



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 161 616**

② Número de solicitud: 009901719

⑤ Int. Cl.⁷: A23L 1/015

A23L 1/325

C11B 1/10

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑫ Fecha de presentación: **29.07.1999**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **01.12.2001**

⑭ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
01.12.2001

⑦ Solicitante/s: **UNIVERSIDADE DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA**
Centro de Innovación e Transferencia de
Tecnoloxía
Avda das Ciencias, s/n
15706 Santiago de Compostela, A Coruña, ES

⑧ Inventor/es: **Botana López, Luis Miguel;**
Rodríguez Vieytes, Mercedes;
Vieites Baptista de Sousa, Juan Manuel;
Leira Sanmartín, Francisco y
González Rodríguez, José Carlos

⑦ Agente: **No consta**

⑤ Título: **Eliminación de toxinas diarreicas (DSP) presentes en productos pesqueros basada en el procesamiento con dióxido de carbono supercrítico modificado.**

⑤ Resumen:

Eliminación de toxinas diarreicas (DSP) presentes en productos pesqueros basada en el procesamiento con dióxido de carbono supercrítico modificado.

Eliminación de toxinas diarreicas (DSP) en productos pesqueros por procesamiento con dióxido de carbono supercrítico modificado. 1) Eliminación por extracción continua pasando una mezcla en estado supercrítico de CO₂ y etanol (5 al 20% de etanol en volumen) a través de una celda en la que se colocan los productos contaminados que previamente han sido parcialmente deshidratados por liofilización. 2) Destrucción de las toxinas e inhibición de la actividad tóxica en una atmósfera a alta presión (150 - 300 bares) de CO₂ mezclado con ácido acético (5 - 10% en volumen). El procesado de los productos, parcialmente deshidratados por liofilización, se realiza en una cámara hermética que se rellena con la mezcla supercrítica. Después de un tiempo mínimo de procesado variable (desde media hora a varias horas), la cámara se devuelve a una atmósfera normal por despresurización.

ES 2 161 616 A1

DESCRIPCION

Eliminación de toxinas diarreicas (DSP) presentes en productos pesqueros basada en el procesamiento con dióxido de carbono supercrítico modificado.

Eliminación de toxinas diarreicas (DSP) en productos pesqueros por procesamiento con dióxido de carbono supercrítico modificado. La eliminación de las toxinas se puede realizar de dos formas: 1) La extracción de las toxinas con una mezcla supercrítica de CO₂/etanol. 2) La destrucción de la actividad tóxica con CO₂/ácido acético.

El interés del método se debe a que los episodios que provocan la contaminación de los moluscos con toxinas DSP son estacionales pero suelen extenderse durante varios meses. Actualmente el único modo de asegurar la salud del consumidor es el bloqueo total de la actividad extractiva. Las administraciones de salud pública de todo el mundo tienen programas de control para gestionar las decisiones de paralización de la extracción.

La inexistencia de tecnologías de procesado de los moluscos contaminados que permitan su aprovechamiento sin riesgos toxicológicos durante los episodios tóxicos genera pérdidas económicas y distorsiones enormes en la programación laboral del sector productor y la industria transformadora (conservera y congeladora principalmente).

Exposición del estado de la técnica

Las toxinas diarreicas (ácido okadaico, dinofisistoxinas I, 11 y 111, y sus derivados) son moléculas liposolubles cuyo esqueleto deriva de un ácido graso C₃₈. Su estructura química es conocida desde la década de los ochenta.

El procesado con fluidos supercríticos, principalmente CO₂, es una nueva tecnología cuya aplicación en distintos alimentos está siendo intensamente investigada. El CO₂ alcanza el estado supercrítico a temperaturas superiores a 31,1°C y presiones superiores a 72,8 bares. Este es un fluido inocuo y económico y presenta una buena miscibilidad con disolventes polares como el etanol y el ácido acético.

La bibliografía muestra que se ha logrado la extracción y fraccionamiento de componentes de distintos alimentos. (Temelli, F. et al. *Supercritical fluid extraction and chromatography: techniques and applications*. ACS Symposium Series, N° 366. pp 109126 (1988) ; Udaya, K. *Supercritical fluid processing of foods and biomaterials*, pp 155166. eds S.S.H. Rizvi. Blackie A&P. Glasgow (1994)).

También se ha demostrado la posibilidad de llevar a cabo reacciones químicas y bioquímicas (Nakamura, K. *Supercritical fluid processing of foods and biomaterials*, pp 54-61. eds S.S.H. Rizvi. Blackie A&P. Glasgow (1994)) y la inactivación de enzimas y microorganismos (Arreola, A. G. et al. *Supercritical fluid processing of foods and biomaterials*, pp 133-153. eds S.S.H. Rizvi. Blackie A&P. Glasgow (1994)).

Hemos correlacionado la solubilidad de la toxina ácido okadaico con las condiciones de presión y temperatura del CO₂ y la concentración de etanol. Puesto que los patrones de solubilidad de los lípidos comunes son conocidos (Chrastil, J., *J. Phys. Chem*, 86: 3016 (1982); Zou, M. et al.,

J. Supercritical Fluids, 3: 23 (1990)), es posible seleccionar las condiciones más adecuadas para extraer selectivamente la toxina. El proceso requiere una reducción de la actividad de agua mediante liofilización (Bowadt, S. et al., *Journal of Chromatography A*, 675: 189 (1994)). Además de la detoxificación de los moluscos, la extracción de la toxina permitiría obtener concentrados de estas sustancias con el fin de ser utilizadas como patrones analíticos o reactivos de investigación en medicina y biología.

Hemos observado que la toxina ácido okadaico es sensible al tratamiento con CO₂ a alta presión conteniendo un 10% en volumen de ácido acético. La molécula de ácido okadaico es destruida. La actividad tóxica sobre la fosfatasa intracelular PP2a, el mecanismo de acción tóxica, se reduce drásticamente. La accesibilidad del CO₂/acético al interior del producto exige una deshidratación parcial mediante liofilización. Se ha observado que el efecto de inactivación del CO₂ supercrítico puede acentuarse con un incremento de temperatura (Arreola, A.G. et al., *Supercritical fluid processing of foods and biomaterials*, pp 133-153. eds S.S.H. Rizvi. Blackie A&P. Glasgow (1994)).

Explicación de la invención1) *Extracción de toxinas*

El ácido okadaico y derivados son moléculas liposolubles pero de polaridad relativamente alta debido a la presencia de grupos hidrofílicos. El CO₂ en estado supercrítico puro es incapaz de mantener en solución estas toxinas pero la solubilidad de estas toxinas se incrementa enormemente al adicionar al CO₂ una pequeña proporción, inferior al 15% en volumen de un alcohol, por ejemplo etanol. La correlación entre la solubilidad de la toxina y los parámetros de la mezcla supercrítica permite seleccionar las condiciones para extraer la toxina mediante un proceso de extracción continua. Finalmente el CO₂ se elimina como gas y el alcohol se evapora parcialmente.

2) *Destrucción de toxinas*

La exposición de las toxinas DSP a una mezcla supercrítica obtenida adicionando al CO₂ supercrítico una pequeña proporción, inferior al 8%, de ácido acético, provoca la destrucción de las toxinas. Estas condiciones de exposición al ácido acético en una atmósfera de alta presión (150 a 300 bares) y baja temperatura (40°C) provocan la inactivación de las toxinas cuya toxicidad final se reduce en más del 50%. Finalmente, tras una despresurización lenta, el CO₂ es eliminado.

Modo de realización de la invención1) *Extracción de toxinas*

Los moluscos previamente desconchados son sometidos a una deshidratación parcial (pérdida del 75% del peso fresco) mediante liofilización (20°C, 0,000131 bares, 8 horas). Se colocan los moluscos deshidratados (1-2 g) en una cámara de 10 ml, de volumen y se procede a una extracción continua durante 30 minutos con un flujo constante de mezcla supercrítica de 1 mL/min. La mezcla supercrítica de CO₂ con un porcentaje de un 5 a 15% en volumen de un alcohol como el etanol esta sometida a una presión entre 100 y 300 bares a temperatura de 35-40°C. La solubilidad de la toxina en la mezcla se incrementa exponencialmente con el porcentaje de alcohol o la presión

y se reduce al aumentar de temperatura.

2) *Destrucción de toxinas*

Procesado de extractos tóxicos: Extractos tóxicos de moluscos con ácido okadaico, se depositan en una celda de acero de 5 mL. La celda se llena de CO₂ con un 5% en volumen de ácido acético a una presión de 200 bares y 40°C y se mantiene durante 30 minutos. Los extractos pier-

den el 55% de la actividad tóxica y la inactivación de las toxinas alcanza porcentajes del 75% al incrementar el tiempo y/o la presión.

Los moluscos tóxicos previamente desconchados son sometidos a una deshidratación parcial (pérdida del 75% del peso fresco) mediante liofilización (20°C, 0,000131 bares, 8 horas) y se colocan en una celda de 10 mL de volumen.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Eliminación de toxinas diarreicas (DSP) en productos pesqueros basada en el procesamiento con dióxido de carbono supercrítico modificado, **caracterizada** porque la eliminación de las toxinas se puede realizar de dos formas: 1) La extracción de las toxinas con una mezcla supercrítica de CO₂/etanol, y 2) La destrucción de la actividad tóxica con CO₂/ácido acético para su aplicación en la industria pesquera/conservera.

2. Eliminación, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque se realiza la extracción continua un periodo variable con una mezcla super-

crítica de CO₂ modificado con un pequeño porcentaje de un alcohol como el etanol, entre 5 - 20% en volumen.

3. Eliminación, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque se realiza la destrucción parcial de las toxinas y reducción de actividad tóxica por exposición en una cámara hermética a una atmósfera a alta presión (150 - 300 bares) de CO₂ con un 5 - 10 de ácido acético.

4. Recuperación de toxinas DSP extraídas según el procedimiento mencionado en la reivindicación 2, para obtener toxinas puras con fines analíticos o de investigación.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65



① ES 2 161 616

② N.º solicitud: 009901719

③ Fecha de presentación de la solicitud: 29.07.1999

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤ Int. Cl.⁷: A23L 1/015, 1/325, C11B 1/10

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
Y	ES 2002056 A6 (ANGIO-MEDICAL, CORP.) 01.07.1988, todo el documento.	1
Y	EP 0826312 A2 (TEPUAL, S.A.) 04.03.1998, página 5, líneas 21-28.	1
A	JP 04-036209 A (OSAKA GAS CO. LTD) 06.02.1992, recuperado de la Base de Datos WPI, AN: 1992-092911, resumen de la Base de Datos	2
A	US 5492938 A (KYLE et al.) 20.02.1996, página 6, columna 6, líneas 1-8.	
A	JP 57-011986 A (FUJISAWA PHARM CO.) 21.01.1982, recuperado de la Base de Datos WPI, AN: 1982-16555E, resumen de la Base de Datos	

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe

30.10.2001

Examinador

A. Martín-Falquina Garre

Página

1/1