

DESCRIPCIÓN

PROCESO PARA AUMENTAR LA ESTABILIDAD DE UNA COMPOSICIÓN QUE COMPRENDE ÁCIDOS GRASOS OMEGA-6 POLIINSATURADOS

5 Se han correlacionado numerosos beneficios para la salud con la ingesta suplementaria de
ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS) mediante un extenso cuerpo de pruebas reunidas
en el transcurso de las últimas décadas. La prevención de las enfermedades
cardiovasculares y la reducción de los síntomas de enfermedades inflamatorias se
encuentran entre los ejemplos más destacados, sin embargo, se han reportado también la
10 prevención de la promoción y etapas de progresión de algunos tipos de cáncer, la
reducción de la presión arterial y colesterol en la sangre, así como efectos positivos en el
tratamiento de la depresión y la esquizofrenia, enfermedad de Alzheimer, la dislexia y el
trastorno por déficit de atención o hiperactividad, entre otros. Además, debido a que
algunos PUFAS se consideran esenciales para el desarrollo del cerebro, sistema nervioso
y ojos, hoy en día rutinariamente, la nutrición infantil se complementa con PUFAS
15 específicos.

Sin embargo, la fabricación de productos alimenticios, nutricionales y farmacéuticos que
contienen PUFAS se ve obstaculizada por su elevada susceptibilidad al deterioro oxidativo.
La oxidación tiene consecuencias negativas, tanto nutricionales como organolépticas; a
saber, cambios en el valor nutricional tales como la destrucción de ácidos grasos
20 esenciales; rancidez que produce sabores desagradables y olores pronunciados; cambios
de color como el oscurecimiento de grasas y aceites, así como la pérdida de sabor. La
oxidación de PUFAS produce una mezcla compleja de productos de oxidación secundaria
volátiles, y éstos causan particularmente sabores desagradables.

25 Se han descrito tres estrategias diferentes en la técnica y se han aplicado en la industria
para estabilizar los PUFAS contra el deterioro oxidativo (Arab-Tehrany E. et al., Trends in
Food Science & Technology 25 (2012) 24-33):

- adición de antioxidantes,
- microencapsulación y
- embalaje en atmósfera modificada.

30 A pesar de que estas estrategias ofrecen soluciones para una serie de problemas
relacionados con la oxidación, todavía se necesitan nuevos enfoques para responder a los
retos pendientes en los escenarios actuales y los posibles escenarios futuros que dicten
condiciones de fronteras técnicas y económicas particulares.

35 Se ha encontrado ahora que las composiciones que comprenden ácidos grasos omega-6
poliinsaturados pueden estabilizarse contra la oxidación mediante un proceso que
comprende las siguientes etapas:

- (i) proporcionar una composición de partida que comprende al menos un componente ácido
graso omega-6 poliinsaturado;
- (ii) proporcionar una composición de lisina;

40 (iii) mezclar soluciones acuosas, acuoso-alcohólicas o alcohólicas de composición de
partida y composición de lisina, y someter posteriormente la mezcla resultante a
condiciones de secado por pulverización, formando así una composición de producto sólido

que comprende al menos una sal de un catión derivado de lisina con un anión derivado a partir de un ácido graso omega-6 poliinsaturado; la composición del producto que presenta un contenido de disolvente SC seleccionado entre los siguientes: SC <5 % en peso, SC <3 % en peso, SC <1 % en peso, SC <0,5 % en peso.

- 5 En el contexto de la presente invención, el término PUFAS se utiliza indistintamente con el término ácido graso poliinsaturado y se define como sigue: Los ácidos grasos se clasifican en base a las características de longitud y saturación de la cadena de carbono. Los ácidos grasos de cadena corta tienen de 2 a aproximadamente 6 carbonos y están típicamente saturados. Los ácidos grasos de cadena media tienen de aproximadamente 6 a
- 10 aproximadamente 14 carbonos y también están típicamente saturados. Los ácidos grasos de cadena larga tienen de 16 a 24 o más carbonos y pueden ser saturados o insaturados. En ácidos grasos de cadena larga puede haber uno o más puntos de insaturación, dando lugar a los términos "monoinsaturados" y "poliinsaturados", respectivamente. En el contexto de la presente invención, los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga que
- 15 tienen 20 o más átomos de carbono se denominan ácidos grasos poliinsaturados o PUFAS.

Los PUFAS se clasifican de acuerdo con el número y la posición de enlaces dobles en los ácidos grasos de acuerdo con una nomenclatura bien establecida. Existen dos series principales o familias de LC-PUFAS, dependiendo de la posición del doble enlace más cercano al extremo metilo del ácido graso: La serie omega-3 contiene un doble enlace en

20 el tercer carbono, mientras que la serie omega-6 no tiene doble enlace hasta el sexto carbono. Así, el ácido docosahexaenoico ("DHA") tiene una longitud de cadena de 22 carbonos con 6 enlaces dobles comenzando con el tercer carbono del extremo metilo y se denomina "22:6 n-3" (todo-cis-4,7,10,13,16,19- ácido docosahexaenoico). Otro PUFAS omega-3 importante es el ácido eicosapentaenoico ("EPA") que se denomina "20:5 n-3" (ácido todo-cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico). Un PUFAS omega-6 importante es el ácido araquidónico ("ARA") que se denomina "20:4 n-6" (ácido cis-5,8,11,14-eicosatetraenoico).

25

Otros PUFAS omega-3 incluyen:

- 30 Ácido eicosatrienoico (ETE) 20:3 (n-3) (ácido todo-cis-11,14,17-eicosatrienoico), ácido eicosatetraenoico (ETA) 20:4 (n-3) (todo-cis-8,11,14,17- ácido eicosatetraenoico), ácido heneicosapentaenoico (HPA) 21:5 (n-3) (ácido todo-cis-6,9,12,15,18-heneicosapentaenoico), ácido docosapentaenoico (ácido clupanodónico) (DPA) 22:5 (n-3) (ácido todo-cis-7,10,13,16,19-docosapentaenoico), ácido tetracosapentaenoico 24:5 (n-3) (todo-cis-9,12,15,18,21 ácido tetracapentanoico), ácido tetracosahexaenoico (ácido nisínico) 24:6 (n-3) (ácido todo-cis-6,9,12,15,18,21-tetracosahexaenoico).
- 35

Otros ácidos grasos omega-6 PUFAS incluyen:

- 40 Ácido eicosadienoico 20:2 (n-6) (ácido todo-cis-11,14-eicosadienoico), ácido dihomo-gamma-linolénico (DGLA) 20:3 (n-6) (todo-cis-8,11,14- ácido eicosatrienoico), ácido 22:2 (n-6) (ácido todo-cis-13,16-docosadienoico), ácido adrenico 22:4 (n-6) (todo-cis-7,10,13,16 ácido docosapentaenoico), ácido docosapentaenoico (ácido Osbond) 22:5 (n-6) (todo-cis-4,7,10,13,16- ácido docosapentaenoico), ácido 24:4 (n-6) (todo-cis-9,12,15,18-tetracosatetraenoico, ácido 24:5 (n-6) (ácido todo-cis-6,9,12,15,18-tetracosapentaenoico)tetracosapentaenoico.

- 45 Los PUFAS omega-6 preferidos usados en las realizaciones de la presente invención son ácido araquidónico ("ARA") y ácido gamma-linolénico ("GLA").

Sin querer limitarse por la teoría, parece que la mayor estabilidad hacia la oxidación lograda

por el proceso de la presente invención es un resultado de la formación de sal entre la lisina y los PUFAS. No se observa un aumento de estabilidad correspondiente para los PUFAS que permanecen como ácidos libres, o forman parte de un éster o una sal inorgánica, por ejemplo con Na^+ , K^+ , Ca^{2+} o Mg^{2+} .

- 5 Las composiciones que comprenden ácidos grasos omega-6 poliinsaturados que se pueden estabilizar contra la oxidación por el proceso de la presente invención pueden ser cualquier composición que contenga cantidades sustanciales de ácidos grasos omega-6 poliinsaturados libres. Dichas composiciones pueden comprender además otros ácidos grasos naturales en forma libre. Además, dichas composiciones pueden comprender
10 adicionalmente constituyentes que por sí mismos son sólidos, líquidos o gaseosos a temperatura ambiente y presión atmosférica estándar. Los constituyentes líquidos correspondientes incluyen constituyentes que pueden eliminarse fácilmente por evaporación y por lo tanto podrían considerarse como constituyentes volátiles así como constituyentes que son difíciles de eliminar por evaporación y por lo tanto podrían
15 considerarse como constituyentes no volátiles. En el presente contexto, los constituyentes gaseosos se consideran constituyentes volátiles. Constituyentes volátiles típicos son agua, alcoholes y dióxido de carbono supercrítico.

- Las composiciones que comprenden ácidos grasos omega-6 poliinsaturados que se pueden estabilizar contra la oxidación por el proceso de la presente invención pueden
20 obtenerse a partir de cualquier material fuente adecuado que, adicionalmente, pueda haber sido procesado por cualquier método adecuado de procesamiento de tal material fuente. Los materiales fuente típicos incluyen productos derivados de animales tales como huevos, pero en particular, material derivado de la fermentación microbiana, especialmente fúngica y/o por algas. Típicamente, dicho material, además, contiene cantidades sustanciales de
25 otros ácidos grasos naturales. Métodos típicos de procesamiento de tales materiales fuente pueden incluir etapas para obtener aceites crudos tales como extracción y separación del material fuente, así como etapas para refinar aceites crudos tales como sedimentación y desgomado, desacidificación, blanqueo y desodorización, y etapas adicionales para la producción de concentrados de PUFAS omega-6 a partir de aceites refinados tales como
30 desacidificación, transesterificación, concentración y desodorización (véase, por ejemplo, EFSA Scientific Opinion on Fish oil for Human Consumption sobre el aceite de pescado para el consumo humano). Cualquier procesamiento de materiales fuente puede incluir además etapas para transformar al menos parcialmente los ésteres de PUFAS omega-6 en los correspondientes PUFAS omega-6 libres o sales inorgánicas de los mismos.

- 35 Las composiciones preferidas que comprenden ácidos grasos omega-6 poliinsaturados que se pueden estabilizar contra la oxidación mediante el proceso de la presente invención pueden obtenerse a partir de composiciones que consisten principalmente en ésteres de ácidos grasos omega-6 y otros ácidos grasos naturales por escisión de los enlaces éster y subsiguiente eliminación de los alcoholes previamente unidos como ésteres.
40 Preferiblemente, la escisión de éster se lleva a cabo en condiciones básicas. Los métodos para la escisión de éster son bien conocidos en la técnica.

- En el contexto de la presente invención, las composiciones estabilizantes contra la oxidación significan que se incrementa la estabilidad de tales composiciones hacia la oxidación. Una medida para cuantificar la estabilidad de una composición hacia la
45 oxidación es el tiempo de inducción en una prueba Rancimat. Los protocolos para realizar el ensayo Rancimat son bien conocidos en la técnica y/o proporcionados por los fabricantes de instrumentos utilizados para realizar el ensayo Rancimat. Una medida alternativa para la estabilidad de una composición hacia la oxidación puede obtenerse como sigue: La estabilidad de dos o más muestras de cualquier composición o compuesto hacia la
50 oxidación puede compararse (1) midiendo inicialmente el grado de oxidación de las

- muestras, seguido por (2) someter las muestras a condiciones (oxidantes) comparables y (3) medir el grado de oxidación de las muestras posteriormente. La muestra con el menor incremento de su grado de oxidación presenta la mayor estabilidad frente a la oxidación en las condiciones dadas, mientras que la muestra con mayor incremento de su grado de oxidación presenta la menor estabilidad hacia la oxidación en las condiciones dadas. El aumento del grado de oxidación de una muestra puede expresarse en términos absolutos, es decir, como la diferencia de los valores obtenidos antes y después de someterse a condiciones oxidantes, o, alternativamente, el incremento puede expresarse en términos relativos, es decir, como la relación de los valores obtenidos antes y después de someterse a condiciones oxidantes. Evidentemente, una disminución del grado de oxidación resultante de la exposición a las condiciones de oxidación indica un nivel muy alto de estabilidad frente a la oxidación que debe ser interpretado como incluso más alto que el nivel de estabilidad de una muestra que produce un grado inalterado de oxidación como resultado de la exposición de la muestra a condiciones de oxidación comparables.
- En la técnica se conocen varias medidas para cuantificar el grado de oxidación de una muestra. En el sentido más amplio de la presente invención, se puede usar cualquiera de estas medidas. En realizaciones preferidas de la presente invención se utilizan una o más de las siguientes medidas para cuantificar el grado de oxidación: Valor de Peróxido (PV), Valor de Anisidina (AV), Valor de Totox. PV es una medida de los productos de oxidación primaria (formación de hidroperóxido en enlaces dobles) y AV es una medida de productos de degradación secundaria (compuestos de carbonilo). El valor Totox se calcula como $\text{Totox} = 2 \times \text{PV} + \text{AV}$ (en el que PV se especifica en miliequivalentes O_2 por kg de muestra). Los procesos para determinar el valor de peróxido (PV) y el valor de anisidina (AV) se han descrito en la bibliografía (ver por ejemplo Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, 6th Edition 2013, Edited by David Firestone, ISBN 978-1-893997-74-5, o, por ejemplo, PV se puede determinar según Ph. Eur. 2.5.5 (01/2008:20505), AV se puede determinar de acuerdo con Ph. Eur. 2.5.36 (01/2008: 20536)).

Un proceso de ejemplo para determinar el valor de peróxido (PV) de una muestra se realiza como sigue:

Reactivos y solución:

1. Solución de ácido acético-cloroformo (7.2 ml de ácido acético y 4.8 ml de cloroformo).
2. Solución saturada de yoduro de potasio. Guardar en la oscuridad.
3. Solución de tiosulfato de sodio, 0.1N. Comercialmente disponible.
4. Solución de almidón al 1 %. Comercialmente disponible.
5. Agua destilada o desionizada.

Proceso:

Realizar una determinación en blanco de los reactivos.

1. Pesar 2.00 (± 0.02) g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 100 ml con tapón de vidrio. Registrar el peso a los 0.01 g más cercanos.
2. Mediante una probeta, añadir 12 ml de la solución de ácido acético-cloroformo.
3. Rotar el frasco hasta que la muestra esté completamente disuelta (puede ser necesario

un calentamiento cuidadoso sobre una placa caliente).

4. Utilizando una pipeta Mohr de 1 ml, añadir 0.2 ml de solución saturada de yoduro de potasio.

5. Tapar el matraz y agitar el contenido del matraz durante exactamente un minuto.

5 6. Añadir de inmediato por cilindro graduado, 12 ml de agua destilada o desionizada, tapón y agitar vigorosamente para liberar el yodo de la capa de cloroformo.

7. Llene la bureta con tiosulfato de sodio 0.1N.

10 8. Si el color inicial de la solución es naranja rojo intenso, titular lentamente con mezcla hasta que el color se aclare. Si la solución es inicialmente de color ámbar claro, vaya al paso 9.

9. Utilizando un dispositivo dispensador, añadir 1 ml de solución de almidón como indicador.

10. Titular hasta que el color gris azul desaparezca en la fase acuosa (capa superior).

11. Registrar con precisión los ml de titulante utilizados con dos decimales.

15 Cálculo:

S = valoración de la muestra

B = titulación del blanco

Valor de peróxido = $(S - B) \cdot N \text{ tiosulfato} \cdot 1000 / \text{peso de la muestra}$

20 Un proceso de ejemplo para determinar el valor de anisidina (AV) de una muestra se lleva a cabo como sigue:

El valor de anisidina se define como 100 veces la densidad óptica medida en una celda de 1 cm de una solución que contiene 1 g de la sustancia por examinar en 100 ml de una mezcla de disolventes y reactivos de acuerdo con el método siguiente. Hay que llevar a cabo las operaciones lo más rápidamente posible, evitando la exposición a la luz actínica.

25 Solución de ensayo (a): Disolver 0.500 g de la sustancia por examinar en trimetilpentano y diluir hasta 25.0 ml con el mismo disolvente.

Solución de ensayo (b): A 5.0 ml de la solución de ensayo (a) se añade 1.0 ml de una solución de 2.5 g/l de p-anisidina en ácido acético glacial, se agita y se almacena protegida de la luz.

30 Solución de referencia: A 5.0 ml de trimetilpentano, añadir 1.0 ml de una solución de 2.5 g/l de p-anisidina en ácido acético glacial, agitar y almacenar protegida de la luz. Medir la absorbancia de la solución de ensayo (a) en el máximo a 350 nm usando trimetilpentano como líquido de compensación. Medir la absorbancia de la solución de ensayo (b) a 350 nm exactamente 10 minutos después de su preparación, utilizando la solución de
35 referencia como líquido de compensación. Calcular el valor de anisidina (AV) a partir de la expresión:

$$AV = (25 \cdot (1.2 \cdot A_1 - A_2)) / m$$

A1 = absorbancia de la solución de ensayo (b) a 350 nm,

A2 = absorbancia de la solución de ensayo (a) a 350 nm,

m = masa de la sustancia que debe examinarse en la solución problema (a), expresada en gramos.

- 5 Al comparar la estabilidad de las muestras con respecto a la oxidación mediante (1) medición del grado de oxidación, (2) someter a condiciones de oxidación, y (3) medir de nuevo el grado de oxidación en el contexto de la presente invención, preferiblemente el grado de oxidación La oxidación en las etapas (1) y (3) se determina determinando el valor de peróxido (PV) y/o el valor de anisidina (AV); además, preferiblemente, las condiciones
- 10 de oxidación en la etapa (2) se seleccionan de uno de los siguientes: almacenamiento en recipientes abiertos expuestos al aire a temperatura ambiente durante un período de tiempo definido de al menos diez días; Almacenamiento en recipientes abiertos expuestos al aire a 50°C durante un período de tiempo definido de al menos tres días.

- 15 En el contexto de la presente invención el aumento de la estabilidad de una composición hacia la oxidación mediante un proceso significa que al menos una medida que describe la estabilidad de una composición hacia la oxidación, por ejemplo al menos una medida como la descrita anteriormente, se incrementa después de que la composición se somete al proceso.

- 20 En el contexto de la presente invención, las composiciones de partida que comprenden al menos un componente ácido graso omega-6 poliinsaturado pueden ser cualquier composición que contenga cantidades sustanciales de al menos un componente ácido graso omega-6 poliinsaturado, en el que cada tipo (es decir, especies moleculares) de PUFA omega-3 libre (con "libre" se indica la presencia de una función de ácido carboxílico libre) constituye un componente de ácido graso omega-6 poliinsaturado diferente. Dichas
- 25 composiciones pueden comprender además otros ácidos grasos naturales en forma libre. Además, dichas composiciones pueden comprender adicionalmente constituyentes que por sí mismos son sólidos, líquidos o gaseosos a temperatura ambiente y presión atmosférica estándar. Los constituyentes líquidos correspondientes incluyen constituyentes que pueden eliminarse fácilmente por evaporación y por lo tanto podrían
- 30 considerarse como constituyentes volátiles así como constituyentes que son difíciles de eliminar por evaporación y por lo tanto podrían considerarse como constituyentes no volátiles. En el presente contexto, los constituyentes gaseosos se consideran constituyentes volátiles. Constituyentes volátiles típicos son agua, alcoholes y dióxido de carbono supercrítico.

- 35 Por consiguiente, las composiciones de partida típicas, sin tener en cuenta los constituyentes volátiles, tienen un PC de contenido de PUFAS (es decir, el contenido total de uno o más ácidos grasos omega-6 poliinsaturados libres) de al menos 15 % en peso, hasta 85 % en peso de otros ácidos grasos naturales en forma libre y hasta 5 % en peso de otros constituyentes que son sólidos o líquidos a temperatura ambiente y presión
- 40 atmosférica estándar. Sin embargo, se pueden obtener grados más altos de ácidos grasos poliinsaturados omega-6 por purificación de los respectivos materiales de partida. En una realización preferida de la presente invención, las composiciones de partida, sin tener en cuenta los constituyentes volátiles, tienen un PC de contenido de PUFAS (es decir, el contenido total de uno o más ácidos grasos omega-6 poliinsaturados libres) de al menos
- 45 30 % en peso, hasta 70 % en peso de otros ácidos grasos naturales en forma libre y hasta 5 % en peso de otros constituyentes que por sí sólidos o líquidos a temperatura ambiente y presión atmosférica estándar. En otra realización preferida de la presente invención, las composiciones de partida, sin tener en cuenta los constituyentes volátiles, tienen un PC de

contenido de PUFAS (es decir, el contenido total de uno o más ácidos grasos omega-6 poliinsaturados libres) de al menos 50 % en peso, hasta 50 % en peso de otros ácidos grasos naturales en forma libre y hasta 5 % en peso de otros constituyentes que son sólidos o líquidos a temperatura ambiente y presión atmosférica estándar. En otra realización preferida de la presente invención, las composiciones de partida, sin tener en cuenta constituyentes volátiles, tienen un PC de contenido de PUFAS (es decir, el contenido total de uno o más ácidos grasos omega-6 poliinsaturados libres) de al menos 75 % en peso, hasta 25 % en peso de otros ácidos grasos naturales en forma libre y hasta 5 % en peso de otros constituyentes que son sólidos o líquidos a temperatura ambiente y presión atmosférica estándar. En otra realización preferida de la presente invención, las composiciones de partida, sin tener en cuenta constituyentes volátiles, tienen un PC de contenido de PUFAS (es decir, el contenido total de uno o más ácidos grasos omega-6 poliinsaturados libres) de al menos 75 % en peso, hasta 25 % en peso de otros ácidos grasos naturales en forma libre y hasta 1 % en peso de otros constituyentes que son sólidos o líquidos a temperatura ambiente y presión atmosférica estándar.

La composición de lisina proporcionada en la etapa (ii) del proceso de la presente invención es una composición que comprende cantidades sustanciales de lisina libre (Lys). La composición de lisina puede comprender además constituyentes que por sí mismos son sólidos, líquidos o gaseosos a temperatura ambiente y presión atmosférica estándar. Los constituyentes líquidos correspondientes incluyen constituyentes que pueden eliminarse fácilmente por evaporación y por lo tanto podrían considerarse como constituyentes volátiles así como constituyentes que son difíciles de eliminar por evaporación y por lo tanto podrían considerarse como constituyentes no volátiles. En el presente contexto, los constituyentes gaseosos se consideran constituyentes volátiles. Constituyentes volátiles típicos son agua, alcoholes y dióxido de carbono supercrítico. Las composiciones de lisina típicas contienen al menos 95 % en peso, 97 % en peso, 98 % en peso, o 99 % en peso de lisina libre, sin tener en cuenta los constituyentes volátiles. Las composiciones de lisina preferidas contienen al menos 98 % en peso de lisina libre, sin tener en cuenta los constituyentes volátiles.

En las realizaciones preferidas de la presente invención, sin tener en cuenta los constituyentes volátiles, las composiciones de partida contienen principalmente PUFAs libres y otros ácidos grasos naturales en forma libre y las composiciones de lisina contienen en su mayor parte lisina libre, produciendo así composiciones de producto que consisten principalmente en sales de lisina con PUFAs y otros ácidos grasos naturales.

Por consiguiente, en las realizaciones preferidas de la presente invención, la composición de partida en la etapa (i) y la composición de lisina en la etapa (ii) se proporcionan de tal manera que al menos el % en peso de la composición del producto consiste en una o más sales de cationes derivados a partir de lisina con aniones derivados de uno o más ácidos grasos poliinsaturados omega-6 y otros ácidos grasos naturales, donde se selecciona entre 90, 95, 97, 98, 99, 100.

En la etapa (iii) del proceso de la presente invención se combinan la composición de partida y la composición de lisina. La combinación puede conseguirse por cualquier medio que permita la formación de una composición de producto que comprende al menos una sal de un catión derivado de la lisina con un anión derivado de un ácido graso omega-6 poliinsaturado. Por consiguiente, una manera típica de combinar la composición de partida y la composición de lisina sería mezclar soluciones acuosas, acuoso-alcohólicas o alcohólicas de cada una y separar el disolvente subsiguientemente. Alternativamente, dependiendo de los constituyentes restantes de composición de partida y composición de lisina, puede no ser necesario añadir disolventes pero podría ser suficiente para combinar la composición de partida y la composición de lisina directamente. En el contexto de la

presente invención, una forma preferida de combinar la composición de partida y la composición de lisina es mezclar soluciones acuosas, acuoso-alcohólicas o alcohólicas de cada una y separar el disolvente subsiguientemente.

5 En el contexto de la presente invención, un catión derivado de la lisina es un catión obtenido por protonación de lisina.

En el contexto de la presente invención, un anión derivado de un ácido graso omega-6 poliinsaturado es un anión obtenido por desprotonación de un ácido graso omega-6 poliinsaturado.

10 Debe observarse que las sales de lisina con ácidos grasos poliinsaturados *per se* eran conocidas en la técnica (véase EP 0734373 B1), sin embargo, era desconocido que dichas sales exhiben una mayor estabilidad frente a la degradación oxidativa en comparación con los PUFAS libres o ésteres de PUFAS.

15 En vista de la estabilidad intrínseca de las sales de lisina con PUFAS omega-6, no es necesario añadir cantidades sustanciales de antioxidantes a estas sales. Por consiguiente, en las realizaciones preferidas de la presente invención, la composición del producto obtenida en la etapa (iii) no contiene cantidades sustanciales de antioxidantes, en donde ninguna cantidad sustancial significa que esta composición contiene menos del 5 % en peso, 3 % en peso, 1 % en peso o 0.1 en peso de antioxidantes. En otras realizaciones preferidas, la composición del producto no contiene ningún antioxidante en absoluto. En 20 las realizaciones preferidas de la presente invención, la composición del producto no contiene cantidades sustanciales de antioxidantes, en donde ninguna cantidad sustancial significa que la composición del producto contiene menos del 5 % en peso, 3 % en peso, 1 % en peso, o 0.1 % en peso de antioxidantes y los antioxidantes se seleccionan entre vitamina C y sus ésteres, ácido eritórico y sus ésteres, vitamina E y sus ésteres, 25 polifenoles y ésteres de los mismos, carotinoides, galatos y ésteres de los mismos, hidroxianisol butilado y sus ésteres, hidroxitolueno butilado y ésteres de los mismos, aceite de romero, hexilresorcinol y sus ésteres. En otras realizaciones preferidas, la composición del producto no contiene ningún antioxidante en absoluto, en el que los antioxidantes se seleccionan de la vitamina C y sus ésteres, ácido eritórico y sus ésteres, vitamina E y sus 30 ésteres, polifenoles y ésteres de los mismos, carotinoides, galatos y ésteres butilados hidroxianisol y ésteres de los mismos, hidroxitolueno butilado y sus ésteres, aceite de romero, hexilresorcinol y sus ésteres.

35 De acuerdo con la invención, la composición del producto exhibe una mayor estabilidad hacia la oxidación que la composición de partida. Esto significa que al menos una medida que describe la estabilidad de una composición hacia la oxidación, por ejemplo al menos una medida como la descrita anteriormente, indica una mayor estabilidad hacia la oxidación para la composición del producto que para la composición de partida.

40 En realizaciones preferidas de la presente invención, se proporcionan funciones de ácido carboxílico libres y lisina en cantidades aproximadamente equimolares con el fin de facilitar la formación cuantitativa de sales. Por consiguiente, en una realización preferida en el proceso de la presente invención, la composición de lisina en la etapa (ii) se proporciona de tal manera que la relación $R = n(\text{ca})/n(\text{lys})$ de la cantidad de funciones de ácido carboxílico $n(\text{ca})$ en la composición de partida proporcionada en la etapa (i) y la cantidad total de lisina libre $n(\text{lys})$ en la composición de lisina proporcionada en la etapa (ii) está en 45 un intervalo seleccionado de $0.9 < R < 1.1$, $0.95 < R < 1.05$, $0.98 < R < 1.02$. En una realización particularmente preferida R está en el intervalo $0.98 < R < 1.02$. La cantidad de funciones de ácido carboxílico $n(\text{ca})$ en la composición de partida proporcionada en la etapa (i) se puede determinar mediante procesos analíticos estándar bien conocidos en la técnica, por

ejemplo titulación ácido-base.

En realizaciones preferidas de la presente invención, la composición de partida proporcionada en la etapa (i) no contiene cantidades sustanciales de ésteres de ácidos grasos, produciendo así una composición de producto carente de cantidades sustanciales de ésteres de ácidos grasos. Por consiguiente, en las realizaciones preferidas de la presente invención, la composición de partida proporcionada en la etapa (i) no contiene más de $x(\text{fe})$ % en peso de ésteres de ácidos grasos, produciendo así una composición de producto que comprende un máximo de $x(\text{fe})$ % en peso de ésteres de ácidos grasos, donde $x(\text{fe})$ se selecciona de 5, 3, 1, 0.3, 0. En realizaciones particularmente preferidas $x(\text{fe})$ es 1.

Como se ha indicado anteriormente, las sales de lisina con ácidos grasos poliinsaturados *per se* eran conocidas en la técnica (véase EP 0734373 B1), sin embargo, era desconocido que tales sales exhiben una mayor estabilidad frente a la degradación oxidativa en comparación con los PUFAs o ésteres PUFAs libres. Es importante destacar que, además, las sales de lisina-PUFAs se describieron como "aceites transparentes muy espesos, que se transforman en sólidos de aspecto y consistencia cerosos a bajas temperaturas" (véase EP 0734373 B1, página 1, líneas 47 a 48). Como resultado, una persona experta en la técnica no podría haber esperado que se pudieran obtener sales de lisina con PUFAs omega-6 mediante procesos de secado por pulverización. En cambio, una persona experta esperaría que tales sales (a) se deterioraran bajo condiciones de secado por pulverización debido a daño oxidativo bajo temperaturas elevadas en ausencia de cantidades sustanciales de disolventes, antioxidantes y recubrimientos protectores, y (b) aglomerar en grumos mecánicamente prohibitivos para el proceso de secado por aspersión en vista de la presunta aparición de tales sales como sólidos cerosos. Por lo tanto, es notable que, en el presente documento se encontró que las sales de lisina con PUFAs omega-6 se pueden obtener de hecho mediante secado por pulverización de una manera fácil. Siempre hay que adaptar las condiciones de secado por pulverización al equipo particular de secado por aspersión utilizado. Sin embargo, está bien dentro del alcance del trabajo de laboratorio rutinario de una persona experta en la técnica realizar tal adaptación en el presente caso.

Con el fin de realizar la etapa de secado por pulverización de acuerdo con el proceso de la presente invención, se utilizan soluciones acuosas, acuoso-alcohólicas o alcohólicas. Se encontró que las sales de Lys de los PUFAs se disolvían pobremente en disolventes alcohólicos puros. Se encontró, además, que tales sales exhiben aspecto similar a un gel cuando se disuelven a alta concentración en agua pura. Por tanto, se pueden emplear sistemas disolventes acuosos-alcohólicos para evitar tales problemas. Por consiguiente, en las realizaciones preferidas de la presente invención el disolvente de la mezcla sometida a condiciones de secado por pulverización es un sistema disolvente hidroalcohólico que contiene 20 % en peso a 90 % en peso de agua y 80 % en peso a 10 % en peso de disolventes alcohólicos.

El contenido de disolvente de la composición sólida del producto variará dependiendo de las condiciones de secado por pulverización y de los sustratos usados, sin embargo, se encontró que incluso a contenidos muy bajos de disolvente en la composición del producto sólido no ocurre daño oxidativo. Como se señaló más arriba, esto no podría haber sido esperado. Preferentemente, de este modo, de acuerdo con la presente invención, se obtiene una composición de producto sólido con un bajo contenido de disolvente. Por lo tanto, de acuerdo con la presente invención en la etapa (iii), las soluciones acuosas, acuoso-alcohólicas o alcohólicas de composición de partida y composición de lisina se mezclan primero y se someten subsiguientemente a condiciones de secado por pulverización, dando así una composición de producto sólido que comprende al menos una sal de un catión derivado de la lisina con un anión derivado de un ácido graso omega-6

poliinsaturado, con un contenido de disolvente SC seleccionado de entre los siguientes: SC <5 % en peso, SC <3 % en peso, SC <1 % en peso, SC <0.5 % en peso. En una realización particularmente preferida de la presente invención, SC se selecciona como SC <1 % en peso.

- 5 La presente invención, además, comprende composiciones obtenibles por cualquiera de los procesos de la invención.

La presente invención, además, comprende el uso de composiciones, que pueden obtenerse mediante cualquiera de los procesos de la invención, para la fabricación de productos alimenticios que comprenden ácidos grasos omega-6 poliinsaturados.

- 10 En el contexto de la presente invención, los productos alimenticios comprenden, pero no se limitan a productos horneados, suplementos vitamínicos, suplementos dietéticos, bebidas en polvo, masas, pastas, artículos alimenticios horneados que incluyen por ejemplo pasteles, pasteles de queso, tartas, magdalenas, galletas, barras, panes, rollos, galletas, panecillos, hojaldres, bizcochitos y picatostes; productos alimenticios líquidos;
- 15 bebidas, bebidas energéticas, preparados para lactantes, comidas líquidas, jugos de frutas, jarabes multivitamínicos, sustitutos de comidas, alimentos medicinales y jarabes; productos alimenticios semisólidos tales como alimentos para bebés, yogur, queso, cereales, mezclas de panqueques; barras alimentarias incluyendo barras energéticas; carnes procesadas; helados; postres congelados; yogures congelados; mezclas de gofres; aderezos para ensaladas; y mezclas de huevos de sustitución; galletas, galletas saladas, dulces, bocadillos, pasteles, granola/bocadillos y pastelería tostadora; bocadillos salados tales como patatas fritas, virutas del maíz, virutas de tortilla, bocados extruidos, palomitas, pretzels, patatas fritas, y nueces; aperitivos especiales tales como salsas, bocadillos de frutas secas, bocadillos de carne, cortezas de cerdo, barras de comida saludable y pasteles
- 20 de arroz/maíz; aperitivos de confitería como dulces; productos alimenticios instantáneos, tales como fideos instantáneos, cubos de sopa instantánea o granulados.

La presente invención, además, comprende el uso de composiciones, obtenibles mediante cualquiera de los procesos de la invención, para la fabricación de productos nutricionales que comprenden ácidos grasos omega-6 poliinsaturados.

- 30 En el contexto de la presente invención, los productos nutricionales comprenden cualquier tipo de suplemento nutracéutico, nutriente o dietético, por ejemplo para complementar vitaminas, minerales, fibra, ácidos grasos o aminoácidos.

- La presente invención, además, comprende el uso de composiciones, que pueden obtenerse mediante cualquiera de los procesos de la invención, para la fabricación de
- 35 productos farmacéuticos que comprenden ácidos grasos omega-6 poliinsaturados.

Los procesos preferidos de la presente invención se caracterizan por una de las siguientes selecciones:

- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 5$; PC = 15; SC < 1 % en peso
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 3$; PC = 15; SC < 1 % en peso
- 40 • $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 2$; PC = 15; SC < 1 % en peso
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 1$; PC = 15; SC < 1 % en peso
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 5$; PC = 15; SC < 1 % en peso

- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 3$; PC = 15; SC < 1 % en peso
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 2$; PC = 15; SC < 1 % en peso
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 1$; PC = 15; SC < 1 % en peso
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 5$; PC = 15; SC < 1 % en peso
- 5 • $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 3$; PC = 15; SC < 1 % en peso
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 2$; PC = 15; SC < 1 % en peso
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 1$; PC = 15; SC < 1 % en peso

- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 5$; PC = 30; SC < 1 % en peso
- 10 • $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 3$; PC = 30; SC < 1 % en peso
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 2$; PC = 30; SC < 1 % en peso
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 1$; PC = 30; SC < 1 % en peso
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 5$; PC = 30; SC < 1 % en peso
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 3$; PC = 30; SC < 1 % en peso
- 15 • $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 2$; PC = 30; SC < 1 % en peso
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 1$; PC = 30; SC < 1 % en peso
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 5$; PC = 30; SC < 1 % en peso
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 3$; PC = 30; SC < 1 % en peso
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 2$; PC = 30; SC < 1 % en peso
- 20 • $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 1$; PC = 30; SC < 1 % en peso

- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 5$; PC = 50; SC < 1 % en peso
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 3$; PC = 50; SC < 1 % en peso
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 2$; PC = 50; SC < 1 % en peso
- 25 • $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 1$; PC = 50; SC < 1 % en peso
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 5$; PC = 50; SC < 1 % en peso
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 3$; PC = 50; SC < 1 % en peso
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 2$; PC = 50; SC < 1 % en peso

- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 1$; PC = 50; SC < 1 % en peso
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 5$; PC = 50; SC < 1 % en peso
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 3$; PC = 50; SC < 1 % en peso
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 2$; PC = 50; SC < 1 % en peso
- 5 • $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 1$; PC = 50; SC < 1 % en peso
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 5$; PC = 75; SC < 1 % en peso
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 3$; PC = 75; SC < 1 % en peso
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 2$; PC = 75; SC < 1 % en peso
- 10 • $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 1$; PC = 75; SC < 1 % en peso
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 5$; PC = 75; SC < 1 % en peso
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 3$; PC = 75; SC < 1 % en peso
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 2$; PC = 75; SC < 1 % en peso
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 1$; PC = 75; SC < 1 % en peso
- 15 • $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 5$; PC = 75; SC < 1 % en peso
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 3$; PC = 75; SC < 1 % en peso
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 2$; PC = 75; SC < 1 % en peso
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 1$; PC = 75; SC < 1 % en peso

20 Las composiciones preferidas obtenibles mediante un proceso de la invención que utiliza el secado por pulverización en la etapa (iii) como se divulga en la especificación se caracterizan por una de las siguientes selecciones:

- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 1$, SC < 3 % en peso, sp = 90
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 1$, SC < 3 % en peso, sp = 95
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 3$, SC < 3 % en peso, sp = 90
- 25 • $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 3$, SC < 3 % en peso, sp = 95
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 1$, SC < 3 % en peso, sp = 90
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 1$, SC < 3 % en peso, sp = 95
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 3$, SC < 3 % en peso, sp = 90
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 3$, SC < 3 % en peso, sp = 95

- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 1$, $\text{SC} < 3 \%$ en peso, $\text{sp} = 95$
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 1$, $\text{SC} < 3 \%$ en peso, $\text{sp} = 97$
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 3$, $\text{SC} < 3 \%$ en peso, $\text{sp} = 95$
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 3$, $\text{SC} < 3 \%$ en peso, $\text{sp} = 97$

5

- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 1$, $\text{SC} < 1 \%$ en peso, $\text{sp} = 90$
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 1$, $\text{SC} < 1 \%$ en peso, $\text{sp} = 95$
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 3$, $\text{SC} < 1 \%$ en peso, $\text{sp} = 90$
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 3$, $\text{SC} < 1 \%$ en peso, $\text{sp} = 95$

10

- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 1$, $\text{SC} < 1 \%$ en peso, $\text{sp} = 90$
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 1$, $\text{SC} < 1 \%$ en peso, $\text{sp} = 95$
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 3$, $\text{SC} < 1 \%$ en peso, $\text{sp} = 90$
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 3$, $\text{SC} < 1 \%$ en peso, $\text{sp} = 95$

15

- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 1$, $\text{SC} < 1 \%$ en peso, $\text{sp} = 97$
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 3$, $\text{SC} < 1 \%$ en peso, $\text{sp} = 95$
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 3$, $\text{SC} < 1 \%$ en peso, $\text{sp} = 97$

- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 1$, $\text{SC} < 0.5 \%$ en peso, $\text{sp} = 90$

20

- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 1$, $\text{SC} < 0.5 \%$ en peso, $\text{sp} = 95$
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 3$, $\text{SC} < 0.5 \%$ en peso, $\text{sp} = 90$
- $0.90 < R < 1.10$, $x(\text{fe}) = 3$, $\text{SC} < 0.5 \%$ en peso, $\text{sp} = 95$
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 1$, $\text{SC} < 0.5 \%$ en peso, $\text{sp} = 90$
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 1$, $\text{SC} < 0.5 \%$ en peso, $\text{sp} = 95$

25

- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 3$, $\text{SC} < 0.5 \%$ en peso, $\text{sp} = 90$
- $0.95 < R < 1.05$, $x(\text{fe}) = 3$, $\text{SC} < 0.5 \%$ en peso, $\text{sp} = 95$
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 1$, $\text{SC} < 0.5 \%$ en peso, $\text{sp} = 95$
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{fe}) = 1$, $\text{SC} < 0.5 \%$ en peso, $\text{sp} = 97$

- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{Fe}) = 3$, $\text{SC} < 0.5 \%$ en peso, $\text{sp} = 95$
- $0.98 < R < 1.02$, $x(\text{Fe}) = 3$, $\text{SC} < 0.5 \%$ en peso, $\text{sp} = 97$

Experimentos

Métodos analíticos:

- 5 Los productos de oxidación primaria (hidroperóxidos en doble enlace) se cuantificaron determinando el Valor de Peróxido (PV) según Ph. Eur. 2.5.5 (01/2008:20505). Los productos de oxidación secundarios (compuestos de carbonilo) se cuantificaron determinando el valor de anisidina (AV) según Ph. Eur. 2.5.36 (01/2008:20536).
- 10 Los componentes oligoméricos de PUFAS así como sus derivados (denominados colectivamente como contenido de oligómeros) se cuantificaron mediante medios cromatográficos en gel (GPC, fase de estildil-benceno con tetrahidrofurano que contenía ácido trifluoroacético utilizado como eluyente). Se utilizó un detector de índice de refracción (RI) para la detección. Debido al hecho de que los factores de respuesta específicos de los
- 15 constituyentes de las muestras eran desconocidos, las proporciones se calcularon sobre la base de proporciones fraccionarias del área total de los cromatogramas.

El contenido de agua se determinó por titulación de Karl-Fischer.

El contenido en etanol se determinó por espectroscopia de RMN- ^1H .

Los valores de ácido se determinaron por titulación con hidróxido de potasio.

- 20 Experimento 1: Ácido araquidónico (ARA) a partir de éster de glicerina de ácido araquidónico

- Se colocaron 500 g de éster de glicerina de ácido araquidónico (comercialmente disponible, de calidad estándar) con un contenido de ARA del 44.8 % en peso de un Valor de Anisidina de 8.1 A/g y un Valor de Peróxido de 4.0 mmol/ en un matraz de 3 L (hecho inerte con nitrógeno) y se diluye con 500 ml de etanol. Se añadieron 175 g de solución de NaOH (50 %)
- 25 y 250 ml de agua y la solución resultante se agitó durante 30 min a 30 °C – 50 °C. Posteriormente, la mezcla de reacción se diluyó con 1250 ml de agua y se añadieron después 175 ml de ácido sulfúrico al 50 % en peso. Las fases se separaron después de 10 min de agitación subsiguiente y la fase del producto se lavó 3 veces con 125 ml de agua cada una y luego 125 ml de solución acuosa de sulfato de sodio al 10 % en peso. Se
- 30 obtuvieron 475 g de ácido araquidónico como un aceite con un Valor de Anisidina de 4.2 A/g y un Valor de Peróxido de 7.2 mmol/kg. No se determinó el contenido de oligómero.

Experimento 2: ácido gamma-Linolénico (GLA) a partir del éster etílico del ácido gamma-linolénico

- 35 Se colocaron 500 g de éster etílico de ácido gamma-linolénico (comercialmente disponible, de calidad estándar) con una pureza GC de 99.2 %, un Valor de Anisidina de 19.1 A/g y un Valor de Peróxido de 52.1 mmol/ml en un matraz de 3 L (hecho inerte con nitrógeno) y se diluyó con 500 ml de etanol. Se añadieron 170 g de solución de NaOH (50 %) y 250 ml de agua y la solución resultante se agitó durante 30 min a 30 °C - 50 °C. Posteriormente, la
- 40 mezcla de reacción se diluyó con 1250 ml de agua y se añadieron después 175 ml de ácido sulfúrico al 50 % en peso. Las fases se separaron después de 10 min de agitación subsiguiente y la fase del producto se lavó 3 veces con 125 ml de agua cada una y luego 125 ml de solución acuosa de sulfato de sodio al 10 % en peso. Se obtuvieron 500 g de

ácido gamma-linolénico como un aceite con un Valor de Anisidina de 7.6 A/g y un Valor de Peróxido de 5.6 mmol/kg. El contenido de oligómero se determinó como 0.3 % en área (cromatografía en gel, detector RI).

5 Experimento 3: Sal de ácido araquidónico-L-lisina (ARA-Lys) a partir de ácido araquidónico (ARA) y L-lisina) (L-Lys)

Se disolvieron 70.0 g de ácido araquidónico del experimento 1, que presentaba un valor de acidez de 187 mg KOH/g tras titulación, en 70.0 g de etanol y se combinaron con 34.2 g de una solución acuosa de L-lisina (51.3 %). La solución homogénea obtenida después de calentar a 40-50 °C se secó por pulverización con un secador de pulverización de laboratorio Büchi B190 con una temperatura de entrada de 140 °C y una temperatura de salida de 80 °C. Se obtuvieron 81.2 g de un polvo beige con un contenido de agua de 0.62 % y un contenido de etanol de <0.1 %. La sal exhibió un Valor de Anisidina de 1 A/g y un Valor de Peróxido de <1 mmol/kg. El contenido de oligómero se determinó como 1.1 % en área (cromatografía en gel, detector RI).

15 Experimento 4: sal de ácido gamma-linolénico-L-lisina (GLA-Lys) a partir de ácido gamma-linolénico (GLA) y L-lisina) (L-Lys)

70.0 g de ácido gamma-linolénico del experimento 2, que presentaba un valor de acidez de 137.6 mg de KOH/g tras la titulación, se disolvieron en 70.0 g de etanol y se combinaron con 25.1 g de una solución acuosa de L-lisina (51.3 %). La solución homogénea obtenida después de calentar a 40-50 °C se secó por pulverización con un secador de pulverización de laboratorio Büchi B190 con una temperatura de entrada de 140 °C y una temperatura de salida de 80 °C. Se obtuvieron 47.9 g de un polvo beige con un contenido de agua de 1.13 % y un contenido de etanol de < 0.1 %. La sal exhibió un Valor de Anisidina de 5.4 A/g y un Valor de Peróxido de 1.0 mmol/kg. El contenido de oligómero se determinó como 0.6 % en área (cromatografía en gel, detector RI).

Experimento 5: Examen de la estabilidad del ácido araquidónico y del ácido gamma-linolénico y sus derivados en cuanto al almacenamiento a temperatura elevada (50 °C) y exposición al aire.

30 Se depositaron 30 g de cada uno del éster de glicerina de ácido etil-araquidónico líquido y el éster etílico de ácido gamma-linolénico usado en los experimentos 1 y 2, así como de los ácidos araquidónicos y el ácido gamma-linolénico obtenido en los experimentos 1 y 2 en botellas de vidrio Schott Duran de 500 ml.

Se depositaron aproximadamente 30 g de cada una de las sales de lisina sólidas ARA-Lys y GLA-Lys obtenidas en los experimentos 3 y 4 en botellas de vidrio Schott Duran.

35 Todas las botellas se colocaron junto con sus tapas abiertas en un horno de secado con una válvula de ventilación abierta a 50°C y se almacenaron en la oscuridad bajo estas condiciones durante 81 días. Los resultados de los análisis realizados posteriormente, se resumen en la siguiente tabla (Tabla 1).

Tabla 1			
	Experimento	Valor de Anisidina (AV) [A/g]	Valor de Peróxido (PV) [mmol/kg]

		t = 0	t = 81 days	t = 0	t = 81 días
ARA-glicérido	1 – material de partida	8.1	240	4.0	46.8
GLA-OEt	2 - material de partida	19.1	1237	52.1	86.3
ARA-OH	1	4.2	211	7.2	5.8
GLA-OH	2	7.6	137	5.6	1.3
ARA-Lys	3	1	< 1	< 1	< 1
GLA-Lys	4	5.4	< 1	1.0	< 1