



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 357 690**

51 Int. Cl.:
C12P 7/64 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06835632 .8**

96 Fecha de presentación : **28.12.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1966387**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.09.2008**

54 Título: **Procedimiento para la producción de diacilglicerol.**

30 Prioridad: **28.12.2005 MY 0506218**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.04.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.04.2011

73 Titular/es: **Universiti Putra Malaysia
43400 Upm, Serdang
Selangor, MY
SIME DARBY RESEARCH Sdn. Bhd.**

72 Inventor/es: **Lai, Oi, Ming;
Yusoff, Mohd, Suria, Affandi;
Lo, Seong, Koon;
Long, Kamariah;
Tan, Chin, Ping;
Lim, Jew, Yeok;
Tahiruddin, Shawaluddin y
Hashim, Khairudin**

74 Agente: **Ponti Sales, Adelaida**

ES 2 357 690 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la producción de diacilglicerol

- 5 **[0001]** La presente invención se refiere a la producción de diacilgliceroles. Más en particular, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir un diacilglicerol de alta pureza con un rendimiento alto en un periodo de tiempo corto.

Antecedentes de la invención

10

[0002] Los diacilgliceroles se usan ampliamente en una variedad de aplicaciones tales como aditivos para mejorar la plasticidad de aceites y grasas, así como en aceites comestibles en la industria alimentaria, y como un material base para la producción de cosméticos y fármacos. En general, la preparación de dichos diacilgliceroles implica una reacción de esterificación del glicerol con su correspondiente ácido graso, una reacción de intercambio de alcohol del glicerol con un aceite o grasa, o similar, con el uso de un catalizador alcalino, o una enzima tal como una lipasa o similar. Sin embargo, es preferible el uso de un catalizador enzimático desde los puntos de vista del rendimiento y la pureza de los diacilgliceroles sintetizados y el ahorro de energía.

15

- 20 **[0003]** La solicitud de patente japonesa nº 71495/1989 describe un procedimiento de reacción catalizada por lipasa que incluye la reacción de un ácido graso o similar con glicerol en presencia de una lipasa selectiva de la posición 1,3, mientras se separa el agua formada por la reacción fuera del sistema, para obtener un diacilglicerol con un alto rendimiento y pureza. El inconveniente de este procedimiento es que no se pueden investigar las condiciones de producción a nivel industrial.

- 25 **[0004]** La solicitud de patente japonesa nº 330289/1992 describe un procedimiento en el que se añade glicerol en una cantidad equimolar o mayor, a un ácido graso para que reaccionen. La reacción se detiene cuando la concentración de un diacilglicerol ha aumentado, se separa el glicerol insoluble, y la reacción se vuelve a llevar a cabo mientras se deshidrata sintetizando así diacilglicerol a una alta velocidad de reacción de esterificación mejorando la eficacia de la deshidratación. Este procedimiento implica dificultades técnicas tales como la necesidad de detener la reacción en el momento en el que la concentración de diglicérido alcanza un máximo.

30

- [0005]** La solicitud de patente japonesa nº 234391/1998 describe un procedimiento en el que se hace reaccionar una mezcla de un ácido graso o similar y glicerol o similar, en un reactor de tipo tubo de flujo lleno con una lipasa mientras se controla la velocidad superficial de la mezcla en el reactor a al menos 0,05 cm/s. Esta técnica es fácil de llevar a cabo y puede mejorar la velocidad de reacción en cierto grado, pero es insuficiente en la pureza del diglicérido resultante y en la técnica aumentada a escala industrial.

35

- [0006]** La patente de Estados Unidos 6.361.980 describe un procedimiento para preparar diacilglicerol, que comprende una torre empaquetada con enzima que incluye una preparación de lipasa inmovilizada, llevando a cabo una reacción de esterificación entre: (1) un donador de grupo acilo seleccionado del grupo que consiste en un ácido graso, un éster de alcohol inferior del mismo, y una mezcla de los mismos; y (2) un aceptor de grupo acilo seleccionado del grupo que consiste en glicerol, un monoacilglicerol y una mezcla de los mismos; para obtener un fluido de reacción de dicha torre empaquetada con enzima; reduciendo el contenido de agua o el contenido de alcohol inferior en dicho fluido de reacción; y posteriormente a dicha reducción, recirculación del fluido de reacción a dicha torre empaquetada con enzima, en la que un tiempo de permanencia de dicho fluido de reacción en dicha torre empaquetada con enzima es 120 segundos o menos; para obtener un diacilglicerol, en el que dicha reducción comprende deshidratar o desalcoholizar dicho fluido de reacción mediante alimentación de dicho fluido de reacción por una tobera de pulverización, en un procedimiento de deshidratación. Sin embargo, este procedimiento es costoso y requiere el uso de ácidos grasos purificados caros como materias primas.

45

- [0007]** En *Food Biotechnology*, 2004, pp 265 - 278 y *J. Agric. Food Chem.*; 2004, pág. 5347 - 5353 se describe la producción de diacilgliceroles.

- 50 **[0008]** En vista de lo anterior, sería ventajoso proporcionar un procedimiento para producir un diacilglicerol de alta pureza con un rendimiento alto en un periodo de tiempo corto a un nivel industrial.

55

Resumen de la invención

- [0009]** De acuerdo con la presente invención, se proporciona un procedimiento para producir un diacilglicerol de

alta pureza con un alto rendimiento en un periodo de tiempo corto, comprendiendo dicho procedimiento:

(i) hacer reaccionar triacilglicerol con agua y una preparación enzimática que tiene una actividad hidrolítica a una temperatura en el intervalo de 20°C a 90°C para obtener una mezcla de diacilglicerol, monoacilglicerol y ácido graso libre;

5 (ii) separar el contenido de agua en la mezcla mediante deshidratación; y

(iii) separar el monoacilglicerol, el ácido graso libre y el triacilglicerol residual mediante uno o más procedimientos de separación para obtener un diacilglicerol de alta pureza;

10 en el que la cantidad de agua en la mezcla de reacción de la etapa (i) es de 20 a 180 partes en peso de la preparación enzimática, y la etapa (i) se lleva a cabo hasta obtenerse entre 5% y 50% de ácidos grasos libres, produciendo así diacilglicerol de hasta 96% de pureza con un alto rendimiento en un periodo de tiempo corto.

[0010] De acuerdo con la presente invención, se puede producir un diacilglicerol de alta pureza con un rendimiento alto en un periodo de tiempo corto.

15 **[0011]** En otro aspecto de la presente invención, se proporcionan procedimientos para preparar composiciones de aceites o grasas que comprenden diacilglicerol en una cantidad de hasta 96% en peso, que comprenden (a) producir diacilglicerol por el procedimiento anterior; y (b) añadir al menos un éster de fitosterilo o al menos un éster de ácido ferúlico en una cantidad en el intervalo de 0,5% a 25% en peso de diacilglicerol.

20 Descripción de las realizaciones preferidas

[0012] Los diferentes objetos, características y ventajas que acompañan de la presente invención se apreciarán de forma más completa cuando ésta se comprenda mejor a partir de la siguiente descripción detallada de las realizaciones preferidas de la invención.

25

[0013] La presente invención proporciona un procedimiento para producir un diacilglicerol de alta pureza con un rendimiento alto y en un periodo de tiempo corto. Las características y detalles de la invención, sea como etapas de la invención o como combinación de partes de la invención, se describirán ahora con mayor detalle. El experto en la materia entenderá que las realizaciones particulares de la invención se muestran a modo de ilustración de ejemplo y no como limitaciones de la invención. Aunque estos ejemplos se presentan para mostrar al experto en la materia como trabajar dentro del alcance de esta invención, no deben servir de limitación en el alcance de la invención, ya que el alcance es sólo el definido en las reivindicaciones.

30

[0014] El procedimiento para producir diacilglicerol de acuerdo con la presente invención comprende las siguientes etapas:

35

(i) hacer reaccionar triacilglicerol con agua y una preparación enzimática que tiene una actividad hidrolítica a una temperatura en el intervalo de 20°C a 90°C, para obtener una mezcla compuesta de diacilglicerol, monoacilglicerol y ácido graso libre;

40

(ii) separar el contenido de agua en la mezcla mediante un procedimiento de deshidratación; y

(iii) separar el monoacilglicerol, el ácido graso libre y el triacilglicerol residual mediante uno o más procedimientos de separación para obtener un diacilglicerol de alta pureza.

45

[0015] De acuerdo con la presente invención, la etapa (i) implica la reacción de hidrólisis controlada que se lleva a cabo en presencia de agua. Desde el punto de vista de potenciar la pureza y la velocidad de producción del diacilglicerol, la cantidad de agua en el fluido de reacción es de 20 a 180 partes en peso por 100 partes en peso de la preparación enzimática.

50

[0016] La reacción de hidrólisis en la presente invención se controla de modo que la cantidad de ácidos grasos libres que resultan de la hidrólisis controlada está en el intervalo de 5% a 50% en peso, preferiblemente de 25% a 35% en peso.

[0017] La preparación enzimática usada en la presente invención tiene una actividad hidrolítica y está compuesta de una enzima libre o una enzima inmovilizada.

55

[0018] Se prefiere que la enzima libre o la enzima inmovilizada sea una lipasa.

[0019] La enzima lipasa inmovilizada preferiblemente se inmoviliza sobre un soporte enzimático adecuado, tal como una resina de intercambio iónico. La lipasa puede no ser específica de posición o ser específica de la posición 1,3.

- [0020]** Los ejemplos de enzimas lipasas o enzimas lipasas inmovilizadas que se pueden usar en la presente invención se pueden obtener de microorganismos del género *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Candida* y/o *Pseudomonas*. Por ejemplo, *Rhizopus delemar*, *Rhizopus japonicus*, *Rhizopus niveus*, *Aspergillus niger*, *Mucor javanicus*, *Mucor miehei*, *Candida rugosa*, *Candida antarctica*, *Pseudomonas cepacia* y similares. La preparación de lipasa inmovilizada se obtiene inmovilizando una lipasa de acuerdo con un procedimiento conocido para inmovilizar una enzima.
- [0021]** Los ejemplos de equipo preferido para la reacción de hidrólisis controlada usado en el procedimiento enzimático de la presente invención, incluyen un tanque de agitación, un lecho fijo, un tanque fluidizado y una combinación de los mismos. La reacción de hidrólisis controlada se puede llevar a cabo de una forma en lotes, continua o semicontinua.
- [0022]** Puesto que la hidrólisis controlada de la presente invención se lleva a cabo como una hidrólisis enzimática, la hidrólisis controlada se lleva a cabo a una temperatura dentro de la temperatura de funcionamiento de la lipasa, preferiblemente de 20°C a 90°C.
- [0023]** Se prefiere que la deshidratación del fluido de reacción se lleve a cabo usando procedimientos de separación de agua convencionales, tales como la centrifugación, condensación, destilación, evaporación o absorción.
- [0024]** El triacilglicerol usado en la presente invención incluye grasa o aceite vegetal y animal convencionales, o grasas o aceites procesados que comprenden ácidos grasos saturados o insaturados C₂-C₂₄, o mezclas de los mismos, tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido valérico, ácido caproico, ácido enántico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido undecanoico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido miristoleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido zoomárico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido elaídico, ácido petroselinico, ácido linoleico, ácido α-linoleico, ácido α-linolénico, ácido γ-linolénico, ácido estearidónico, ácido araquídico, ácido araquidónico, ácido gadoleico, ácido aráquico, ácido dihomο-γ-linoleico, ácido icosapentanoico, ácido behénico, ácido erúcico, ácido adrénico, ácido docosapentanoico, ácido docosohexanoico, ácido nervónico o una forma isómera de los mismos. Los ejemplos de aceite o grasa vegetal y animal que se pueden usar en la presente invención son aceite de canola, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de palma, aceite de almendra de palma, aceite de cacahuete, aceite de colza, aceite de cártamo, aceite de soja, aceite de girasol, aceite de oliva, aceite de salvado de arroz, aceite de salvado de maíz, aceite de borraja, aceite de onagra, aceite de semilla de lino, aceite de semilla de uva, aceite de linaza, aceite de argán, aceite de alfalfa, aceite de semilla de almendra, aceite de hueso de albaricoque, aceite de aguacate, aceite de babasú, aceite de baobab, aceite de semilla de grosella negra, aceite de nuez de Brasil, aceite de semilla de cacao, aceite de camelia, aceite de zanahoria, aceite de anacardo, aceite de avellana, aceite de semilla de cáñamo, aceite de semilla de kiwi, aceite de nuez de macadamia, aceite de semilla de mango, aceite de semilla de melón, aceite de semilla de níger, aceite de hueso de melocotón, aceite de perilla, aceite de pistacho, aceite de semilla de amapola, aceite de semilla de calabaza, aceite de semilla de rambután, aceite de escaramujo, aceite de sésamo, aceite de semilla de karité, aceite de bogol, aceite de nuez y aceite del germen de trigo, sebo de vaca, manteca de cerdo, aceite de pescado; aceite o grasa obtenidos de procedimientos de endurecimiento, hidrogenación, transesterificación o aleatorización, fraccionamiento, destilación; y/o mezclas de los mismos.
- [0025]** Los procedimientos de separación para usar en la separación de monoacilgliceroles, ácidos grasos libres y triacilgliceroles residuales de los diacilgliceroles, pueden ser, por ejemplo desodorización, destilación por vapor, destilación molecular, cromatografía de adsorción, y cualquier combinación de los mismos. Los procedimientos de separación se pueden llevar a cabo en lotes, de forma continua y semicontinua.
- [0026]** Se prefiere que el procedimiento de la presente invención se lleve a cabo de forma continua hasta obtener un producto final que contenga diacilglicerol con una pureza en el intervalo de 10% a 96%. La pureza del diacilglicerol, que en la presente invención se define como una relación de % en peso de diacilglicerol con respecto a (% en peso de diacilglicerol + % en peso de triacilglicerol) x 100, se usa para medir la concentración de diacilglicerol de la composición de aceites o grasas refinadas usada en la presente invención. De acuerdo con la presente invención, se puede obtener una composición que comprende diacilglicerol en el intervalo de 10% a 96%. El producto resultante puede contener una proporción pequeña de triacilglicerol no hidrolizado.
- [0027]** Se puede obtener una composición de aceites o grasas que comprende diacilglicerol producido por el procedimiento descrito en el presente documento y ésteres de fitosterilo y ácidos grasos y/o ésteres de ácido

ferúlico. La composición de aceites o grasas obtenida de la presente invención puede ayudar a reducir y prevenir los riesgos de enfermedades cardiovasculares y sus afecciones subyacentes tales como hipercolesterolemia e hiperlipidemia, aterosclerosis, hipertensión, trombosis, así como otras enfermedades tales como diabetes de tipo II, demencia, cáncer, envejecimiento y aquellas enfermedades que incluyen el daño oxidativo como parte de la

5

intervalo de 120°C a 150°C, en una forma fundida antes de mezclarlos con el aceite de diacilglicerol producido de la presente invención. La mezcla se homogeneiza y se deja enfriar a temperatura ambiente. La cantidad de ésteres de fitosterilo y/o ésteres de ácido ferúlico usados en la presente invención es preferiblemente de 0,5% a 25% en peso de diacilglicerol.

10

[0028] Los fitosteroles o esteroides vegetales, son constituyentes naturales de la dieta humana y se encuentran normalmente como constituyentes minoritarios del aceite vegetal. Están relacionados estructuralmente con el colesterol, pero difieren en la configuración de su cadena lateral. Los fitosteroles en general se extraen de subproductos de la pulpa y la industria papelera (derivados de la madera; "jabón de aceite de bogol") o de la

15 industria de aceites vegetales (derivados de plantas) usando disolventes orgánicos (hexano y acetona). Una mezcla de fitosteroles purificada es de color blanco (similar al colesterol) con una solubilidad extremadamente baja. Al igual que su aspecto, el colesterol y los fitosteroles tienen estructuras químicas similares. Hay una amplia variedad de fitosteroles que se encuentran en la naturaleza, pero los más comunes son el β -sitosterol, campesterol y estigmasterol. Los fitosteroles se encuentran de forma natural en diferentes partes de las plantas incluyendo

20 semillas, nueces y frutos que llevan aceite. El aceite vegetal obtenido de estas partes contiene fitosteroles en una cantidad de aproximadamente 0,1 a 1,0% en peso del aceite. Además de su consumo diario, se ha reconsiderado recientemente el uso de fitosteroles como agentes reductores del colesterol. Esto ha dado lugar a la comercialización de productos alimentarios enriquecidos en fitosteroles ("alimentos funcionales") en América del norte y Europa. Estos productos están dirigidos para su uso por una amplia variedad de sujetos incluyendo aquellos

25 con dislipidemia. Aunque sus propiedades farmacológicas no se han explorado completamente, los fitosteroles han sido eficaces en la reducción de los niveles de colesterol en el plasma sin causar ningún efecto secundario grave. Los fitosteroles también se usan en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y sus afecciones subyacentes tales como hipercolesterolemia, hiperlipidemia, aterosclerosis, hipertensión, trombosis, así como otras enfermedades tales como diabetes de tipo II, demencia, cáncer, envejecimiento y aquellas enfermedades que incluyen el daño

30 oxidativo como parte de la patología de la enfermedad.

30

[0029] Recientemente, los estudios han sugerido que los ésteres de fitosterilo y ácidos grasos pueden dar un mejor resultado comparado con los fitosteroles libres. Los fitosteroles no disueltos tienen poca solubilidad en la fase micelar en el tracto digestivo y por lo tanto no son capaces de bloquear eficazmente la absorción de colesterol. Para

35 aumentar la reducción del colesterol en la sangre y el efecto de los fitosteroles o sus ésteres, deben disolverse homogéneamente en un aceite o grasa, tal como un aceite o grasa comestibles. Sin embargo, los fitosteroles tienen una solubilidad relativamente menor en aceite o grasa comparado con sus ésteres. Puesto que los ésteres de fitosterilo tienen una solubilidad relativamente mayor en aceite o grasa que los fitosteroles, se puede disolver una concentración mayor de estos ésteres en aceite o grasa que de fitosteroles. Por lo tanto, los efectos fisiológicos de

40 los ésteres de fitosterilo se pueden hacer más efectivos y eficaces que los de los fitosteroles.

40

[0030] Los ésteres del ácido ferúlico son antioxidantes conocidos que en general son más solubles en lípidos. Los ésteres del ácido ferúlico comprenden orizanoles, más preferiblemente γ -orizanol, que se puede encontrar en los aceites de salvado de arroz y maíz. Se sabe que los ésteres del ácido ferúlico reducen los riesgos de cáncer,

45 reduciendo el nivel de colesterol, y tienen propiedades de formación muscular.

45

[0031] La composición de aceites o grasas se puede usar igualmente para aceites y grasas corrientes, y se puede aplicar a alimentos procesados con grasas, tales como alimentos procesados con grasas de tipo aceite en agua, bebidas, postres, helados, aliños, decoraciones, mayonesas y salsas; alimentos procesados con grasas de

50 tipo agua en aceite tales como margarinas y comidas para untar; alimentos grasos procesados tales como mantequillas de cacahuete, materias grasas para freír y de panadería; alimentos procesados tales como patatas fritas, pastelitos, bizcochos, galletas, tartas, pasteles, panes y chocolates; y otros alimentos incluyendo mezclas para panadería, productos de carne procesados, aperitivos congelados y alimentos congelados.

50

[0032] También se prefiere que la composición de aceites o grasas se pueda aplicar como una preparación hipercolesterolemia en forma de una cápsula, comprimido recubierto de azúcar, gránulos moldeados, caramelos o gotas.

55

[0033] Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1

- 5 [0034] En un matraz de 5 litros, se mezclaron 1000 g de oleína de palma refinada con 100 g de agua destilada y 100 g de "Lipozyme RM IM", una lipasa inmovilizada selectiva de la posición 1,3, obtenida de la lipasa de *Rhizomucor miehei*. La mezcla se hizo reaccionar durante 10 h con agitación a 60°C. Después, la preparación de lipasa se separó del producto de reacción. Se separaron muestras del producto, y se determinó la cantidad de ácidos grasos libres y acilgliceroles parciales por cromatografía de gases. Los resultados se presentan en la tabla 1.

10

Ejemplo 2

- 15 [0035] En un matraz de 5 litros, se mezclaron 1000 g de aceite de soja refinado con 100 g de agua destilada y 100 g de "Lipozyme RM IM", una lipasa inmovilizada selectiva de la posición 1,3, obtenida de la lipasa de *Rhizomucor miehei*. La mezcla se hizo reaccionar durante 10 h con agitación a 60°C. Después, la preparación de lipasa se separó del producto de reacción. Se separaron muestras del producto, y se determinó la cantidad de ácidos grasos libres y acilgliceroles parciales por cromatografía de gases. Los resultados se presentan en la tabla 1.

Tabla 1

| Componentes de la reacción | Reaccionantes antes de la hidrólisis | | Producto de hidrólisis | |
|----------------------------|--------------------------------------|-----------|------------------------|-----------|
| | Ejemplo 1 | Ejemplo 2 | Ejemplo 1 | Ejemplo 2 |
| Ácidos grasos libres (%) | 0,03 | 0,04 | 25,21 | 22,74 |
| Monoacilgliceroles (%) | 0,93 | 1,17 | 21,98 | 23,22 |
| Diacilgliceroles (%) | 2,64 | 3,36 | 41,56 | 43,68 |
| Triacilgliceroles (%) | 96,40 | 95,43 | 11,25 | 10,36 |

20 Ejemplo 3

- [0036] Los productos de hidrólisis de los ejemplos 1 y 2 se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 min para separar la fase de aceite de la fase acuosa. La fase de aceite se sometió a destilación molecular a una temperatura de 160°C y a una presión de 0,01 mbar para obtener los ácidos grasos libres y los monoacilgliceroles como el destilado 1 y los diacilgliceroles y triacilgliceroles como el residuo 1. Se llevó a cabo una etapa de destilación molecular adicional a 210°C y 0,001 mbar para obtener los diacilgliceroles como destilado 2 y los triacilgliceroles como residuo 2. Los resultados se presentan en la tabla 2.

25

Tabla 2

| Producto de hidrólisis | Pureza de diacilgliceroles (%) | |
|------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| | Antes de purificación | Después de purificación |
| Ejemplo 1 | 41,56 | 88,70 |
| Ejemplo 2 | 43,68 | 90,83 |

30 Ejemplo 4

- [0037] Antes de añadir el éster de β -sitosterilo, se mantuvieron aproximadamente 200 gramos del aceite de diacilglicerol purificado obtenido del ejemplo 1 a aproximadamente 150°C. Se añadieron 16 g de éster de β -sitosterilo cristalizado en el aceite de diacilglicerol calentado y se mezclaron durante varios minutos, mientras la temperatura del aceite se dejaba enfriar lentamente a temperatura ambiente.

35

Ejemplo 5

- [0038] Antes de añadir el γ -orizanol, se mantuvieron aproximadamente 200 gramos del aceite de diacilglicerol purificado obtenido del ejemplo 2 a aproximadamente 150°C. Se añadieron 10 g de γ -orizanol cristalizado en el aceite de diacilglicerol calentado y se mezclaron durante varios minutos, mientras la temperatura del aceite se dejaba enfriar lentamente a temperatura ambiente.

40

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para producir diacilglicerol, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:
 5 (i) hacer reaccionar triacilglicerol con agua y una preparación enzimática que tiene una actividad hidrolítica a una temperatura en el intervalo de 20°C a 90°C para obtener una mezcla de diacilglicerol, monoacilglicerol y ácido graso libre;
 (ii) separar el contenido de agua en la mezcla de la etapa (i) mediante deshidratación; y
 (iii) separar el monoacilglicerol, el ácido graso libre y el triacilglicerol residual mediante al menos un procedimiento de separación para obtener un diacilglicerol de alta pureza;
 10 en el que la cantidad de agua en la mezcla de reacción de la etapa (i) es de 20 a 180 partes en peso de la preparación enzimática, y la etapa (i) se lleva a cabo hasta obtenerse entre 5% y 50% de ácidos grasos libres, produciendo así diacilglicerol de hasta 96% de pureza con un alto rendimiento en un periodo de tiempo corto.
2. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la preparación enzimática en la etapa
 15 (i) comprende una lipasa libre o una lipasa inmovilizada.
3. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la lipasa inmovilizada comprende una lipasa no selectiva de posición y/o selectiva de la posición 1,3 inmovilizada.
- 20 4. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la lipasa libre o lipasa inmovilizada se selecciona del grupo que consiste en lipasas obtenidas de microorganismos del género *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Candida* y *Pseudomonas*, que incluyen *Rhizopus delemar*, *Rhizopus japonicus*, *Rhizopus niveus*, *Aspergillus niger*, *Mucor javanicus*, *Mucor miehei*, *Candida rugosa*, *Candida antarctica* y/o *Pseudomonas cepacia*.
- 25 5. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el triacilglicerol usado en la etapa (i) se selecciona del grupo que consiste en grasa o aceite vegetal y animal, y/o mezclas de los mismos.
6. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la grasa o aceite se selecciona del grupo que consiste en aceite de canola, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de palma, aceite de almendra de palma, aceite de cacahuete, aceite de colza, aceite de cártamo, aceite de soja, aceite de girasol, aceite de oliva, aceite de salvado de arroz, aceite de salvado de maíz, aceite de borraja, aceite de onagra, aceite de semilla de lino, aceite de semilla de uva, aceite de linaza, aceite de argán, aceite de alfalfa, aceite de semilla de almendra, aceite de hueso de albaricoque, aceite de aguacate, aceite de babasú, aceite de baobab, aceite de semilla de grosella negra, aceite de nuez de Brasil, aceite de semilla de cacao, aceite de camelia, aceite de zanahoria, aceite de anacardo, aceite de avellana, aceite de semilla de cáñamo, aceite de semilla de kiwi, aceite de nuez de macadamia, aceite de semilla de mango, aceite de semilla de melón, aceite de semilla de níger, aceite de hueso de melocotón, aceite de perilla, aceite de pistacho, aceite de semilla de amapola, aceite de semilla de calabaza, aceite de semilla de rambután, aceite de escaramujo, aceite de sésamo, aceite de semilla de karité, aceite de bogol, aceite de nuez y aceite del germen de trigo, sebo de vaca, manteca de cerdo, aceite de pescado; aceites o
 30 grasas obtenidos de procedimientos de endurecimiento, hidrogenación, transesterificación o aleatorización, fraccionamiento, destilación; y/o mezclas de los mismos.
- 35 7. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el triacilglicerol comprende ácidos grasos saturados o insaturados que tienen de 2 a 24 átomos de carbono, que incluyen ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido valérico, ácido caproico, ácido enántico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido undecanoico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido miristoleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido zoomárico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido elaídico, ácido petroselínico, ácido linoleico, ácido α -linoleico, ácido α -linolénico, ácido γ -linolénico, ácido estearidónico, ácido araquídico, ácido araquidónico, ácido gadoleico, ácido aráquico, ácido dihomo- γ -linoleico, ácido icosapentanoico, ácido behénico, ácido erúcico, ácido adrénico, ácido docosapentanoico, ácido docosohexanoico, ácido nervónico o una forma isómera de los mismos, o ácidos grasos obtenidos por procesamiento de aceites o grasas, endurecimiento, hidrogenación, transesterificación o aleatorización, fraccionamiento, destilación; y/o mezclas de los mismos.
- 40 8. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la deshidratación se lleva a cabo por centrifugación, condensación, destilación, evaporación y/o absorción.
- 55 9. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el procedimiento de separación se lleva a cabo por destilación por vapor, destilación molecular y/o cromatografía de adsorción.

10. Un procedimiento para preparar una composición de aceites o grasas que comprende diacilglicerol en una cantidad de hasta 96%, que comprende (a) producir diacilglicerol por el procedimiento de la reivindicación 1; y (b) añadir al menos un éster de fitosterilo en una cantidad en el intervalo de 0,5% a 25% en peso de diacilglicerol.
- 5 11. Un procedimiento para preparar una composición de aceites o grasas que comprende diacilglicerol en una cantidad de hasta 96% en peso, que comprende (a) producir diacilglicerol por el procedimiento de la reivindicación 1; y (b) añadir al menos un éster de ácido ferúlico en una cantidad en el intervalo de 0,5% a 25% en peso de diacilglicerol.
- 10 12. Un procedimiento para preparar un producto alimentario procesado con aceite o grasa, un producto de bebida y un producto de aceite para cocinar, que comprende una etapa de preparación de una composición de aceites o grasas por un procedimiento como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 10 u 11, y/o cualquier combinación de los mismos.