



REGISTRO DE LA
PROPIEDAD INDUSTRIAL

ESPAÑA

①① N.º de publicación: ES 2 002 056

②① Número de solicitud: 8602850

⑤① Int. Cl.⁴: C11B 1/10,
C07K 3/02,
C07H 1/06,
C07H 19/00

⑫

PATENTE DE INVENCION

A6

②② Fecha de presentación: **31.10.86**

③① Prioridad: **31.10.85 US 793622**

④⑤ Fecha de anuncio de la concesión: **01.07.88**

④⑥ Fecha de publicación del folleto de patente:
01.07.88

⑦③ Titular/es: **Angio-Medical Corporation.**
1345 Avenue Of The Americas - New York,
New York 10105, US

⑦② Inventor/es: **Kamarei, Ahmad Reza**

⑦④ Agente: **Gomez-Acebo Pombo, J. Miguel**

⑤④ Título: **Procedimiento para la obtención de componentes a partir de material animal.**

⑤⑦ Resumen:
Procedimiento para la obtención de componentes a partir de material animal tal como tejidos, células y órganos animales, comprende poner en contacto dicho material con un fluido, supercrítico (SCF), bajo condiciones que favorezcan la extracción de dichos componentes. Variando la selección de SCF, condiciones experimentales y material de origen animal, se pueden obtener lípidos, proteínas, nucleótidos, sacáridos y otros componentes deseables, o bien separar componentes indeseables.

DESCRIPCION

Esta invención se relaciona con el campo de la extracción de materiales deseados a partir de componentes complejos de los cuales constituye parte el material deseado. En particular, la invención se relaciona con la referida extracción por medio de fluidos supercríticos o subcríticos. Estos fluidos se utilizan para extraer materiales deseados a partir de tejidos, células y órganos animales.

Los fluidos supercríticos (SCF) han sido y continúan siendo un objeto de atención. De manera resumida, un fluido supercrítico puede definirse como un gas, sometido a temperaturas y presiones por encima de los límites conocidos como presión crítica (P_c), y temperatura crítica (T_c). Por encima de estos puntos, los SCF presentan propiedades diferentes a las que exhiben en estado gaseoso. La figura 1 muestra un gráfico de las condiciones supercríticas para un gas, CO_2 . Se necesitan condiciones diferentes para formar otros fluidos supercríticos, tal y como puede apreciarse, por ejemplo, en la tabla 7, *infra*.

Una propiedad habitual de los SCF, reside en el superior poder de solvatación. Es sabido que, a temperaturas y presiones por encima de P_c y T_c , los SCF extraen materiales que de otro modo únicamente pueden ser separados por medios tóxicos, prohibitivamente costosos o ineficientes. Por ejemplo, han sido utilizados varios disolventes químicos, tales como cloroformo y metanol. Si bien el empleo de estos productos ha proporcionado de hecho buenos resultados, el problema ha sido y continúa siendo los residuos del disolvente que son tóxicos *per se* o que son promotores de enfermedades (por ejemplo, pueden ser cancerígenos).

La extracción con SCF ha sido particularmente útil a la hora de obtener componentes aromáticos y lípidos a partir de tejidos vegetales. Por ejemplo, la industria del aceite confía en gran medida en procesos por los cuales pueden separarse aceites vegetales, tales como aceites de soja, algodón y maíz, de sus componentes vegetales. La industria del café utiliza procesos supercríticos para separar cafeína del café y la extracción de sazonantes utilizando SCF ha sido aplicada, por ejemplo, a lúpulo, vegetales, frutas (limones) y especias. Como cabría esperar a partir del uso de los SCF como extractantes de sazonantes, igualmente han sido utilizados para extraer aromas.

Es importante observar que, si bien los SCF han sido y continúan siendo utilizados en gran medida para la extracción de vegetales y semillas, hasta ahora no ha sido utilizado el proceso para la extracción de componentes a partir de materiales animales, tales como órganos, tejidos o células.

Por tanto, resulta conveniente poder disponer de un método eficaz de extracción para tejidos animales, como consecuencia de la utilidad del material obtenido. Así, en el campo de moléculas conteniendo lípidos, los tejidos animales contienen factores angiogénicos, hormonas, féculas reguladoras y similares. Los órganos ricos en lípidos, tales como hígado, cerebro, riñón y tejidos epiteliales, son fuentes ricas de productos necesarios y ventajosamente biológicos. Hasta el presente, no ha podido disponerse de un método de extracción de este tipo, por medio del empleo de procesos supercríticos.

Por tanto, un objeto de la presente invención es proporcionar un método de obtención de componentes deseados a partir de tejidos, células y órganos animales, empleando fluidos supercríticos.

Un objeto más de la invención es obtener materiales complejos y simples, conteniendo lípidos, derivados de animales, mediante procesos supercríticos.

Otro objeto de la invención es obtener materiales conteniendo aminoácidos, nucleóticos, sacáridos, así como otras moléculas, utilizando procesos supercríticos.

La forma en la cual éstos y otros objetos de la invención son conseguidos podrá ser apreciada a partir de la siguiente descripción.

La extracción con gases supercríticos y es conocida en la técnica desde hace bastante tiempo. Sin embargo, sus aplicaciones han quedado limitadas a su empleo en tejidos vegetales. Stahl, et al., *Agricultural and Food Chemistry* 28: 1153-1157 (1980), describe la extracción de aceites de semillas (por ejemplo, aceite de soja) empleando CO_2 supercrítico. Las presiones descritas oscilan entre 350 y 700 bares y las temperaturas entre 20 y $40^\circ C$. Mediante el proceso y en las condiciones ofrecidas *supra*, únicamente se extraen soja, girasol y colza. En *Chemistry and Industry* (19 Junio 1982), pp. 399-402, Calame et al, describen el aislamiento de extractos de aromas y sazonantes, empleando CO_2 supercrítico. La extracción queda limitada a lilas ($34^\circ C$, 90 bares); cáscara de limón ($40^\circ C$, 300 bares); pimienta negra ($60^\circ C$, presión variable); y almendras ($40^\circ C$, 600 bares). Cabe mencionar, que Calmane et al establecen que la técnica presenta campo para su desarrollo (página 401).

El *Federal Register*, 48: 57269 (N° 251, 29 Diciembre 1983), resalta la afirmación de la Food and Drug Administration (FDA) en el sentido de que CO₂, N₂, He, C₃H₈, C₄H₁₀, iso-C₄H₁₀ y N₂O son ingredientes seguros para consumo humano. Este informe llega a indicar que la FDA considerará, en una fecha posterior, la regulación de normas referentes a CO₂ supercrítico.

Otras aplicaciones del CO₂ supercrítico se ofrecen en Vollbrecht, *Chemistry and Industry* 19: 397399 (junio, 1982) (extracción de lúpulo, no se ofrecen datos de presión ni de temperatura); Friedrich, et al, *JAOCS* 59(7): 288-282 (1982) (dojs, se emplea hexano o CO₂); Fillipi, *Chemistry and Industry* 19: 390-394 (Junio 1982) (propiedades disolventes del CO₂; no se describe extracción); Johnson, *Food Engineering News* (pp. 1, 8-10,15) (Nov. 1983), (extracción de aceite de algodón); Friedrich, et al *JAOCS*: 61(2) 223-228 (extracción de soja); Bulley, et al *JAOCS* 61:8: 1362-1365 (Agosto, 1984) (extracción de canela); Christianson, et al., *J. Food Sci* 49: 229-232 (1984) (extracción de germen de maíz); Snyder, et al *JAOCS* 61 (12) (Diciembre 1984) (extracción de soja); Friedrich, et al, *J. Agr. & Food Chem* (Enero-Febrero 1982) pp. 192-193 (extracción de soja). Igualmente, han sido concebidas patentes en particular en relación con la extracción supercrítica de granos de café. A este respecto, véase *Jasovsky, et al, Patente US 4.255.461* (60-100°C, 200 atm); *Roselius, et al, US. 4.255.458* (CO₂, N₂O, SF₆, Xe, CF₄, CH₄, C₂H₆, C₂H₄, ciclo-C₃H₈, 50-300 bares presión); *Margolis, et al, US 4.251.559* (70-92°C, 175-600 bares); *Zasel, US. 4.247.570* descafeinado, 32°C-140°C, 75-350 atm).

Han sido concebidas dos patentes USA respecto al empleo de gas supercrítico aplicado a tejidos animales. *Schneider, et al.*, en *U.S. 4.280.961*, describen un procedimiento por el cual las grasas animales son separadas de la carne mediante productos tales como despojos, grasas de despojos y similares. El método se aplica, por ejemplo, a la extracción de un material purificado de tipo sebo o manteca, pero no menciona lípidos o materiales conteniendo lípidos, purificados. Como es conocido en la técnica, aunque las grasas contienen lípidos, estos dos materiales no son equivalentes. Schneider no ofrece parámetro alguno respecto a la extracción.

Friedrich, U.S. 4.466.923 describe la aplicación de temperaturas superiores a 60°C y de presiones superiores a 550 bares para obtener lípidos a partir de materiales conteniendo lípidos. Sin embargo, los únicos ejemplos ofrecidos se refieren a semillas vegetales. En las gamas de presión y temperatura especificadas, el experto en la materia podría esperar la desintegración de los materiales animales más delicados.

En consecuencia, la técnica no revela enseñanza o sugerencia alguna de que la extracción con gases supercríticos pueda ser utilizada para obtener materiales convenientes conteniendo lípidos, a partir de tejidos, células y órganos animales. Tal y como demuestra el ejemplo ofrecido en la siguiente descripción detallada de las modalidades preferidas, ésto es posible ahora.

Figura 1

Es un gráfico de los cambios de fase en un gas (CO₂), junto con una descripción de las condiciones en las cuales el gas se convierte en un fluido supercrítico (SCF).

Figura 2

Ilustra un ejemplo de un aparato de extracción para utilizarse en la extracción de materiales deseados a partir de productos de origen animal.

Se eligieron seis muestras para análisis: homogenados de tejido adiposo porcino, omento porcino y omento bovino, así como extractos "CMFr" de cada uno de éstos.

Las muestras de homogenado fueron preparadas por adición de agua destilada en el doble del volumen del tejido. La homogeneización se llevó a cabo por centrifugado (22.00 rpm durante 90 segundos), seguido por liofilización durante la noche. Se prepararon muestras de la fracción de cloroformo-metanol (CMFr) añadiendo 4 veces el volumen de solución de salina tamponada con fosfato (PBS), con homogeneización y centrifugado como se ha detallado *supra*. Se obtiene así una torta de lípido que es recuperada y extractada entonces con 10 veces el volumen del disolvente cloroformo/metanol (2:1, v/v). A continuación se efectúa centrifugado y evaporación del disolvente, con recuperación de la parte sobrenadante, viscosa, filtrada.

Se utiliza una unidad de desarrollo del proceso (PDU) como se ilustra en la figura 2. De forma

resumida, la PDU consiste en un extractor y en 3 separadores, que están alojados en un horno a una temperatura predeterminada. Un disolvente supercrítico, en este caso CO₂, es bombeado al interior del extractor (101) y luego fluye, en secuencia, a través de los separadores (102, 103, 104) y recipiente de “descarga” (105). La presión es mantenida mediante los reguladores de retro-presión (106-109). El gas, por ejemplo, CO₂, a presión atmosférica aproximadamente normal, sale de la ventilación (110) una vez terminada la extracción.

Ejemplo 1

Se fundieron muestras en un horno separado, purgado con nitrógeno, a 40°C aproximadamente, y luego se transfirieron al extractor (101). Los recipientes (102-104) fueron purgados con CO₂, a baja presión y luego se llevaron a las temperaturas y presiones indicadas en las tablas 1-6. El CO₂ fue bombeado entonces a una velocidad de 136 g/minuto a través del sistema hasta bombearse un peso de aproximadamente 200 veces el peso de las muestras. Se sangró la presión y las muestras de cada uno de los recipientes y del extractor se separaron, se pesaron y se analizaron.

En estos experimentos, pudo observarse que cerca y por encima del punto crítico del CO₂ empleado, aumentó el poder de disolución a medida que incrementaba la temperatura, a densidad constante y con densidad incrementada a temperatura constante. Por ejemplo, una porción de la muestra, disuelta en el extractor a 245 kg/cm² relativos, precipita a 105 kg/cm² relativos en los primeros recipientes separadores. Las reducciones adicionales de la presión/densidad causan la precipitación de otras fracciones hasta que, a presión ambiente, el gas supercrítico no contiene material disuelto.

Los residuos obtenidos del extractor resultaron ser insolubles en CO₂. Tal y como se esperó, las porciones polares del material, tal como gangliósidos, permanecieron en la fracción, al mismo tiempo que las fracciones extractadas eran ricas en componentes reñutos no polares. Esto ha podido confirmarse dado que el residuo insoluble resultó contener materiales polares, tal como gangliósidos, mientras que en los extractos se encontraron materiales no polares, tales como triglicéridos.

Aunque en esta modalidad se utiliza un solo extractor, 3 separadores y recipientes de recogida y un recipiente de descarga, los expertos en la materia podrán reconocer que el número y combinaciones de cada uno de éstos constituirá una materia de selección en cuanto a diseño de la instalación.

POLAR NO POLAR

TABLA I

Material: Tejidos adiposos porcinos homogenizados.

Condiciones

Peso muestra carga:	131,3 gm.
Disolvente supercrítico:	CO ₂
Disolvente recirculado:	26,2 kg.
Relación disolvente/alimentación:	200/1
Velocidad flujo disolvente:	136 g/min.

	Extractor	Separador 1	Separador 2	Separador 3	V5
Temperatura (°C)	38-39	40	37	33	—
Presión (kg/cm ² relativos)	245	105	91	77	0,35
Densidad (g/cc)	0,87	0,69	0,62	0,26	

Balance de Materiales

5	Total recuperado (gramo):	99,1				
	% recuperación:	75,5				
		V9	V8	V7	V6	V5
		7,7 liq.				
	Peso (gramos)	18,7 sólido	63,9	5,3	1,3	2,2
10	Peso (% de alimentación)	5,9 liq.				
		14,2 sólido	48,7	4,0	1,0	1,7

* Comentarios: los sólidos V9 eran similares al tejido y de color crema.

15

TABLA II

Material: Extracto CMFr de tejido adiposo porcino.

20

Condiciones

Peso muestra cargada:	106,5 GM.
Disolvente supercrítico:	CO ₂
Disolvente recirculado:	21,2 kg.
Relación disolvente/alimentación:	200/1.
Velocidad flujo disolvente:	136 g/min.

25

30

	Extractor	Separador 1	Separador 2	Separador 3	V5
Temperatura (°C)	38-39	40	37	33	–
Presión (kg/cm ² relativos)	245	105	91	77	0,35
Densidad (g/cc)	0,87	0,69	0,62	0,26 6	

35

40

Balance de Materiales

45	Total recuperado (gramo):	81,6				
	% recuperación:	76,6				
		V9	V8	V7	*V6	*V5
50	Peso (gramos)	11,4	58,5	10,0	0,7	1,0
	Peso (% de alimentación)	10,7	54,9	9,4	0,7	0,9

55

*Comentarios: V9 muy viscoso, color blanquecino. *Lavado del recipiente con hexano, evaporado, pero puede ser residual.

60

2 002 056

TABLA III

Material: Omento porcino homogenizado.

Condiciones

5

Peso muestra cargada:	109,6 gm.
Disolvente supercrítico:	CO ₂
Disolvente recirculado:	21,9 kg.
Relación disolvente/alimentación:	200/1
Velocidad flujo disolvente:	136 g/min.

10

15

	Extractor	Separador 1	Separador 2	Separador 3	V5
Temperatura (°C)	38-39	40	37	34	–
Presión (kg/cm ² relativos)	245	105	91	77	0,35
Densidad (g/cc)	0,87	0,69	0,62	0,26	

20

25

Balance de Materiales

30

Total recuperado (gramo):	82,3				
% recuperación:	75,1				
	V9	V8	*V7	V6	V5
Peso (gramos)	36,7 sólido	38,6	1,2	4,1	1,7
Peso (% de ali- mentación)	33,5	35,2	1,1	3,7	1,6

35

40

*Comentarios: Sólidos V9 similares al tejido

Sólidos V8 blancos, limpios, funden a 45°C aproximadamente.

*Lavado del recipiente con hexano, evaporado, pero puede ser residual.

45

TABLA IV

Material: CMFr omental porcino.

Condiciones

50

Peso muestra cargada:	154,3 gr.
Disolvente supercrítico:	CO ₂
Disolvente reticulado:	30,8 kg.
Relación disolvente/alimentación:	200/1
Velocidad flujo disolvente:	136 g/min.

55

60

2 002 056

	Extractor	Separador 1	Separador 2	Separador 3	V5
5 Temperatura (°C)	38-39	40	40	35	–
10 Presión (kg/cm ² relativos)	245	105	91	77	0,35-0,70
Densidad (g/cc)	0,87	0,69	0,50	0,25	

Balace de Materiales

15 Total recuperado (gamos):	124,9				
% recuperación:	80,9				
	*V9	V8	V7	V6	V5
20 Peso (gramos)	7,0	97,7	12,6	7,6	0,0
Peso (% de ali- mentación)	4,5	63,3	8,2	4,9	0

25 *Comentarios:

*Lavado del recipiente con hexano, evaporado, pero puede ser residual.

TABLA V

Material: Omento bovino homogenizado.

Condiciones

35 Peso muestra cargada:	114,9 g.
Disolvente supercrítico:	CO ₂
Disolvente reticulado:	22,9 kg.
40 Relación disolvente/alimentación:	200/1
Velocidad flujo disolvente:	136 g/min.

	Extractor	Separador 1	Separador 2	Separador 3	V5
45 Temperatura (°C)	38-39	40	40	35	–
50 Presión (kg/cm ² relativos)	245	105	91	77	0,35-0,70
Densidad (g/cc)	0,87	0,69	0,50	0,25	

Balance de Materiales

5	Total recuperado(gramos):	83,4				
	% de recuperación:	72,6				
		V9	V8	V7	V6	V5
	Peso (gramos)	31,4				
10		6,2	28,3	5,2	12,3	0
	Peso (% de ali-	27,3				
	mentación)	5,4	24,6	4,5	10,7	–

TABLA VI

*Material: CMFr omenta bovino.**Condiciones*

20	Peso muestra cargada:	155,4 g.
	Disolvente supercrítico:	CO ₂
	Disolvente reticulado:	68,5 lbs.
25	Relación disolvente/alimentación:	200/1
	Velocidad flujo disolvente:	0,3 lb/min.

30		Extractor	Separador 1	Separador 2	Separador 3	V5
35	Temperatura (°C)	38-39	40	40	35	–
	Presión (kg/cm ² relativos)	245	105	91	77	0,35-0,70
40	Densidad (g/cc)	0,87	0,69	0,50	0,25	

Balance de Materiales

45	Total recuperado (gramos):	102,4				
		V9	V8	V7	V6	V5
	Peso (gramos)	3,8	75,0	15,8	7,8	0
50	Peso (% de ali-					
	mentación)	2,4	48,3	10,2	5,0	0

Ejemplos 2 - 18

Se utiliza el procedimiento del ejemplo 1 para extraer componentes deseados encontrados en otros tejidos, órganos y células animales. Por ejemplo, tejidos y órganos del sistema nervioso central (cerebro, cordón espinal, fluido espinal, accesorios); tejidos y órganos del sistema nervioso periférico (nervios craneales, nervios espinales, etc); tejidos y órganos miocárdiales y vasculares, corazón, arterias y venas); tejidos y órganos circulatorios (sangre, eritrocitos, leucocitos, plaquetas, plasma); tejidos y órganos del sistema linfático (nódulos linfáticos, bazo, timo); tejidos y órganos del sistema respiratorio (tracto respiratorio superior, pulmones); tejidos y órganos del sistema digestivo (incluyendo boca, dientes, lengua, glándulas salivales, faringe, esófago peritoneo, estómago, intestino pequeño y grande, hígado, vesícula biliar, páncreas); tejidos y órganos esqueléticos (esqueleto axial y apendicular, médula espinal); músculos (liso y esquelético); tejido endotelial y epitelial; membranas, omento y tejidos cartilagosos(tendones,

ligamentos, articulaciones); órganos sensoriales (ojos, oído, nariz, lengua); tejido endocrino u otro tejido glandular (glándula tiroides, glándula paratiroides, glándula pituitaria, glándula adrenal); tejidos y órganos urinarios (riñones, uréteres, vejiga urinaria, uretra); órganos y tejidos reproductivos (testículos, ovarios, etc); y tejidos adiposos tal como los contenidos en órganos subcutáneos e internos, así como exudados biológicos, tales como heces, orina, sudor, semen, leche y similares. En cada caso, se elige un fluido supercrítico que, en las condiciones supercríticas, separe el componente o componentes deseados (por ejemplo, proteínas, moleculares conteniendo lípidos, etc) con el mínimo peligro para el extracto resultante.

10 Ejemplos 19 - 66

Se utilizan los siguientes gases (tabla 7) en procesos de extracción supercríticos sobre los materiales descritos en los ejemplos 1-18. No todos los gases son convenientes para cada tejido y para cada extracto deseado. Por ejemplo, si la temperatura crítica es superior a la temperatura a la cual un extracto deseable es funcional, dicho gas no será utilizado. Sin embargo, para los expertos en la materia resultará fácil el poder determinar que gas es adecuado o conveniente, basado en las propiedades conocidas de los tejidos y componentes deseados, así como en las especificaciones de los gases, incluyendo las temperaturas y presiones supercríticas.

20

(Ver Tabla VII en página siguiente)

25

30

35

40

45

50

55

60

TABLA VII

	Símbolo	Temp. Crítica (°C)	Presión Crítica (atm)
A) Elementales			
a) <i>Gases nobles:</i>			
1) Helio	He	-267,9	2,26
2) Neon	Ne	-228,7	27,9
3) Argon	Ar	-122,3	48,0
4) Kripton	Kr	- 63,8	54,3
5) Xenon	Xe	16,6	58,0
b) <i>Otros:</i>			
6) Nitrógeno	N ₂	-147,0	33,5
7) Hidrógeno	H ₂	-239,9	12,8
8) Oxígeno	O ₂	-118,4	50,1
9) Ozono	O ₃	12,0	55,0
10) Fluor	F ₂	-129	55
B) <i>Compuestos Inorgánicas (ejemplos)</i>			
1) Amoníaco	NH ₃	132,5	112,5
2) Trifluoruro de boro	BF ₃	-12,26	49,2
3) Dióxido de carbono	CO ₂	31,0	72,9
4) Monóxido de carbono	CO	-140	34,5
5) Cloruro de hidrógeno	HCl	51,4	82,1
6) Sulfuro de hidrógeno	H ₂ S	100,4	88,9
7) Oxido nítrico	NO	-93	64
8) Dióxido denitrógeno	NO ₂	157,8	100
9) Oxido nitroso	N ₂ O	36,5	71,7
10) Silano	SiH ₄	-3,46	47,8
11) Clorotrifluor silano	SiClF ₃	34,5	34,2
12) Tetrafluoruro de silicio	SiF ₄	-14	36,7
13) Dióxido de azufre	SO ₂	157,8	77,7
14) Hexafluoruro de azufre	SF ₆	45,6	37,1
15) Agua	H ₂ O	374,1	218,3

(ver Tabla VII en página siguiente)

TABLA VII

5	C) Compuestos Orgánicos (Ejemplos)			
	a) <i>Alcanos:</i>			
	1) Metano	CH ₄	-82,1	45,8
10	2) Etano	C ₂ H ₆	32,2	48,2
	3) Propano	C ₃ H ₈	96,8	42
	4) n-butano	₄ 10	152	37,5
	5) iso-butano	₄ 10	134,7	35,9
15	b) <i>Alquenos:</i>			
	6) Eteno (Etileno)	C ₂ H ₄	9,9	50,5
20	7) Propeno (Propileno)	C ₃ H ₆	91,9	45,5
	8) n-butano	₄ H ₈	146	39,7
25	c) <i>Alquinos:</i>			
	9) Etino (acetileno)	C ₂ H ₂	35,5	61,6
30	d) <i>Haluros de alquilo:</i>			
	10) Monofluorometano	CH ₃ F	44,6	58
	11) Trifluorometano (Fluorformo)	CHF ₃	25,9	46,9
	12) Tetrafluorometano	CF ₄	-45,7	41,4
35	13) Monoclorodifluorometano	CHClF ₂	96	48,5
	14) Monoclorotrifluorometano	CClF ₃	28,8	38,2
40	15) Diclorodifluorometano	CCl ₂ F ₂	111,5	39,6
	16) Monobromotrifluorometano	CBrF ₃	67	50,3
	17) Monofluoretano	C ₂ H ₅ F	102,2	49,6
45	18) Hexafluoretano	C ₂ F ₆	24,3	-
	19) Cloropentafluoretano	C ₂ ClF ₅	80	-
	20) Perfluorbutano	₄ F ₁₀	113,2	23
50	21) 1,1-difluoretileno	C ₂ H ₂ F ₂	30,1	-

Los materiales que pueden ser extractados empleando los procesos aquí descritos, incluyen pero no de forma limitativa, lípidos complejos, tales como acilgliceroles, fosfoglicéridos, esfingolípidos, y ceras; lípidos simples, tales como terpenos, pigmentos, esteroides y sus alcoholes (esteroles), prostaglandinas, y similares. De manera similar a la indicada en el ejemplo 1 pueden obtenerse glicolípidos, lipoproteínas, complejos supramoleculares de membranas y sus intermediarios metabólicos, tanto catabólicos como anabólicos, y productos metabólicos de estas moléculas, así como moléculas que se comportan de forma similar a los lípidos.

Igualmente, mediante los procesos de esta invención, se pueden obtener otras moléculas. Por ejemplo, pueden obtenerse sustancias "proteínicas", tales como sustancias conteniendo aminoácidos (incluyendo aminoácidos no proteínicos), oligopéptidos, péptidos, polipéptidos, hormonas, proteínas, enzimas, anticuerpos, fracciones y componentes de los anteriores, así como intermediarios y productos metabólicos. Si

bien la selección del SCF y de los parámetros de reacción variarán en función de la sustancia a extraer, los expertos en la materia podrán determinar que reactivos y condiciones han de ser utilizados.

5 Igualmente, pueden extraerse de este modo sacáridos incluyendo mono-, di-, oligo- y polisacáridos, así como glicoproteínas. De nuevo, pueden obtenerse también intermediarios y productos metabólicos.

10 Asimismo pueden obtenerse la familia de las moléculas de nucleótidos, incluyendo purina y pirimidinas, y cualquier molécula que contenga bases de ácidos nucleicos, nucleósidos (ribonucleósidos y deoxirribonucleósidos) ácidos nucleicos, complejos supramoleculares de ácidos nucleicos y proteínas, virus y similares, así como sus intermediarios y productos metabólicos.

15 En adición, pueden obtenerse materiales no agrupados en una de las “familias” indicadas *supra*. Estos materiales incluyen todas las vitaminas solubles en grasas y/o agua, sazonantes, potenciadores del sabor, sus intermediarios, tanto catabólicos como anabólicos, y productos de los mismos.

20 No debe suponerse que el método puede ser empleado únicamente para obtener productos deseados. Las sustancias indeseables tales como toxinas, halógenos y similares, pueden ser separadas de una muestra, de acuerdo con la presente invención. Por tanto, los expertos en la materia deducirán que este método tiene aplicación para procesos de purificación biológicos en donde es necesaria separar sustancias indeseables.

30 Se pueden emplear varios métodos para preparar el material usado en el proceso de extracción incluyendo, pero no de forma limitativa, molidura, trituración, pulverización, prensado a baja y alta presión, previa molidura, formación de escamas, sonicación, congelación, tratamiento de congelación-descongelación, liofilización, emulsificación, homogenización, filtración, mezclado rápido, centrifugado, separación celular, separación mecánica, tratamiento térmico y otros tratamientos físicos; tratamiento químico tal como tratamiento con ácidos inorgánicos y orgánicos, bases, disolventes, agentes de superficie activa, colorantes, tratamiento por radiación ionizante; tratamiento enzimático tal como tratamiento enzimático endógeno y/o exógeno, y cualquier combinación de los métodos anteriores para el tratamiento de las muestras.

35 La muestra no necesita ser tratada antes de la extracción con SCF pero, por ejemplo, puede tratarse después de la extracción, cuando los materiales ya han sido eliminados de la muestra. Además, los expertos en la materia deducirán que pueden utilizarse diferentes combinaciones de SCF en varias aplicaciones del proceso general. Los SCF pueden combinarse o pueden emplearse uno después del otro, en una secuencia de etapas.

40 En la práctica de la extracción utilizando SCF, se emplean varios modificadores y/o auxiliares para optimizar las propiedades de la extracción. Estos materiales pueden mejorar la solubilidad así como la selectividad y rendimiento de la extracción. Ejemplos de tales materiales son agua, alcoholes, tales como etanol y n-propanol, cetonas, tal como acetona, y otros.

45 Los expertos en la materia podrán deducir que este método puede ser utilizado en procesos distintos para extracción de tejidos animales. Así, puede tener aplicación en cualquier campo en donde la separación de componentes distintos sea conveniente o necesaria. Por ejemplo, en procesos experimentales en donde es difícil la separación de una mezcla de sustancias polares y no polares, la extracción con SCF puede llevar a cabo esta purificación de productos biológicos, tales como drogas y otros productos farmacéuticos, cosméticos, alimentos, productos vitamínicos y similares, de acuerdo con el método de la presente invención. A escala industrial, se pueden llevar a cabo todos y cada uno de los procesos químicos que requieran separaciones moleculares, usando el método anteriormente descrito.

55 Aunque ha sido descrito lo que en la actualidad se considera las modalidades preferidas de esta invención, para los expertos en la materia será evidente que podrán efectuarse diversos cambios y modificaciones sin desviarse por ello de la invención y, por tanto, se considera que todos esos cambios y modificaciones caen dentro del verdadero espíritu y alcance de la invención.

60

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la obtención de componentes a partir de material animal, **caracterizado** porque comprende poner en contacto dicho material con al menos un fluido supercrítico, bajo condiciones que favorezcan la extracción de dichos componentes; y recoger dichos componentes.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque se emplea una pluralidad de fluidos supercríticos.
3. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dichos componentes comprenden moléculas conteniendo lípidos.
4. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dichos componentes comprenden moléculas conteniendo aminoácidos.
5. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dichos componentes comprenden moléculas conteniendo residuos de sacáridos.
6. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dichos componentes comprenden moléculas conteniendo nucleótidos.
7. Procedimiento según la reivindicación 3, **caracterizado** porque dichos lípidos comprenden lípidos complejos incluyendo acilgliceroles, fosfoglicéridos, espingolípidos, ceras e intermediarios y productos anabólicos y catabólicos de las moléculas lípidas complejas.
8. Procedimiento según la reivindicación 3, **caracterizado** porque dichas moléculas conteniendo lípidos, comprenden lípidos simples incluyendo terpenos, pigmentos, esteroides, esterolés, prostaglandinas, e intermediarios y productos catabólicos y anabólicos de dichos lípidos simples.
9. Procedimiento según la reivindicación 3, **caracterizado** porque dichas moléculas conteniendo lípidos, comprenden glicolípidos, lipoproteínas, complejos supramoleculares de membranas celulares e intermediarios y productos catabólicos y anabólicos de dichas moléculas conteniendo lípidos.
10. Procedimiento según la reivindicación 4, **caracterizado** porque dichas moléculas conteniendo aminoácidos comprende péptidos, oligopéptidos, polipéptidos, hormonas, proteínas, enzimas, anticuerpos, fracciones de moléculas conteniendo aminoácidos o intermediarios y productos catabólicos y anabólicos de dichas moléculas conteniendo aminoácidos.
11. Procedimiento según la reivindicación 5, **caracterizado** porque dichas moléculas comprenden dos residuos de sacáridos comprenden mono-, di-, y oligo- y polisacáridos, glicoproteínas e intermediarios y productos catabólicos y anabólicos de dichas moléculas.
12. Procedimiento según la reivindicación 6, **caracterizado** porque dichas moléculas conteniendo nucleótidos comprenden nucleósidos, ácidos nucleicos, complejos de proteína-ácidos nucleicos, virus, organismos conteniendo nucleótidos e intermediarios y productos catabólicos y anabólicos de dichas moléculas.
13. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dichos componentes comprenden vitaminas o intermediarios y productos catabólicos y anabólicos de dichos componentes.
14. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dichos componentes comprenden sazonzantes, potenciadores del sabor e intermediarios y productos catabólicos y anabólicos de dichos componentes.
15. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque comprende separar los componentes indeseables de una muestra.
16. Procedimiento según la reivindicación 15, **caracterizado** porque dichos componentes comprenden toxinas.
17. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dichos componentes comprenden moléculas solubles en disolventes orgánicos.
18. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dichos componentes comprenden

moléculas solubles en disolventes inorgánicos.

19. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido animal.

5 20. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende células.

10 21. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende exudados.

22. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende órganos.

15 23. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende órganos internos.

24. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido nervioso.

20 25. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido muscular.

25 26. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido adiposo.

27. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido cartilaginoso.

30 28. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido glandular.

29. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido epitelial.

35 30. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido endotelial.

40 31. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido miocárdial.

32. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido vascular.

45 33. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido circulatorio.

34. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido linfático.

50 35. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido respiratorio.

55 36. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido digestivo.

37. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido esquelético.

60 38. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido sensorial.

39. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende

tejido urinario.

40. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho material animal comprende tejido reproductivo.

5 41. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho fluido supercrítico es un gas.

42. Procedimiento según la reivindicación 41, **caracterizado** porque dicho gas es un gas elemental.

10 43. Procedimiento según la reivindicación 41, **caracterizado** porque dicho gas elemental es un gas inerte.

44. Procedimiento según la reivindicación 41, **caracterizado** porque dicho gas contiene carbono.

15 45. Procedimiento según la reivindicación 41, **caracterizado** porque dicho gas es un gas noble.

46. Procedimiento según la reivindicación 44, **caracterizado** porque dicho gas es dióxido de carbono.

47. Procedimiento según la reivindicación 44, **caracterizado** porque dicho gas es un gas alcano.

20 48. Procedimiento según la reivindicación 44, **caracterizado** porque dicho gas es un gas alqueno.

49. Procedimiento según la reivindicación 44, **caracterizado** porque dicho gas es un gas alquino.

25 50. Procedimiento según la reivindicación 41, **caracterizado** porque dicho gas es un gas conteniendo nitrógeno.

51. Procedimiento según la reivindicación 50, **caracterizado** porque dicho gas se elige del grupo consistente en amoníaco, óxido nítrico, dióxido de nitrógeno y óxido nitroso.

30 52. Procedimiento según la reivindicación 41, **caracterizado** porque dicho gas contiene silicio.

53. Procedimiento según la reivindicación 52, **caracterizado** porque dicho gas se elige del grupo consistente en silano, clorotrifluorsilano y tetrafluorsilano.

35 54. Procedimiento según la reivindicación 41, **caracterizado** porque dicho gas contiene azufre.

55. Procedimiento según la reivindicación 54, **caracterizado** porque dicho gas se elige del grupo consistente en dióxido de azufre y hexafluoruro de azufre.

40 56. Procedimiento según la reivindicación 41, **caracterizado** porque dicho gas contiene hidrógeno.

57. Procedimiento según la reivindicación 41, **caracterizado** porque dicho gas contiene halógeno.

58. Procedimiento según la reivindicación 41, **caracterizado** porque dicho gas es vapor de agua.

45 59. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque comprende además añadir un modificador o agente separador a dicho fluido supercrítico.

50 60. Procedimiento según la reivindicación 59, **caracterizado** porque dicho agente modificador o separador es agua.

61. Procedimiento según la reivindicación 59, **caracterizado** porque dicho agente modificador o separador es alcohol.

55 62. Procedimiento según la reivindicación 61, **caracterizado** porque dicho alcohol es etanol.

63. Procedimiento según la reivindicación 61, **caracterizado** porque dicho alcohol es n-propanol.

60 64. Procedimiento según la reivindicación 59, **caracterizado** porque dicho agente modificador o separador es una cetona.

65. Procedimiento según la reivindicación 64, **caracterizado** porque dicha cetona es acetona.

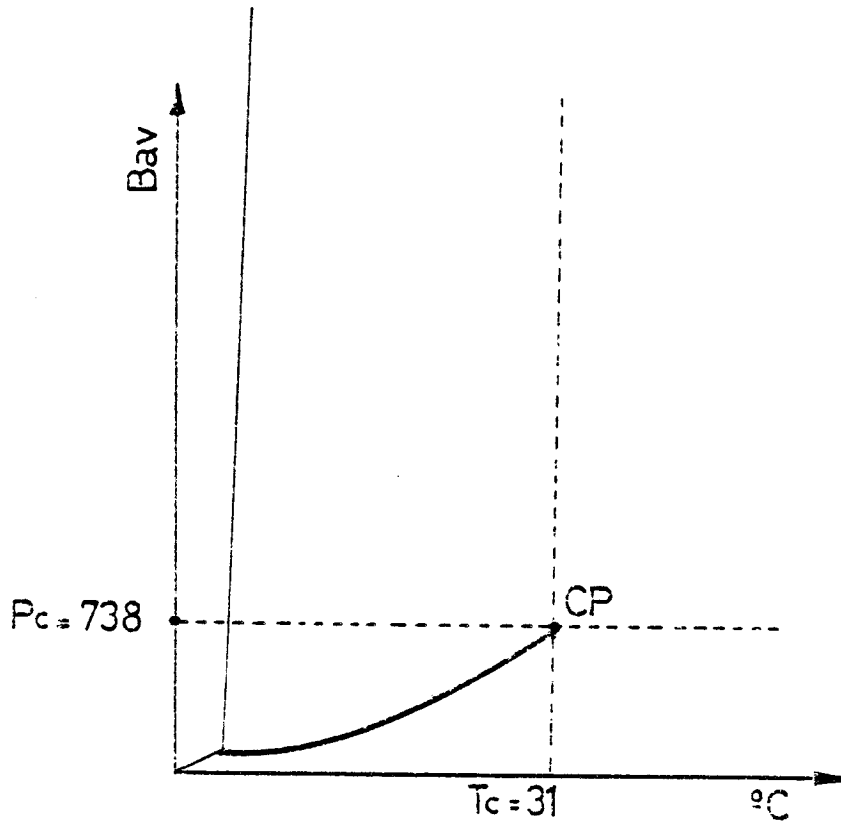


FIG. 1

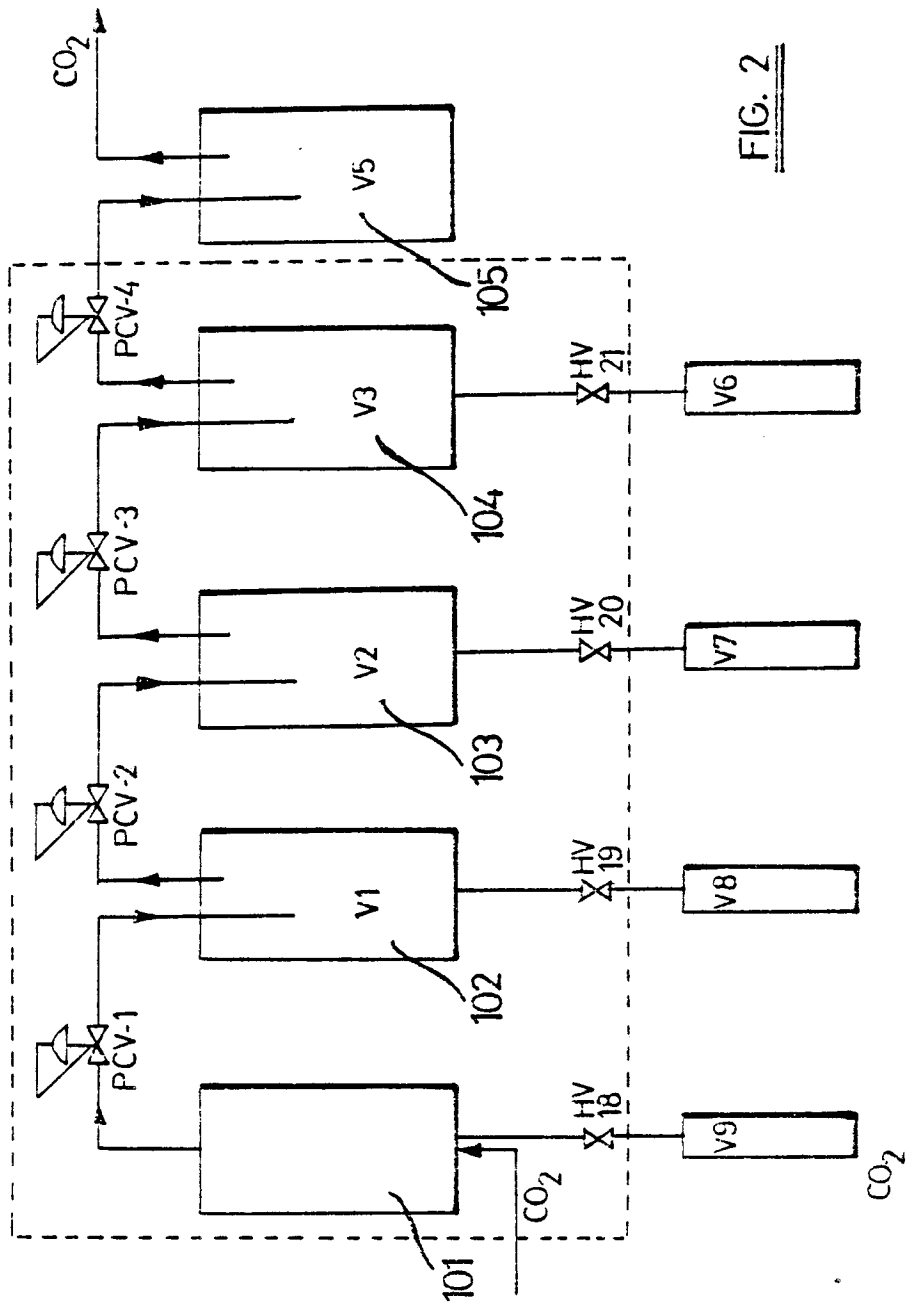


FIG. 2