol, y acetato de etilo, cada uno en una concentración de 5 y 10% en peso, respectivamente. Las mediciones se condujeron en una variación de presión de 5-30 MPa y a temperaturas de 49.85, 69.85, 84.85°C (323, 343, y 358 K), respectivamente, en el caso de experimentos con propano y a una presión fija de 20

MPa y a temperaturas de 49.85 y 69.85°C (323 y 343 K) en el caso de los modificadores líquidos. En todas las condiciones investigadas, la concentración de los compuestos volátiles inferiores se enriqueció en la fase gaseosa, aunque se redujo la selectividad con respecto a los tocotrienoles a tal grado que se disolvieron los esteroides en la fase gaseosa, haciendo imposible con esto enriquecer adicionalmente la concentración de tocotrienol.

Sorprendentemente se encontró que los factores de separación siguieron siendo altos, incluso aumentaron, si el material del fondo se mezcló con geles de sílice especiales y luego se desorbió o se extrajo de este adsorbente con dióxido de carbono supercrítico. El producto del fondo proveniente del paso primero de enriquecimiento se mezcló con ciertas cantidades de adsorbente (gel de sílice) en una proporción de 4 hasta 10. La mezcla se introdujo en una columna como lecho fijo. Luego, al aplicar un fluido supercrítico (dióxido de carbono) a una presión de aproximadamente 14 a una temperatura de aproximadamente 59.85°C (333 K), se desorbieron los componentes bastante volátiles restantes, tales como ésteres de ácido graso y escualeno. En un segundo paso de desorción (extracción), a aproximadamente la misma temperatura, aunque a una presión mayor de aproximadamente 25 MPa se desorbieron los tocotrienoles con

alta concentración. Con una proporción de adsorbente a alimentación de 10, una proporción de solvente de dióxido de carbono supercrítico de aproximadamente 300 [kgCO₂/kg de alimentación y hora], una fracción de 27% de la alimentación se obtuvo durante 1 hora con una concentración del 75% tocotrienoles, después de que la fracción, otra fracción de 25% de la alimentación con una concentración al 100% de tocotrienoles se podría recuperar en otra hora. Los experimentos con una mezcla de dióxido de carbono y propano mostraron que la solubilidad se podría mejorar mientras que se mantuvo la selectividad. Por lo tanto, la proporción de solventes puede ser inferior que con CO₂ puro.

15 Descripción de la invención: Carotenoides

Un concentrado de carotenoides (1 hasta 10% en peso) se alimentó en un dispositivo para extracción operado continuamente, construido como un mezclador-sedimentador a alta presión de cinco etapas. En tres secuencias de separación con este aparato, empleando presiones de 20-30 MPa y temperaturas de 49.85 hasta 84.85° (323 hasta 358 K), fue posible proporcionar un producto, que contuvo hasta 30% en peso de carotenoides. Este producto se hizo pasar a través del adsorbente, un gel de sílice especial, de preferencia Zeofree 5170, con lo cual la mezcla de

carotenoides, esteroides y otras sustancias, y los ésteres de ácido graso son adsorbieron. La proporción de mezclado está en la variación de 4 hasta 10. Posteriormente, el adsorbente cargado se puso en contacto primero con dióxido de carbono supercrítico, y luego con propano casi crítico a condiciones del estado, por ejemplo 5 MPa y 49.85°C (323 K), de preferencia en la variación de 2 hasta a 7 MPa y 39.85 hasta 69.85°C (313 hasta 343 K). Con dióxido de carbono, se desorbieron y eluyeron principalmente no carotenoides, y con propano casi crítico, se desorbieron los carotenoides. La proporción del solvente del propano a alimentación está en la variación de 20 hasta 100 de preferencia aproximadamente 30. Se mejoró la concentración de los carotenoides eluidos, si durante el paso de adsorción sólo se cargó con la alimentación una fracción del adsorbente.

Ejemplos: Tococromanoles

Ejemplo 1: Primer paso de extracción

Se condujo una extracción supercrítica de múltiples etapas operada continua con dióxido de carbono puro como solvente y una mezcla de alimentación que contuvo 50% en peso de tococromanoles (con γ -tocotrienol, α -tocotrienol, y α -tocoferol que son los componentes principales), 16% en peso de escualeno, 3% en peso de

fitoesteroles (con β -citosterol y campesterol que son las especies más prominentes), y 11% en peso de mono- y diglicéridos. La columna empleada tuvo una altura efectiva de 6 m y se empacó con un empacador Sulzer EX estructurado.

- 5 Las condiciones de operación fueron como sigue: 20 MPa, 49.85°C (323 K), proporción de solvente a alimentación = 19.8, proporción de reflujo = 7.3. Estas condiciones dieron por resultado en un producto en la fase superior que consistió de 2% en peso de FAME, 58% en peso de escualeno y
- 10 se vació completamente de tococromanoles y fitoesteroles. El producto en el fondo consistió de 8% en peso de escualeno, 58% en peso de tococromanoles, 4% en peso de fitoesteroles, y estuvo totalmente libre de FAME.

15 **Ejemplo 2: Primer paso de extracción**

- Se condujo una extracción supercrítica de múltiples etapas operada continua con dióxido de carbono puro como solvente y una mezcla de alimentación que contuvo 50% en peso de tococromanoles (con γ -tocotrienol, α -
- 20 tocotrienol, y α -tocoferol que fueron los componentes principales), 16% en peso de escualeno, 3% en peso de fitoesteroles (con β -citosterol y campesterol que son las especies más prominentes), y 11% en peso de mono- y diglicéridos. La columna empleada tuvo una altura efectiva
- 25 de 6 m y se empacó con un empacador Sulzer EX estructurado.

Las condiciones de operación fueron como sigue: 20 MPa, 69.85°C (343 K), proporción de solvente a alimentación = 40.3, proporción de reflujo = 1.3. Estas condiciones dieron por resultado en un producto en fase superior que consistió de 2% en peso de FAME, 60% en peso de escualeno, 2% en peso de tococromanoles, y 1% en peso de esteroides. El producto del fondo consistió de 7% en peso de escualeno, 54% en peso de tococromanoles, 4% en peso de fitoesteroides, y estuvo completamente libre de FAME.

10

Ejemplo 3: Producción de las fracciones concentradas de tocotrienoles-1

Se utilizó 1 g del producto del fondo obtenido del Ejemplo 1 como material de alimentación y se mezcló con 10 g de gel de sílice, Zeofree 5170. La mezcla se introdujo en un recipiente vacío y se utilizó CO₂ supercrítico para desorber FAME y escualeno a 13 MPa y 59.85°C (333 K) durante 120 minutos. La presión se aumentó a 25MPa y después de 60 minutos, recolectó una fracción (0.27 g) que contuvo 80% en peso de tococromanoles. La presión se mantuvo constante durante otros 60 minutos, se recolectó otra fracción (0.24 g). Esta fracción contuvo aproximadamente 100% de tococromanoles.

25

Ejemplo 4: Producción de fracciones concentradas de

tocotrienoles-2

Se utilizaron 2.4 g del producto del fondo
obtenido del Ejemplo 1 como material de alimentación y se
mezcló con 10 g de gel de sílice, Zeofree 5170. La mezcla
5 se introdujo en un recipiente vacío y se utilizó CO₂
supercríticos para desorber FAME y escualeno a 13 MPa y
59.85°C (333 K) durante 60 minutos. La presión se aumentó
a 19MPa y después de otros 120 minutos, se recolectó una
fracción (1.59 g). Esta contuvo 80% en peso de
10 tococromanoles.

Ejemplo 5: Carotenoides

El concentrado de carotenoides que contuvo
aproximadamente 10% en peso de carotenoides se hizo pasar
15 sobre el adsorbente en un tubo de alta presión con un
volumen interno de 50 ml. Se utilizó gel de sílice con un
área mínima superficial de 165m²/g como el adsorbente con
una proporción de 4:1 (12g:3g) a la cantidad de
alimentación. La extracción se llevó a cabo primero con
20 dióxido de carbono supercrítico a 152.96 kg/cm² (150 bar) y
60°C, y luego con dióxido de carbono supercríticos a 254.93
kg/cm² (250 bar) y 60°C. En el tercer paso, se utilizó
propano casi crítico a 7 MPa, 60°C. Las fracciones se
recolectaron. La última fracción consistió de
25 aproximadamente 60% de carotenoides.

40

Referencias:

1. Y.M. Choo: Palm Oil Carotenoids. The United Nations University Press, Food and Nutrition Bulletin, 15 (1994).
2. C. Lenfant, F.C. Thyron: Extraction of Carotenoids From Palm Oil, I. Physical and Chemical Properties of β -Carotene, Voir OCL 3,3 (1996) 220-226.
3. S.H. Goh, Y.M. Choo, S.H. Ong: Minor Constituents of Palm Oil, J. Am. Oil Chem. Soc. 62 (1985) 237-240.
4. B.S. Baharin, L.L. You, Y.B. Che Man, and S. Takagi: Effect of Degumming Process on Chromatographic Separation of Carotenes from Crude and Degummed Palm Oil, Journal of Food Lipids 8 (2001) 27-35.
5. C. Lenfant, F.C. Thyron, Extraction of Carotenoids From Palm Oil, II. Isolation Methods, Voir OCL 3,4 (1996) 294-307.
6. VDI:VDI Warneatlas. VDI Verlag GmbH (1988).
7. V. Ill'es, H.G. Daood, P.A. Biacs, M.H. Gnayfeed, B.M'esz' aros: Supercritical CO₂ and Subcritical Propane Extraction of Spice Red Pepper Oil with Special Regard to Carotenoid and Tocopherol Content. Journal of Chromatographic Science, Vol.37 (1999).
8. M.H. Gnayfeed, H.G. Daood, V. Ill'es, P.A. Biacs: Supercritical CO₂ and Subcritical Propane Extraction of Pungent Paprika and Quantification of Carotenoids, Tocopherols and Capsaicinoids. J. Agric. Food Chem. 49, 2761-2766 (2001).

9. G.K. Nagesha, B. Manohar, K. Udaya Sankar: Enrichment of tocopherols in modified soy de-odorizer distillate using supercritical carbon dioxide extraction. Eur. Food Res. Technol. 217:427-433 (2003).
- 5 10. A. Shishikura, K. Fujimoto, T. Kaneda, K. Arai, S. Saito: Concentration of Tocopherols from Soybean Sludge by Supercritical Fluid Extraction. J. Jpn. Oil Chem. Soc. 37, No. 1 (1988).
- 10 11. M. Dreschner, M. Bonakdar: Anreicherung des Kohlenwasserstoffes Squalen in einem Zwischenprodukt der Olivenölherstellung durch Extraktion mit verdichtetem Kohlendioxid. Chemie Ingenieur Technik 73, S. 338-342 (2001).
- 15 12. U. Fleck: Reinigung schwer flüchtiger Substanzen mittels Extraktion mit überkritischen Gasen. Dissertation, Technische Universität Hamburg-Harburg (2000).
13. H. Wang, M. Goto, M. Sasaki, T. Hirose: Separation of α -Tocopherol and Squalene by Pressure Swing Adsorption in Supercritical Carbon Dioxide. Ind. Eng. Chem. Res. 43, 2753-2758 (2004).
- 20 14. E. Reverchon, G. Lamberti, P. Subra: Modelling and simulation of the supercritical adsorption of complex terpene mixtures. Chemical Engineering Science 53, 3537-3544 (1998).
- 25 15. M. Goto, B.C. Roy, A. Kodama, T. Hirose: Modelling Supercritical Fluid Extraction Process Involving Solute-Solid Interaction. Journal of Chemical

Engineering of Japan 31, 111-111, (1998).

16. C.H. Lee, C.I. Lin: Kinetics of Adsorption of Phospholipids from Hydrated and Alkali-Refined Soy Oil Using Regenerated Clay. Journal of Chemical Engineering of Japan 37, 764-771 (2004).
17. A.M. Cavalcante, L.G. Torres, G.L.V. Coelho: Adsorption of Ethyl Acetate onto Modified Clays and its Regeneration with Supercritical CO₂. Brazilian Journal of Chemical Engineering, Vol.22, No. 1, 75-82 (2005).
18. D.G.P. Carneiro, M.F. Mendes, G.L.V. Coelho: Desorption of Toluene from Modified Clays using Supercritical Carbon Dioxide. Brazilian Journal of Chemical Engineering Vol. 21, No .4 , 641-646 (2004).
19. C. Zetzl: Desorption von Sauerstoffverbindungen des Zitrusöls durch überkritisches CO₂. Diplomarbeit, Institut für Thermische Verfahrenstechnik an der Universität Karlsruhe, (1994).
20. patente europea EP 0363971 A2
21. patente japonesa JP200226723
22. patente de los Estados Unidos No. 6072092,
23. patente europea EP0242148
24. patente japonesa JP63132871
25. patente de los Estados Unidos No. 5157132
26. patente europea EP1398311
27. patente alemana DE 4429506

NOVEDAD DE LA INVENCION

Habiendo descrito el presente invento, se considera como una novedad y, por lo tanto, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes

5

REIVINDICACIONES:

1. Un proceso para la producción de fracciones altamente enriquecidas de compuestos blanco, es decir tocotrienoles, carotenoides, y esteroides a partir de aceite de palma con un primer paso de separación que comprende la separación de etapas múltiples a contracorriente con fluidos supercríticos y/o casi críticos que eliminan los volátiles superiores en la parte superior, proporcionando una fracción del fondo enriquecida en los compuestos blanco y otra separación de etapas múltiples a contracorriente con fluidos supercríticos y/o casi críticos que eliminan los compuestos naturales blanco en la parte superior, limpiándolos así de las impurezas volátiles inferiores, y caracterizado porque un segundo paso que comprende la adsorción y desorción selectiva al adsorber directamente la fracción de la separación a contracorriente que contiene el fluido supercrítico o casi crítico en un adsorbente, y posteriormente eluir la mezcla del adsorbente mediante el mismo u otro fluido supercrítico o casi crítico y recolectar las diferentes fracciones.

25

2. Un proceso para la producción de conformidad

con la reivindicación 1, caracterizado por la utilización de dióxido de carbono supercrítico y/o propano casi crítico a condiciones de operación para la temperatura de 313 hasta 383 K, de preferencia entre 323 y 363 K, y presiones de 5 hasta 45 MPa, de preferencia entre 10 y 30 MPa, una proporción de solvente a alimentación de 1 hasta 500, de preferencia entre 50 y 300, utilizando un reflujo de extracto en la parte superior de la columna en el intervalo de 0.1 hasta 50, de preferencia entre 2 y 20.

10 3. Un proceso para la producción de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado por un segundo paso que comprende la adsorción y desorción selectivas al adsorber directamente la fracción de la separación a contracorriente que contiene el dióxido de carbono y/o
15 propano en fluido supercrítico o casi crítico, a la misma presión y temperatura o a densidad reducida, en un adsorbente, gel de sílice, de preferencia un gel de sílice de nombre comercial Zeofree, en una proporción de 4 hasta 10, de tal forma que se cargue sólo alguna parte del
20 adsorbente con el material de alimentación entrante, y en donde la desorción, en forma de elución o extracción, se lleva a cabo con el mismo u otro fluido supercrítico o casi crítico en uno o más pasos, de preferencia en dos pasos a presión, en donde en un primer paso de elución, a presión
25 inferior en el intervalo de 12 hasta 15 MPa, los compuestos

volátiles superiores que aún permanecen en la mezcla adsorbida serán eliminados, y en una segunda elución posterior, a una presión mejorada en el intervalo de 22 hasta 35 MPa, de preferencia 25 MPa, a temperaturas entre 313 y 373 K se extraen los compuestos volátiles inferiores, y en donde un tercer paso de elución comprende el uso de propano casi crítico a condiciones de 3 hasta 10 MPa, de preferencia 5 hasta 7 MPa.

4. Un proceso para la producción de conformidad con las reivindicaciones 1 hasta 3, caracterizado porque es para fracciones de tococromanol.

5. Un proceso para la producción de conformidad con las reivindicaciones 1 hasta 3, caracterizado porque es para fracciones de carotenoides.

6. Un proceso para la producción de conformidad con las reivindicaciones 1 hasta 3, caracterizado porque es para fracciones de esterol.

7. Un proceso para la producción de conformidad con las reivindicaciones 1 hasta 3, caracterizado porque es para la coenzima Q10.

RESUMEN DE LA INVENCION

A partir de aceite de palma se pueden derivar compuestos valiosos similares a tococromanoles, carotenoides, fitoesteroles, y otros. El enriquecimiento a fracciones altamente concentradas se obstaculiza por el inmenso número de componentes implicados, la muy baja volatilidad, la muy baja solubilidad de muchos de los compuestos en solventes orgánicos, y la alta viscosidad de las mezclas que serán procesadas. Los materiales de partida para el proceso novedoso son fracciones enriquecidas de tococromanoles (entre aproximadamente 20 hasta aproximadamente 50% en peso) y/o carotenoides (entre aproximadamente 10 hasta 30% en peso) de aceite de palma obtenido mediante procesos convencionales, o mediante procesos de etapas múltiples a contracorriente con dióxido de carbono supercrítico. Estos procesos, no consignados aquí, pueden comprender: la eliminación de ácidos grasos libres, la transesterificación de triglicéridos a ésteres de metilo o etilo, la eliminación de los ésteres, por ejemplo, mediante destilación de trayectoria corta, separación de la fracción de tococromanol a partir de la fracción de carotenoides mediante enfriamiento. En el proceso novedoso, las fracciones derivadas del aceite de palma crudo, ya enriquecido a algún grado en tococromanoles, carotenoides, fitoesteroles, y otros, se

tratará mediante tecnología de fluidos supercríticos en una combinación única de separación a contracorriente con adsorción y desorción selectiva utilizando fluidos supercríticos. Un primer enriquecimiento, que comprende uno o más pasos de separación mediante la aplicación de un fluido casi crítico o uno supercrítico en un proceso de separación de etapa individual o múltiple (contracorriente) se combina adecuadamente con un segundo paso de enriquecimiento en donde el producto del primer paso de enriquecimiento se adsorbe directamente en un adsorbente (gel de sílice) al hacer pasar el flujo del producto sobre un lecho fijo de adsorbente sin cambio de presión sustancial, y la posterior desorción con el mismo (u otro) fluido casi crítico o supercrítico a la misma o una presión diferente como en la primera separación, o mediante una secuencia pre-designada de presiones y temperaturas. Para el enriquecimiento con tococromanol, se utiliza dióxido de carbono a condiciones casi críticas superiores a la temperatura crítica del dióxido de carbono. Para el enriquecimiento con carotenoides, se utiliza propano a condiciones casi críticas por debajo de la temperatura crítica del propano.

ANEXO 2

Declaración del Inventor principal: el Profesor Gerd Brunner, la cual habla sobre la novedad y actividad inventiva de la presente invención.

ANEXO 2

Statement regarding patent application for carotene enrichment from palm oil

For claim 1:

The examiner mentions two patents, the first (D1) referring to a method of obtaining high-value-added compounds from olive leaves.

Similarity to claim 1 of our application is seen by the examiner in the formulation of a counter-current extraction with supercritical CO₂ and the collection of two fractions.

First, counter-current extraction with supercritical CO₂ to enrich high-value-added compounds is well known in the literature, much earlier than filing of the cited patent was carried out.

The difference to our claim 1 is clear:

We claim a specific counter-current separation for a specific feed.

The feed of our claim is Palm oil, which is totally different to the extract of olive leaves.

The counter-current separation of our claim is specific since it comprises two subsequent separations. The first one to remove the volatile by-products, then the second to remove the target compounds over top. This two-step technique is totally different to a one step separation since the two step separation provides a mixture of target compounds essentially free of other more different by-products. A one step separation results in two fractions and each of it contains by-products, one such of high volatility, the other such of low volatility.

Second, patent D2 refers to the adsorption-desorption step.

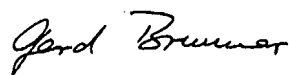
Patent D2 is very different to our claim 1 and the following claims. Patent D2 refers to a chromatographic separation technique. A chromatographic separation also involves mostly an adsorbent and a desorption medium, but the difference in principle is that chromatographic techniques are multi-stage. It is the characteristic of chromatography that separation takes place in a repetition of adsorption and desorption steps. The number of steps is at least about 100 and can go up to 10,000. Furthermore, chromatographic separations are carried out at very low concentrations or at very high solvent to feed ratios.

Our process according to claim 1 is carried out in a one-step process, comprising one adsorption step and subsequently one-desorption step. The effect is tremendous. The concentration is much higher, resulting in a specific throughput of at least 1,500 times higher than that of a chromatographic technique.

Furthermore, the steps of counter-current separation and subsequent adsorption and desorption cannot be carried out just by combining two techniques. It is absolutely necessary to directly introduce the product that is removed from the second counter-current separation to the adsorption step. The product must contain the supercritical solvent in order that the viscosity is reduced and the product can be transferred to the adsorbent. Otherwise the product is solid and cannot be adsorbed effectively on an adsorbent. Liquid solvents, as claimed in D2, cannot achieve this task, since their viscosity and their surface tension are high and thus do not allow to access the fine pores of the adsorbent that are necessary for the adsorption-desorption separation.

Patent D2 ignores such difficulties, due to the fact that with chromatographic techniques the concentration is so very low that these effects are subdued.

Hamburg, 04. 09. 2012



Prof. Dr. Gerd Brunner

Declaración en cuanto a la solicitud de patente para el enriquecimiento de carotenos a partir del aceite de palma

Para la reivindicación 1:

El examinador menciona dos patentes, la primera (D1) que ese refieren a un método para obtener compuestos de alto valor añadido a partir de las hojas de olivo.

La similitud a la reivindicación 1 de nuestra solicitud es vista por el Examinador en la formulación de una extracción a contracorriente con el CO₂ supercrítico y la recolección de dos fracciones.

Primero, la extracción a contracorriente con el CO₂ supercrítico para enriquecer compuestos de alto valor añadido es bien conocida en la literatura, mucho antes que la presentación de la patente citada fuera hecha.

La diferencia con nuestra reivindicación 1 es clara:

Nosotros relamamos una separación a contracorriente para una alimentación específica.

La alimentación de nuestra reivindicación es aceite de palma, lo cual es totalmente diferente al extracto de hojas de olivo.

La separación a contracorriente de nuestra reivindicación es específica puesto que comprende dos separaciones subsecuentes. La primera es para remover los subproductos volátiles, entonces la segunda para remover los compuestos objetivo en la parte superior. Esta técnica de dos etapas es totalmente diferente a una separación de una sola etapa puesto que la separación de dos etapas proporciona una mezcla de los compuestos objetivo esencialmente libres de otros subproductos diferentes. Una separación de una etapa resulta en dos fracciones y cada una de ellas contiene subproductos, uno de los cuales es de alta volatilidad, la otra es de una volatilidad baja.

Segundo, la patente D2 se refiere a un paso de adsorción-desorción.

La patente D2 es muy diferente de nuestra reivindicación 1 y las reivindicaciones siguientes.

La patente D2 se refiere a una técnica de separación cromatográfica. Una separación cromatográfica también involucra mayormente un adsorbente y un medio de desorción, pero la diferencia en principio es que las técnicas cromatográficas son multi-etapas. Es la característica de cromatografía que la separación tome lugar en una repetición de etapas de adsorción y desorción. El número de etapas es de al menos aproximadamente 100 y puede ir hasta 10,000. Además, las separaciones cromatográficas son llevadas a cabo a concentraciones muy bajas o a proporciones muy altas de solvente a alimentación.

Nuestro proceso de acuerdo con la reivindicación 1 se lleva a cabo en un proceso de una sola etapa, que comprende una etapa de adsorción y subsecuentemente una etapa de desorción. El efecto es tremendo. La concentración es mucho más alta, resultando en un rendimiento específico de al menos 1,500 veces más alto que la de una técnica cromatográfica.

Además, las etapas de separación a contracorriente y las subsecuentes adsorción y desorción no pueden ser llevadas a cabo sólo por combinación de dos técnicas. Es absolutamente necesario para introducir directamente el producto que se remueve de la segunda separación a contracorriente a la etapa de adsorción. El producto debe contener el solvente supercrítico con el fin que la viscosidad sea reducida y el producto pueda ser transferido al adsorbente. Los solventes líquidos, como se divulgan en el documento D2, no pueden alcanzar esta tarea, puesto

que su viscosidad y su tensión superficial son altas y de esta forma no permiten acceder a los poros finos del adsorbente que son necesarios para la separación de adsorción-desorción.

La patente D2 ignora tales dificultades, debido al hecho que con las técnicas cromatoográficas la concentración es tan baja que estos efectos son bajos.

ANEXO 3

Correspondiente Patente concedida en Estados Unidos bajo el número US
8,048,462 B2



US008048462B2

(12) **United States Patent**
Brunner et al.

(10) **Patent No.:** **US 8,048,462 B2**
(45) **Date of Patent:** **Nov. 1, 2011**

(54) **PROCESS FOR PRODUCTION OF HIGHLY ENRICHED FRACTIONS OF NATURAL COMPOUNDS FROM PALM OIL WITH SUPERCRITICAL AND NEAR CRITICAL FLUIDS**

(75) **Inventors:** **Gerd Brunner**, Hamburg (DE); **Kai Gast**, Buchholz (DE); **Meng-Han Chuang**, Hamburg (DE); **Sendil Kumar**, Hamburg (DE); **Philip Chan**, Kaltenkirchen (DE); **Wan Ping Chan**, Perak (MY)

(73) **Assignee:** **Carotech SD. BHD**, Perak (MY)

(*) **Notice:** Subject to any disclaimer, the term of this patent is extended or adjusted under 35 U.S.C. 154(b) by 576 days.

(21) **Appl. No.:** **12/278,813**

(22) **PCT Filed:** **Jan. 31, 2007**

(86) **PCT No.:** **PCT/EP2007/000802**

§ 371 (c)(1),
(2), (4) **Date:** **Oct. 24, 2008**

(87) **PCT Pub. No.:** **WO2007/090545**

PCT Pub. Date: **Aug. 16, 2007**

(65) **Prior Publication Data**

US 2009/0155434 A1 Jun. 18, 2009

(30) **Foreign Application Priority Data**

Feb. 10, 2006 (EP) 06002687

(51) **Int. Cl.**
A23D 9/007 (2006.01)

(52) **U.S. Cl.** 426/417; 426/422; 426/424; 426/429;
426/478; 426/489; 426/492; 424/727; 210/634;
210/638

(58) **Field of Classification Search** 426/417,
426/422, 424, 425, 429, 478, 487, 492; 554/8,
554/9; 424/727; 210/634, 638

See application file for complete search history.

(56) **References Cited**

U.S. PATENT DOCUMENTS

5,626,756 A * 5/1997 Heidlas et al. 210/634
7,923,052 B2 * 4/2011 Jirjis et al. 426/662
2004/0200774 A1 * 10/2004 Shekunov et al. 210/634
2005/0274671 A1 * 12/2005 Fages et al. 210/634
2006/0088644 A1 * 4/2006 Choo et al. 426/601

FOREIGN PATENT DOCUMENTS

DE 196 38 459 3/1998
DE 10 2004 041612 3/2005
WO WO 2005/075614 8/2005

OTHER PUBLICATIONS

Hurtado-Benavides, A. et al. 2004. Journal of Supercritical Fluids 28:29.*

Ruivo, R. et al. 2001. Ind. Eng. Chem. Res. 40:1706.*

Polana, M. et al. 2003. Flavour and Fragrance Journal 18:429.*

Ibanez, E. et al. 2002. JAOCs 79(12):1255.*

Jungfer, M., "Gegenstromtrennung von schwerflüchtigen Naturstoffen mit überkritischen Gasen unter Verwendung von Schleppmitteln, Ph.D. Thesis." 2000, Hamburg University of Technology, Hamburg, Germany, pp. 74-75, 123-125. English Language Translation.

Jungfer, M., "Gegenstromtrennung von schwerflüchtigen Naturstoffen mit überkritischen Gasen unter Verwendung von Schleppmitteln, Ph.D. Thesis." 2000, Hamburg University of Technology, Hamburg, Germany, pp. 74-75, 123-125.

Gast, K., et al. "Purification of tocopherols from edible oil." Journal of Supercritical Fluids, vol. 34, 2005, pp. 17-25.

Brunner, G., "Fractionation of fats with supercritical carbon dioxide." European Journal of Lipid Science and Technology, vol. 102, No. 3, 2000, pp. 240-244.

* cited by examiner

Primary Examiner — Carolyn Paden

(74) *Attorney, Agent, or Firm* — Roberts & Roberts, LLP

(57) **ABSTRACT**

From palm oil, valuable compounds like the tocopherols, carotenoids, phytosterols and other can be derived in the new process. Fractions derived from crude palm oil, already enriched to some extent in tocopherols, carotenoids, phytosterols, and others, are treated by supercritical fluid technology in a unique combination of counter current separation with selective adsorption and desorption using supercritical fluids.

18 Claims, 2 Drawing Sheets

55

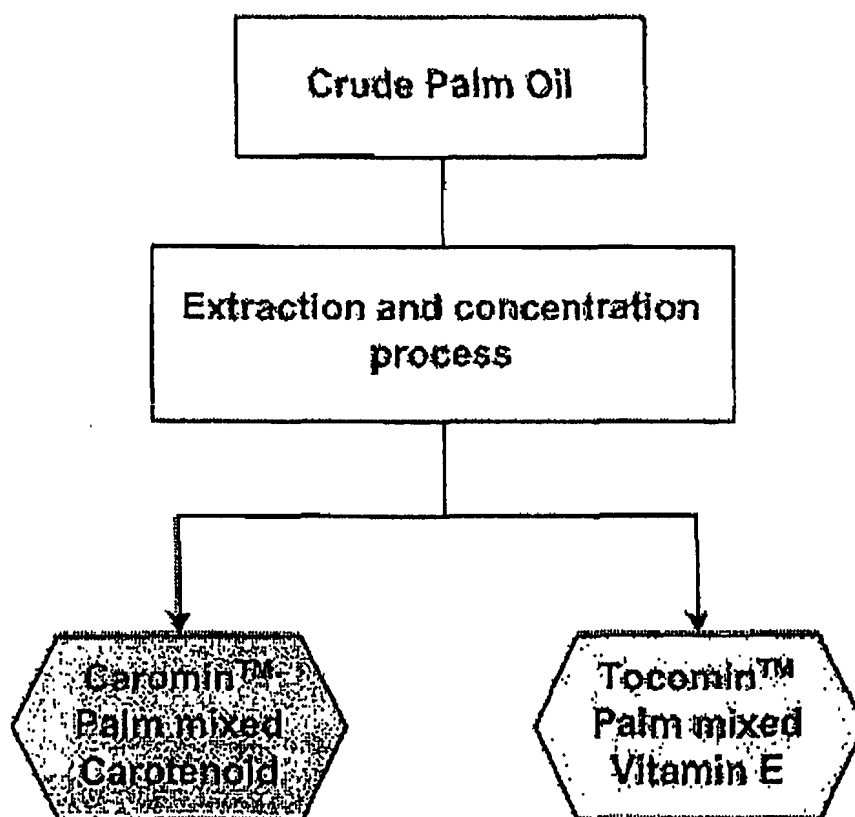


Fig. 1

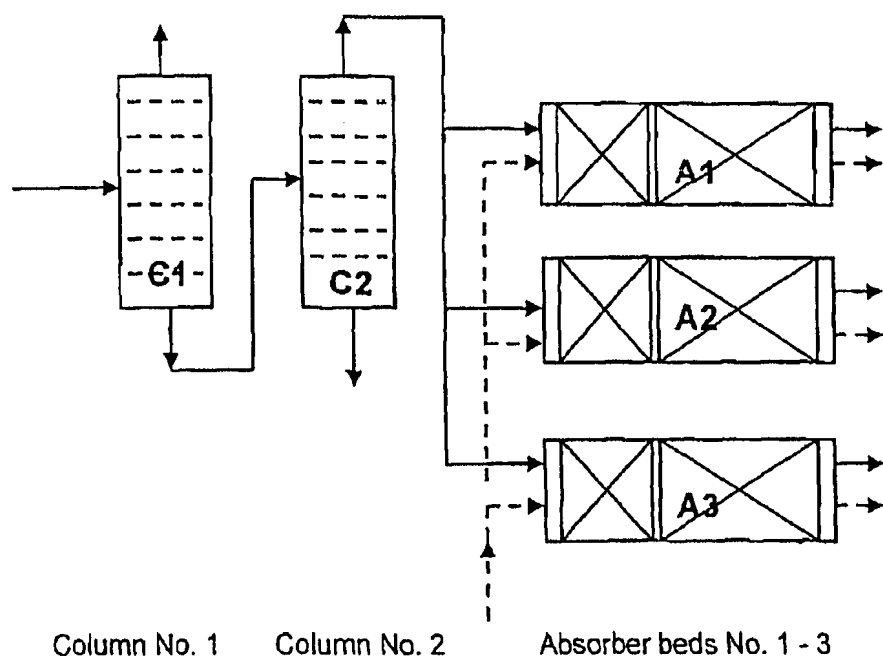


Fig. 2

1

PROCESS FOR PRODUCTION OF HIGHLY ENRICHED FRACTIONS OF NATURAL COMPOUNDS FROM PALM OIL WITH SUPERCRITICAL AND NEAR CRITICAL FLUIDS

BACKGROUND OF THE INVENTION

From palm oil valuable compounds like the tocochromanols, carotenoids, phytosterols, and others can be derived. Enrichment to highly concentrated fractions is hindered by the enormous number of components involved, the very low volatility, the very low solubility of many of the compounds in organic solvents, and the high viscosity of the mixtures to be processed.

As an example for the production of pre-concentrated fractions, the Carotech-process may be taken (FIG. 1). Caromin™, is a carotenoid enriched derivate of crude palm oil, containing approximately 10% of carotenoids. The integrated process for extracting carotenoids and tocotrienols (vitamin E) is carried out according to U.S. Pat. No. 5,157,142 and is summarized in FIG. 1. It involves the transesterification of crude palm oil (CPO) to methyl esters (FAME), followed by vacuum distillation and other steps, resulting in a carotene-rich layer and a tocotrienol-rich layer. The carotene-rich layer, as well as the tocotrienol-rich layer are further concentrated to produce highly concentrated products of a maximum content of 30% for carotenoids, and a maximum content of about 50% for tocochromanols, mostly tocotrienols. Further enrichment with conventional methods proved to be not possible because of the high viscosity, very low volatility, and low solubility in conventional organics solvents. Although a number of investigations have been carried out on various mixtures, mostly tocopherols, with supercritical fluids, no process was able to produce fractions of high concentrations for both the tocochromanols and the carotenoids from crude palm oil or other natural sources.

FIG. 1. Process for production of concentrated fractions of mixed carotenoid and tocotrienols (U.S. Pat. No. 5,157,142).

Carotenes, which impart the distinctive orange-red colour to palm oil, together with tocopherols contribute to the stability and nutritional value of the oil. To a great extent these and other minor constituents determine the quality characteristics of palm oil. Carotenoids are often recovered from natural fat or oil, particularly from palm oil. Carotenoids can be extracted from unsaponified distillation residue. They can be also extracted employing adsorbent in some stage of the process. During the extraction, large amounts of organic solvents are needed. Adsorptive processes so far have not led to higher concentrated carotene fractions from natural sources. Reasons are the initial low concentrations, the high viscosity of carotene fractions, and the instability of carotenes on most adsorbents. Numerous attempts to design a process for producing higher concentrated fractions of carotenes have been made.

Carotenoids are the most widespread and important pigments in living organisms. The most widely known carotenes are the α -, β - and γ -carotenes, and lycopene. Beside their colour, carotenoids, especially β -carotene, are well known to possess provitamin A activity as they can be transformed into vitamin A in vitro. They have also been found to inhibit anti-cancer properties due to their ability to deactivate oxyradicals. As the carotenes are natural compounds with vitamin A property, they played a positive role in commercial applications for pharmaceutical and nutritional products synthesis. [1, 2].

2

Carotenoids are found in numerous vegetable oils, including groundnut oil, rapeseed oil, sunflower-seed oil and cottonseed oil. The concentration of carotenoids in these oils is generally low, less than 100 ppm. Among these, palm oil is the richest natural plant source of carotene in terms of retinol equivalent, with Malaysia contributing the highest percentage of world palm oil production. Palm oil contains the highest known concentration of carotenoids, ranging from 500 to 3000 ppm, depending on the species of the palm fruit from which the oil is obtained. [1, 2] The concentration of carotenes in crude palm oil from Malaysia varies between 500 to 700 ppm, with α - and β -carotene form up to 90% of the total carotenes. [3].

Nowadays, carotenes found on the market are chemically synthetic β -carotene or carotene extracted from algae *Dunaliella*. Since carotenoids are most probably to grow in importance and value, the recovery of carotenoids from palm oil and its byproducts becomes important. Various extracting methods for recovering carotenes from palm oil have been developed over the years including saponification, urea processing, selective solvent extraction, molecular distillation, separation by adsorption, crystallization, and transesterification followed by distillation of esters. [1,4,5].

Tocochromanols: Vitamins are important substances for the human health. They are regulating various processes in the body and have positive effects on many vital functions. In general terms vitamins act as coenzymes or pro-hormones while most of their other functions like anti-carcinogen or anti-oxidizing effects are yet to be researched. Most of the vitamins cannot be synthesized by the human body and therefore these nutrients have to be ingested with the food. Since vitamins vary in their structure and their functions, a first approach is to categorize them into water soluble and oil soluble groups. Water soluble vitamins are distributed within the whole body and therefore they are taking effect in almost all organs, while oil soluble vitamins are mostly present in the membranes. The transport in the blood stream and the digestion of these vitamins can only be done if a sufficient amount of oil lipids and micelles are present.

Vitamin E is the generic term for eight substances from the group of the tocochromanols that possess a Vitamin E activity. The tocochromanols can be subdivided into two groups: the tocochromanols and the tocotrienols: with the tocotrienols possessing three unsaturated double bonds in their hydrocarbon chain and the tocopherols possessing a completely unsaturated hydrocarbon chain. Both tocopherol and -trienol subgroups consist of four homologous, designated as α -, β -, δ -, and γ -tocopherol (-trienol), depending on the substituents of their chroman-ring. The tocochromanols are oil soluble anti-oxidants which are mostly found in the cell membrane of organs. γ -tocopherol has the highest anti-oxidant activity and therefore it is mostly used as anti-oxidant in the food and cosmetic industry. Nevertheless recent studies report further functions of the other tocochromanol homologous like anti-carcinogen or anti-tumor properties.

As a consequence the demand on natural tocochromanol mixtures consisting of all homologous is steadily increasing. The fruits of the Malaysian oil palm possess the highest content of tocochromanols in the world. Crude palm oil (CPO) consist of 94 wt. % tryglycerides, 3-4 wt. % free fatty acids (FFA), and only 1 wt. % of the CPO consist of tocochromanols, carotinoids and phytonutrients. Palm oil is available in large quantities and at a comparatively low price. It is the largest source for tocotrienols. Tocotrienols can be recovered from the distillate fractions obtained during the refining and deodorisation of the crude palm oil. The carotenoids are destroyed during this process. It is therefore reasonable to try

3

to recover both groups of valuable compounds in one process sequence. The most economic way would be to adsorb these compounds from the crude palm oil on an appropriate adsorbent and remove the compounds subsequently from the adsorbent. Numerous attempts have been made. So far no success was obtained. Therefore, the need for another approach led to the transesterification of the triglycerides of palm oil to fatty acid methyl esters and their removal by vacuum distillation. The further process of generating higher concentrated fractions is limited by the mentioned properties of the mixtures. The needs for a different process are obvious.

Here, supercritical fluid extraction (SFE) is an alternative to conventional extraction with organic solvents. SFE is able to yield in a solvent free extract and due to its low critical temperature can be used for the treatment of temperature sensitive substances like vitamins. Supercritical fluids can dissolve the low volatile components and carry them through any process via the gaseous phase. Furthermore, highly viscous liquid solutions dissolve a great amount of supercritical fluids, in particular carbon dioxide and propane, with the effect of a much reduced viscosity. Then, even the liquid solutions can be handled in a process.

Although these facts have each for itself been known for some time, the surprising effects for a further enrichment of the tocopherols and the carotenoids by applying appropriate combinations of counter current SFE separation and SFE-adsorptions with subsequent selective SFE-desorption have not been recognized. The state of the art achieved so far is reviewed in the following.

STATE OF THE ART

Tocochromanol:

The research done on extraction of natural materials with supercritical carbon dioxide is increasing these days. The critical parameters of carbon dioxide is 7.4 MPa and 304.21K [6]. Because of these low critical parameters, using supercritical carbon dioxide is resulting in low operation cost and because of the low critical temperature even temperature sensitive materials can be extracted. In contrary to organic solvent, carbon dioxide is non toxic, non inflammable, and inert. Moreover, carbon dioxide is easy available and can be removed completely from the desired product without residues. The solubility of carbon dioxide can be adjusted by the density, therefore it can be adjusted to the feed material. These are the reasons for the enormous amount of research work in the field of supercritical carbon dioxide extraction. Ill'es et al. [7] and Gnyayfeed et al. [8] for example were researching the extraction of red pepper and pepper oil with supercritical CO₂ and subcritical propane in respect to the tocopherol and carotene content. It was found that the solubility of the supercritical carbon dioxide was not sufficient to dissolve carotene. The solubility of the tocopherols in both solvents was good, and it was possible to dissolve tocopherols in both CO₂ and propane. Nagesha et al. [9] and Shishikura et al. [10] have researched the enrichment of tocopherols from soy deodorizer distillate by supercritical uid extraction. Further research work has been done on the enrichment of squalene from an intermediate of the olive oil production (Dreschner et al. [11]) and the enrichment of tocopherolacetate and tocopherol (Fleck [12]).

The adjustment of the solubility of the supercritical carbon dioxide through the density gives the supercritical extraction a high flexibility. But because of the lacking polarity of the carbon dioxide the solubility for polar substances is limited. One possibility to increase the solubility is to add a modifier to the supercritical carbon dioxide. Common modifiers are

4

iso-propanol, ethanol and propane. It should not be neglected that an increase of solubility with modifiers is often paired with a decrease in selectivity. Thus recent studies focus on an additional adsorption process prior the supercritical extraction. Due to the additional adsorption, the selectivity of the process can be increased, since the adsorbent has a different affinity to the different components. The result is that the components are adsorbed and desorbed to a different extent. Wang et al. [13] researched the separation of α -tocopherol and squalene using a pressure swing adsorption technique with supercritical carbon dioxide as solvent. In the first stage of the process the feed is mixed with supercritical CO₂ and enters a column filled with silica gel at low pressure, where the feed adsorbs on the silica gel. In the second stage the adsorb is desorbed off the silicagel with pure supercritical carbon dioxide under high pressure. During these experiments Wang et al. was able to enrich α -tocopherol from a 20 wt. % feed to 60 wt. % and squalene from 80 wt. % to 98 wt. %. Theoretical work on adsorption and desorption in supercritical carbon dioxide has been done by Reverchon et al. [14] and Goto et al. [15]. The research group of Reverchon used a Langmuir similar multi component adsorption isotherm in order to describe the adsorption behaviour of a complex terpene mixture under supercritical conditions, whereas the research group of Goto used the BET adsorption isotherm to do their simulation. Both works lead to mathematical models which are capable to simulate experimental data with a high accuracy.

Lee et al. [16] published a work on the adsorption kinetics of phospholipids from treated soy oil on regenerated clay. The research group of Lee used a reaction kinetic equation in order to describe the adsorption process by measuring the concentration before and after the adsorber. This was a totally different approach then the authors before, since no adsorption isotherm is used at all to describe the system. Nevertheless the research group of Lee was able to derive a reaction equation which is capable to predict the experimental data. The regeneration of modified clay with supercritical carbon dioxide was researched by Cavalcante et al. [17] and Carneiro et al. [18]. Modified clay is an important adsorbent in the environmental technology, since its ability to adsorb organic substances is very important in the field of water treatment. Therefore the regeneration of the clay is an important economical issue for the economical efficiency of the process. Zetzl [19] dealt with the separation of avors from lemon oil by applying a selective adsorption on silicagel followed by a desorption under supercritical carbon dioxide. The desorption curve of limonen and citral was researched and a model was introduced which described the experimental data with a high accuracy.

A patent for the separation technique of selective adsorption followed by a desorption with supercritical CO₂ was filed for separating terpenes out of essential oils. The European patent EP 0363971 A2 [20] describes such a process. The oil is mixed by stirring at a constant temperature with the adsorbent and then it is extracted with supercritical CO₂. This is possible because of the low viscosity of the treated oil.

Carotenoids:

The Japanese patent JP200226723 [21] presents a method for the enrichment of carotene from palm oil. Palm oil is first transesterified. The ester is then extracted with a hydrophilic solvent such as methanol to separated it into a concentrated ester phase. This concentrate is then applied to a column packed with silica gel to adsorb carotene. Carotene is then desorbed using hexane which contains around 4000 ppm acetone.

Adsorptive concentration of the carotene-rich concentrate was also employed in U.S. Pat. No. 6,072,092 [22], where silica gel is used as adsorbent and a large amount of non-polar solvent is used to recover carotene.

European patent EP0242148 [23] describes a similar method using silica gel or activated alumina as adsorbent and a non polar solvent containing certain amounts of polar solvents as eluant for the enrichment of carotene.

Japanese patent JP63132871 [24] describes a process to enrich carotene applying Zeolite as adsorbent and a non polar solvent, such as carbon tetrachloride as eluant.

U.S. Pat. No. 5,157,132 [25] describes a process recovering carotene from oil through transesterification and saponification. The enriched carotene can be extracted from the saponified residue with an organic solvent. The obtained residue has a carotene content of 20%. Also European patent EP1398311 [26] describes a similar process. 10% to 20% of carotene concentrate can be obtained.

German patent DE 4429506 [27] presents the extraction of carotenoids from dried material with propane or butane. It was found that the solubility of both gases can be greatly improved when a co-solvent is used.

These patents require organic solvents in a large amount as eluant and recovery of the solvents by distillation to obtain the carotenoids concentrate. In the new process only propane and supercritical CO₂ are used as solvents at low temperatures to obtain the concentrate. These solvents can be easily removed by expansion.

Most techniques described in literature that use supercritical carbon dioxide or other compressed gases for the enrichment of both phytosterols and tocochromanols from edible oil start from very low concentrations of the here-treated components. Hence, the main focus of these works lies on depleting the oil from substances like triglycerides or FAME, because these are the by far most prominent substances when dealing with crude or esterified oil, respectively. Additionally, most described processes are batch-wise operated. Thus, the here-described approach, starting from an already enriched palm oil derivatives and employing a combination of a continuously operated extraction column with an adsorption/desorption operation on the one side and a subsequent extraction has not yet been applied.

SUMMARY OF THE INVENTION

The vitamin compounds of the group of the tocochromanols and carotenoids are enriched from mixtures derived from natural oils in the process described below. These mixtures contain fatty acid methyl esters or fatty acid ethyl esters, squalene, monoglycerides, diglycerides, sterols, co-enzyme Q10 and the target compounds.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

FIG. 1 shows the process of the prior art for production of concentrated fractions of mixed carotenoid and tocotrienols.

FIG. 2 shows a flow sheet of the process for concentrating tocochromanols and carotenoids by supercritical fluid extraction technology.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

With supercritical carbon dioxide as solvent, in a first separation sequence (FIG. 2, columns C1 and C2), from the tocochromanols or the carotenoids are removed the compounds more soluble in supercritical carbon dioxide than the target compounds at the top of a counter currently operated separa-

tion column, and the less soluble compounds at the bottom. This process leads to concentrations for the tocochromanols of about 70 wt.-%, and for the carotenoids of about 30 wt.-%. The details of this separation are given below.

In a second sequence, directly following the countercurrent process, the mixtures are processed by selective adsorption and desorption steps (FIG. 2, adsorbers A1, A2, A3). Adsorption takes place from the mass flow taken from the countercurrent separation comprising a supercritical or near-critical fluid and the target compounds, and is directly deposited on the adsorbent. In this way, the handling of the highly viscous solution or solid solution is made possible. Subsequently, desorption is carried out from the fixed bed loaded with the feed mixture. Desorption may be carried out with the same supercritical or near critical fluid, or a different one, or in a sequence of two or more of such solvents. Desorption is also carried out at different conditions compared to the adsorption, i.e. different values of pressure, temperature, flow rate of gas. Supercritical or near critical solvents may comprise mixtures of supercritical or near critical fluids, preferably of carbon dioxide and propane.

It was found that the separation by adsorption and desorption can be improved by not filling the whole adsorbent with the feed mixture, but only part of it. During desorption a sequence of adsorption and desorption steps take place, which increase the separation efficiency, and thus the concentrations of the separated fractions. The ratio of the first adsorbed section to the free section of the fixed bed of adsorbent is variable, usually from 0.5 to 0.1.

FIG. 2. Flow sheet of the process for concentrating tocochromanols and carotenoids by SFE technology.

Tocochromanols

The new process for the production of highly enriched tocochromanol-fractions, containing mostly tocotrienols from palm oil derived mixtures combines a continuous countercurrent multistage separation using a supercritical fluid, preferably carbon dioxide, to remove the lighter volatile (i.e. the compounds more soluble in supercritical compound, resp. carbon dioxide) over the top of the column. The bottoms of the column are an enriched fraction in tocotrienols with a relatively high content in sterols and other somewhat polar compounds. This bottom fraction is passed over a suitable adsorbent. Silicagel was found to be an applicable adsorbent. The adsorbed mixture is desorbed by a supercritical fluid, preferably carbon dioxide in two desorption steps. The first is carried out at a pressure of about 140 bar and removes more volatile or more in supercritical carbon dioxide soluble compounds. In the second desorption step, carried out at about 250 bar, highly enriched tocochromanol fractions, containing mostly tocotrienols, are extracted. The extracted fractions can be split further by collecting them in different vessels. Depending on the cut of the fractions, the concentration of tocotrienols is in the range of 85 to nearly 100% with a yield of about 50% of the feed mixture. The adsorbent is regenerated with liquid solvents like ethanol etc. and reused for the adsorption step.

The process starts with a pre-enriched fraction, which may be obtained by several methods, one may comprise transesterification of the glycerides with methanol and removing the obtained fatty acid esters by short-path-distillation or by extraction with supercritical fluids, like carbon dioxide. For example, the starting material for the first extraction step was a palm oil derivatives that among other substances contained 56 wt.-% tocochromanols (with γ -tocotrienol, α -tocotrienol, and α -tocopherol being the major components), 16 wt.-% squalene, 5 wt.-% phytosterols (with β -sitosterol and campesterol being the most prominent species), and 11 wt.-% mono-

and diglycerides. This material was fed into a continuously operated extraction column, employing supercritical carbon dioxide as solvent. The column was packed with a structured Sulzer EX packing and has an inner diameter of 17.5 mm and a total height of 7 m, of which 6 m are packed. Employing pressures of 20-30 MPa and temperatures of 323 to 358 K, it was possible to produce a sterol- and tocopherol-free top product, only extracting specifically FAME, squalene, and monoglycerides, hence obtaining a bottom product enriched to about 70% tocopherols with phytosterols and other most probably more polar compounds comprising the rest.

A longer column would have completely depleted the bottom phase from the higher-volatile components. With chemical engineering methods the necessary height for complete separation of FAME, squalene, and monoglycerides from tocopherols, sterols, and other low-volatile components was calculated. The results are that a complete separation of these components is possible with 13 theoretical separation stages, corresponding to a height of the column of about 15 m, a solvent-to-feed ratio of 80 to 140, with a reflux ratio of 6 to 12, at a temperature of 323 K, and a pressure of 20-25 MPa.

Theoretically, the further enrichment of tocopherols should be possible by employing another countercurrent separation using a supercritical fluid. Experimental investigations revealed that the solubility of the tocopherol-enriched bottom product in supercritical carbon dioxide is too low to be considered as a solvent for a separation process. Therefore, modifiers were mixed with the basic supercritical fluid, carbon dioxide, in order to increase the solubility. The following solvent compositions were investigated: CO₂+propane with a propane content of 29, 55, and 83%, as well as CO₂+liquid organic solvent, namely ethanol, iso-propanol, 1-butanol, and ethyl acetate, each in a concentration of 5 and 10 wt.-%, respectively. The measurements were conducted in a pressure range of 5-30 MPa and at temperatures of 323, 343, and 358 K, respectively, in case of experiments with propane and at a fixed pressure of 20 MPa and at temperatures of 323 and 343 K in case of the liquid modifiers. At all conditions investigated the concentration of the low volatile compounds was enriched in the gaseous phase, but the selectivity with respect to tocopherols was reduced to such an extent that sterols were dissolved in the gas-phase, hence making it impossible to enrich the tocopherol concentration further.

Surprisingly it was found that the separation factors remained high, even increased, if the bottom material was mixed with special silica gels and then desorbed or extracted from this adsorbent with supercritical carbon dioxide. The bottom product from the first enriching step was mixed with certain amounts of adsorbent (silica gel) in a ratio of 4 to 10. The mixture was introduced into a column as fixed bed. Then, applying a supercritical fluid (carbon dioxide) at a pressure of about 14 at a temperature of about 333 K, remaining high volatile components such as fatty acid esters and squalene were desorbed. In a second desorption (extraction)-step, at about the same temperature, but a higher pressure of about 25 MPa tocopherols were desorbed with high concentration. With a ratio of adsorbent to feed of 10, a solvent ratio of supercritical carbon dioxide of about 300 [kgCO₂/kg Feed and hour], a fraction of 27% of the feed was obtained during 1 h with a concentration of 75% tocopherols, after that fraction, another fraction of 25% of the feed with a 100% concentration of tocopherols could be recovered in another hour. Experiments with a mixture of carbon dioxide and propane showed that the solubility could be enhanced while the selectivity was maintained. Therefore, the solvent ratio can be lower than with pure CO₂.

DESCRIPTION OF THE INVENTION

Carotenoids

A carotenoid concentrate (1 to 10 wt.-%) is fed into a continuously operated extraction device, constructed as a five-stage high pressure mixer-settler. In three separation sequences with this apparatus, employing pressures of 20-30 MPa and temperatures of 323 to 358 K, it was possible to produce a product, containing up to 30 wt.-% of carotenoids. This product is passed over the adsorbent, a special silica gel, preferably Zeofree 5170, whereby the mixture of carotenoids, sterols and other substances, and the fatty acid esters are adsorbed. The mixing ratio is in the range of 4 to 10. Subsequently, the loaded adsorbent is brought into contact first with supercritical carbon dioxide, and then with near critical propane at conditions of the state, e.g. 5 MPa and 323 K, preferably in the range of 2 to 7 MPa and 313 to 343 K. With carbon dioxide, mainly non-carotenoids are desorbed and eluted, and with near critical propane, the carotenoids are desorbed. The solvent ratio of propane to feed is in the range of 20 to 100 preferably about 30. Concentration of the eluted carotenoids were enhanced, if during the adsorption step only a fraction of the adsorbent was loaded with the feed.

EXAMPLES

Tocopherols

Example 1

First Extraction Step

A continuous operated multi-stage supercritical extraction was conducted with pure carbon dioxide as solvent and a feed mixture containing 50 wt.-% tocopherols (with γ -tocopherol, α -tocopherol, and α -tocopherol being the major components), 16 wt.-% squalene, 3 wt.-% phytosterols (with β -sitosterol and campesterol being the most prominent species), and 11 wt.-% mono- and diglycerides. The employed column had an effective height of 6 m and was packed with a structured Sulzer EX packing. Operating conditions were as follows: 20 MPa, 323 K, solvent-to-feed ratio=19.8, reflux ratio=7.3. These conditions resulted in a top phase product consisting of 2 wt.-% FAME, 58 wt.-% squalene and it was completely depleted from tocopherols and phytosterols. The bottom product consisted of 8 wt.-% squalene, 58 wt.-% tocopherols, 4 wt.-% phytosterols, and it was completely FAME-free.

Example 2

First Extraction Step

A continuous operated multi-stage supercritical extraction was conducted with pure carbon dioxide as solvent and a feed mixture containing 50 wt.-% tocopherols (with γ -tocopherol, α -tocopherol, and α -tocopherol being the major components), 16 wt.-% squalene, 3 wt.-% phytosterols (with β -sitosterol and campesterol being the most prominent species), and 11 wt.-% mono- and diglycerides. The employed column had an effective height of 6 m and was packed with a structured Sulzer EX packing. Operating conditions were as follows: 20 MPa, 343 K, solvent-to-feed ratio=40.3, reflux ratio=1.3. These conditions resulted in a top phase product consisting of 2 wt.-% FAME, 60 wt.-% squalene, 2 wt.-% tocopherols, and 1 wt.-% sterols. The bottom product

9

consisted of 7 wt.-% squalene, 54 wt.-% tocochromanols, 4 wt.-% phytosterols, and it was completely FAME-free.

Example 3

Production of Concentrated Fractions of Tocotrienols-1

1 g of the bottom product obtained from example 1 was used as feed material and mixed with 10 g of silica gel, Zeofree 5170. The mixture is introduced into an empty vessel and supercritical CO₂ was used to desorb FAME and squalene at 13 MPa and 333 K for 120 minutes. The pressure was increased to 25 MPa and after 60 minutes, a fraction (0.27 g), which contains 80 wt.-% of tococormanolols, was collected. The pressure was held constant for another 60 minutes, another fraction (0.24 g) was collected. This fraction contains approximately 100% tococormanolols.

Example 4

Production of Concentrated Fractions of Tocotrienols-2

2.4 g of the bottom product obtained from example 1 was used as feed material and mixed with 10 g of silica gel, Zeofree 5170. The mixture is introduced into an empty vessel and supercritical CO₂ was used to desorb FAME and squalene at 13 MPa and 333 K for 60 minutes. The pressure was increased to 19 MPa and after another 120 minutes, a fraction (1.59 g) was collected. It contains 80 wt.-% of tococormanolols.

Example 5

Carotenoids

The carotenoids concentrate containing approximately 10 wt % of carotenoids was passed over the adsorbent in an high pressure pipe with an internal volume of 50 ml. Silica gel with a minimum surface area of 165 m²/g was used as the adsorbent with a ratio of 4:1 (12 g:3 g) to the amount of feed. Extraction was then carried out first with supercritical carbon dioxide at 150 bar and 60° C., and then with supercritical carbon dioxide at 250 bar and 60° C. In third step, near critical propane was used at 7 MPa, 60° C. The fractions are collected. The last fraction consisted of about 60% carotenoids.

REFERENCES

1. Y. M. Choo: Palm Oil Carotenoids. The United Nations University Press, Food and Nutrition Bulletin, 15 (1994).
2. C. Lenfant, F. C. Thyron: Extraction of Carotenoids From Palm Oil, I. Physical and Chemical Properties of β -Carotene, *Voir OCL* 3, 3 (1996) 220-226.
3. S. H. Goh, Y. M. Choo, S. H. Ong: Minor Constituents of Palm Oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 62 (1985) 237-240.
4. B. S. Baharin, L. L. You, Y. B. Che Man, and S. Takagi: Effect of Degumming Process on Chromatographic Separation of Carotenes from Crude and Degummed Palm Oil, *Journal of Food Lipids* 8 (2001) 27-35.
5. C. Lenfant, F. C. Thyron, Extraction of Carotenoids From Palm Oil, II. Isolation Methods, *Voir OCL* 3, 4 (1996) 294-307.
6. VDI: VDI W arneatlas. VDI Verlag GmbH (1988).
7. V. Ill'es, H. G. Daood, P. A. Biacs, M. H. Gnyayfeed, B. M'esz' aros: Supercritical CO₂ and Subcritical Propane Extraction of Spice Red Pepper Oil with Special Regard to Carotenoid and Tocopherol Content. *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 37 (1999).
8. M. H. Gnyayfeed, H. G. Daood, V. Ill'es, P. A. Biacs: Supercritical CO₂ and Subcritical Propane Extraction of Pungent Paprika and Quantification of Carotenoids, Tocopherols and Capsaicinoids. *J. Agric. Food Chem.* 49, 2761-2766 (2001).
9. G. K. Nagesha, B. Manohar, K. Udaya Sankar: Enrichment of tocopherols in modified soy de-odorizer distillate using supercritical carbon dioxide extraction. *Eur. Food Res. Technol.* 217:427-433 (2003).
10. A. Shishikura, K. Fujimoto, T. Kaneda, K. Arai, S. Saito: Concentration of Tocopherols from Soybean Sludge by Supercritical Fluid Extraction. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* 37, No. 1 (1988).
11. M. Dreschner, M. Bonakdar: Anreicherung des Kohlenwasserstoffes Squalen in einem Zwischenprodukt der Olivenölherstellung durch Extraktion mit verdichtetem Kohlendioxid. *Chemie Ingenieur Technik* 73, S. 338-342 (2001).
12. U. Fleck: Reinigung schwer flüchtiger Substanzen mittels Extraktion mit überkritischen Gasen. Dissertation, Technische Universität Hamburg-Harburg (2000).
13. H. Wang, M. Goto, M. Sasaki, T. Hirose: Separation of α -Tocopherol and Squalene by Pressure Swing Adsorption in Supercritical Carbon Dioxide. *Ind. Eng. Chem. Res.* 43, 2753-2758 (2004).
14. E. Reverchon, G. Lamberti, P. Subra: Modelling and simulation of the supercritical adsorption of complex terpene mixtures. *Chemical Engineering Science* 53, 3537-3544 (1998).
15. M. Goto, B. C. Roy, A. Kodama, T. Hirose: Modelling Supercritical Fluid Extraction Process Involving Solute-Solid Interaction. *Journal of Chemical Engineering of Japan* 31, 171-177, (1998).
16. C. H. Lee, C. I. Lin: Kinetics of Adsorption of Phospholipids from Hydrated and Alkali-Refined Soy Oil Using Regenerated Clay. *Journal of Chemical Engineering of Japan* 37, 764-771 (2004).
17. A. M. Cavalcante, L. G. Torres, G. L. V. Coelho: Adsorption of Ethyl Acetate onto Modified Clays and its Regeneration with Supercritical CO₂. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, Vol. 22, No. 1, 75-82 (2005).
18. D. G. P. Carneiro, M. F. Mendes, G. L. V. Coelho: Desorption of Toluene from Modified Clays using Supercritical Carbon Dioxide. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* Vol. 21, No. 4, 641-646 (2004).
19. C. Zetzl: Desorption von Sauerstoffverbindungen des Zitrusöls durch überkritisches CO₂. Diplomarbeit, Institut für Thermische Verfahrenstechnik an der Universität Karlsruhe, (1994).
20. European patent EP 0363971 A2
21. Japanese patent JP200226723
22. U.S. Pat. No. 6,072,092,
23. European patent EP0242148
24. Japanese patent JP63132871
25. U.S. Pat. No. 5,157,132
26. European patent EP1398311
27. German patent DE 4429506

The invention claimed is:

1. A process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, comprising a first separation step comprising countercurrent multistage separation with supercritical carbon dioxide and/or near critical propane removing the higher volatile over top, yielding a bottom fraction enriched in the natural compounds,

11

and another countercurrent multistage separation conducted on the bottom fraction enriched in the natural compounds, with supercritical carbon dioxide and/or near critical propane removing the target natural compounds over top, thus cleaning it from a bottom fraction of low volatile impurities, and a second step comprising selective adsorption and desorption by directly adsorbing the top fraction of the target natural compounds from the countercurrent separation containing the supercritical carbon dioxide and/or near critical propane on an adsorbent, and subsequently eluting the mixture from the adsorbent by the same or another supercritical carbon dioxide and/or near critical propane and collecting different fractions.

2. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 1 using the supercritical carbon dioxide and/or near critical propane at operating conditions for the temperature of 313 to 383 K, and pressures of 5 to 45 MPa, a solvent-to-feed ratio of 1 to 500, using a reflux of extract at the top of the column in the range of 0.1 to 50.

3. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 2, wherein a second step comprising selective adsorption and desorption by directly adsorbing the fraction from the countercurrent separation containing the supercritical carbon dioxide and/or near critical propane, at the same pressure and temperature or at reduced density, on an adsorbent, silica gel, in a ratio of 4 to 10, in such a way that only some part of the adsorbent is loaded with the incoming feed material, desorption is carried out with the same or another supercritical or near critical fluid in one or more steps, in a first elution step, at lower pressure in the range of 12 to 15 MPa, the higher volatile compounds still remaining in the adsorbed mixture are removed, in subsequent second elution, at an enhanced pressure in the range of 22 to 35 MPa, at temperatures between 313 and 373 K the lower volatile compounds are extracted and a third elutions step comprises the use of near critical propane at conditions of 3 to 10 MPa.

4. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 3 wherein the natural compounds comprise tocopherol fractions.

5. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 3 wherein the natural compounds comprise carotenoid fractions.

6. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 3 wherein the natural compounds comprise sterol fractions.

7. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 3 wherein the natural compounds comprise coenzyme Q10.

12

8. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 2, wherein desorption is carried out with the same or another supercritical carbon dioxide and/or near critical propane in two pressure steps, in a first elution step, the higher volatile compounds still remaining in the adsorbed mixture are removed in a second elution, at an enhanced pressure at MPa, at temperatures, and a third elution step comprises the use of near critical propane at conditions of 5 to 7 MPa.

9. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 2 wherein the natural compounds comprise tocopherol fractions.

10. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 2 wherein the natural compounds comprise carotenoid fractions.

11. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 2 wherein the natural compounds comprise sterol fractions.

12. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 2 wherein the natural compounds comprise coenzyme Q10.

13. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 1 wherein the natural compounds comprise tocopherol fractions.

14. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 1 wherein the natural compounds comprise carotenoid fractions.

15. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 1 wherein the natural compounds comprise sterol fractions.

16. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 1 wherein the natural compounds comprise coenzyme Q10.

17. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives of claim 1 wherein the natural compounds are tocopherols, carotenoids, or sterols.

18. The process for the production of highly enriched fractions of natural compounds from Palm oil or Palm oil derivatives, according to claim 1 using the supercritical carbon dioxide and/or near critical propane at operating conditions for the temperature of between 323 and 363 K, and pressures of 10 to MPa, a solvent-to-feed ratio of 50 to 300, using a reflux of extract at the top of the column in the range of 2 to 20.

* * * * *