

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 450 649**

51 Int. Cl.:

**A23L 1/30** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.10.2006 E 06022275 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2013 EP 1783200**

54 Título: **Mezclas de lípidos estructurados con ALC, ácidos grasos omega-3 y/o 6 y ácidos grasos de cadena media**

30 Prioridad:

**03.11.2005 DE 102005052442**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**25.03.2014**

73 Titular/es:

**COGNIS IP MANAGEMENT GMBH (100.0%)  
HENKELSTRASSE 67  
40589 DÜSSELDORF, DE**

72 Inventor/es:

**SCHÖRKEN, ULRICH;  
BELL, DORIS;  
HORLACHER, PETER;  
STUHLMANN, DIANA y  
MEYER, CAROLIN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 450 649 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**

Mezclas de lípidos estructurados con ALC, ácidos grasos omega-3 y/o 6 y ácidos grasos de cadena media.

**Campo de la invención**

5 La invención se refiere al ámbito de los aditivos y suplementos alimentarios y se refiere a mezclas de lípidos estructurados, a un procedimiento para su preparación así como a su uso en el ámbito de la alimentación humana, particularmente para la regulación del peso.

**Estado de la técnica**

10 En los últimos años han ganado en importancia los triglicéridos especiales con longitudes de cadena de C en el intervalo de 6 a 10 átomos de carbono, los denominados "triglicéridos de cadena media" (TCM), ya que en el ámbito de la alimentación humana reducen la absorción de sustancias grasas y aumentan tanto la oxidación de las grasas como la velocidad de metabolización. También en la aplicación práctica, los lípidos estructurados poseen frente a los lípidos naturales "normales" una gran cantidad de ventajas que, sin embargo, dependen en gran medida del campo de aplicación. Son ejemplos típicos

- ajuste de propiedades físicas óptimas (por ejemplo, en margarina, grasas de repostería, CBE)
- 15 • reajuste de una molécula especial de triglicérido (por ejemplo, en triglicéridos OPO para la alimentación de lactantes)
- TG altamente concentrados para la administración de ácidos grasos activos (por ejemplo, triglicéridos a base de ácido linoleico conjugado, ácido docosahexaenarboxílico o ácido eicosapentaenoico)
- aporte rápido de energía (TCM y lípidos que contienen ácidos grasos de cadena media)
- 20 • lípidos con un número de calorías reducido (por ejemplo, salatrim, caprenina) y aceites dietéticos con efecto de base estructural (por ejemplo, aceite Enova, lípidos basados en TCM)
- lípidos con absorción acelerada (mostrado para lípidos con grasos de cadena media).

25 Por los motivos mencionados, en la bibliografía se propone una y otra vez sustituir aceites de mesa convencionales "menos sanos" tales como, por ejemplo, aceite de girasol, oliva o cardo, por TCM "particularmente sanos". No obstante, en la práctica esto resulta extraordinariamente difícil, ya que para aprovechar las propiedades ventajosas de los TCM, un adulto promedio tendría que ingerir como media una dosis de 20 g/día. Sin embargo, esto ya se encuentra en el orden de magnitudes de la cantidad de consumo promedio de aceites de mesa, es decir, entonces ya no se deberían ingerir más aceites.

30 El objetivo complejo en el que, por tanto, se basa la presente invención ha consistido en preparar un aceite para el uso diario que

- contenga una composición sana de acuerdo con recomendaciones de expertos en alimentación con respecto a:
  - una proporción suficiente de ácidos grasos esenciales tales como, por ejemplo, ácido linoleico conjugado (ALC) o ácidos grasos omega-3 u omega-6,
  - una relación de  $\omega$ -6 /  $\omega$ -3 en el aceite en el intervalo de 5 : 1 a 1 :1,
  - 35 - una proporción elevada de ácido oleico de más del 20 % en moles así como
  - una proporción reducida de ácidos grasos saturados y trans (a excepción de los ácidos grasos esenciales),
- que posea al mismo tiempo un carácter eficaz con respecto a la reducción de la proporción de grasa corporal favorecido por:
  - una elevada proporción de ácidos grasos de cadena media directamente metabolizables
  - 40 - una dosis recomendada de isómeros de ALC eficaces
- y que se pueda reabsorber particularmente bien por una elevada proporción de triglicéridos estructurados con uno o dos restos acilo de cadena media en el aceite.

45 Otra exigencia a estos productos a desarrollar además ha consistido en que los mismos se comporten en su comportamiento físico-químico, por ejemplo, en lo relativo al punto de opacidad, temperatura de humo, estabilidad a oxidación y viscosidad, de forma similar a los aceites de mesa conocidos. Adicionalmente, el objetivo consistía en preparar el lípido estructurado en una calidad sensorial comparable a los aceites de mesa habituales.

Finalmente, un último objetivo consistía en desarrollar procedimientos de preparación cuidadosos para los lípidos estructurados que posibilitasen la producción de productos cualitativamente de alta calidad.

Torres, CF, Nettekoven, TJ y Hill, CGJR; Preparation of purified acylglycerols of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid and their reestrication with conjugated linoleic acid, Enzyme and microbial technology, volumen 32, 2003, páginas 49-58 desvela una mezcla que contiene lípidos con el 21 % en moles de ALC y el 21 % en moles de ácidos grasos omega-3/omega-6. La mezcla se aplica en los alimentos.

5 Raes, K, Huyghebaert, G, De Smet, S., Nollet, L., Arnouts, S y Demeyer, D.; The deposition of conjugated linoleic acids in eggs of laying hens fed diets varying in fat level and fatty acid profile, Journal of Nutrition, volumen 132, 2002, páginas 182-189 desvela una mezcla que contiene lípidos con el 5 % en moles de ALC y el 19 % en moles de ácidos grasos omega-3/omega-6. La mezcla de lípidos es un alimento.

10 Torres, CF y col.; Esterification of glycerol with conjugated linoleic acid and long-chain fatty acids from fish oil, Journal of the American oil chemist society, AOCS Press, volumen 78, Nº 11, noviembre de 2001, páginas 1093-1098 desvela una mezcla que contiene lípidos con el 22 % en moles de ALC y el 20 % en moles de ácidos grasos omega-3/omega-6. La mezcla se puede aplicar en los alimentos.

15 Garcia, HS, Arcos, JA, Ward, DJ y Hill, CGJR; Synthesis of glycerides containg n-3 fatty acids and conjugated linoleic acid by solvent-free acidolysis of fish oil, Biotechnology and Bioengineering, volumen 70, Nº 5, 2000, páginas 587-591 desvela una mezcla que contiene lípidos con el 3-50 % en moles de ALC y el 5-25 % en moles de ácidos grasos omega-3/omega-6. La mezcla se puede aplicar en los alimentos.

### Descripción de la invención

Son objeto de la invención mezclas de lípidos estructurados de fórmula (I),



20 que se caracterizan porque R<sup>1</sup>CO, R<sup>2</sup>CO y R<sup>3</sup>CO representan, independientemente entre sí,

- (i) restos acilo saturados lineales con 6 a 12 átomos de carbono o
- (ii) el resto acilo del ácido linoleico conjugado (ALC) y/o un ácido graso omega-3 u omega-6 (AO),

25 a condición de que la cantidad de restos acilo de ALC sea del 3 al 50 y, preferentemente, del 5 al 15 % en moles y/o que la cantidad de restos acilo de AO sea al menos del 5 al 25 y, preferentemente, del 7 al 15 % en moles, respectivamente en relación con la cantidad de restos acilo.

En los productos de Fórmula (I), que presentan distribución estadística de los ácidos grasos en las tres posiciones posibles (productos "aleatorios"), están las especies de Fórmula (I) en las que R<sup>1</sup>CO y R<sup>3</sup>CO representan restos acilo saturados lineales con 6 a 12 átomos de carbono y R<sup>2</sup>CO el resto acilo del ácido linoleico conjugado (ALC) y/o un ácido graso omega-3 u omega-6 (AO) y que, en lo sucesivo, se denominan "tipo ABA".

30 Con respecto a las propiedades deseadas han resultado preferentes, especialmente, las mezclas de lípidos de fórmula (I) que se caracterizan por las siguientes características estructurales, en solitario o en una combinación discrecional:

- un contenido de triglicéridos que se derivan de un ácido graso de cadena media y dos de cadena larga o de dos ácidos grasos de cadena media y de uno de cadena larga de al menos el 60 % en moles;
- 35 • un contenido de más del 20 % en moles de ácido oleico con respecto al contenido de ácidos grasos de cadena larga y un contenido de menos del 20 % en moles de ácidos grasos C<sub>12</sub>-C<sub>22</sub> saturados así como un contenido de menos del 2 % en moles de ácidos grasos trans insaturados, quedando exceptuadas de esto las proporciones de ALC y AO.
- 40 • un contenido de al menos el 90 % en moles del ALC unido en la molécula en forma del isómero 9-cis, 11-trans o del isómero 10-trans, 12-cis o mezclas de estos dos isómeros.
- un contenido de restos acilo que, siempre que se deriven de ácidos grasos omega-3 u omega-6, están presentes en una relación de ω-6 / ω-3 de 5 : 1 a 1 : 1.

45 Sorprendentemente se halló que los lípidos estructurados de acuerdo con la invención cumplen del mejor modo con el perfil de exigencias complejo deseado y en particular, además de sus buenas propiedades en cuanto a la fisiología de la alimentación, poseen una degradabilidad mejorada gracias a una capacidad mejorada de emulsión y, por tanto, accesibilidad mejorada para lipasas digestivas que, por ejemplo, el triglicérido de ALC puro, lo que mejora

la disponibilidad de ALC. La disponibilidad mejorada de los ácidos grasos eficaces conlleva ventajas adicionales en las propiedades físicas del producto. De este modo se han obtenido lípidos que presentan un punto de humo significativamente mejorado en hasta 25 °C en comparación con mezclas correspondientes de triglicéridos de cadena larga y de cadena media y que poseen una estabilidad a oxidación claramente aumentada en comparación con los aceites vegetales empleados y con el TG de ALC. Adicionalmente, los lípidos estructurados de acuerdo con la invención tenían propiedades sensoriales mejoradas tanto con respecto al olor como al sabor en comparación con los aceites vegetales empleados en la síntesis.

Transesterificación y esterificación

Como precaución en este punto se señala que por la expresión ácido linoleico conjugado se ha de entender mezclas técnicas habituales de isómeros de posición que presentan diferentes relaciones cis/trans y que, eventualmente, en cantidades de orden menor pueden contener también ácido linoleico convencional así como otros ácidos grasos por motivos de la producción. El ALC se prepara habitualmente mediante isomerización catalizada con base de aceite de cardo o ésteres de alquilo correspondientes e hidrólisis enzimática posterior. A este respecto ha resultado ventajoso que el ALC cumpla con una determinada especificación, de acuerdo con la cual el resto acilo presenta al menos el 30 % en peso de isómeros t10, c12, al menos el 30 % en peso de isómeros c9, t11 y sumados menos del 1 % en peso de isómeros 8,10, 11,13 y t,t. Lo análogo se cumple para el triglicérido a base de ácido linoleico conjugado (TG de ALC). En el mercado hay productos correspondientes, por ejemplo, con la denominación Tonalin® ALC-80 y Tonalin® ALC-TG. Para la preparación de productos farmacéuticos además ha resultado particularmente ventajoso que el ALC esté compuesto exclusivamente de isómeros c10, t12 o t9, c11.

Los ácidos grasos omega-3 u omega-6 presentan, habitualmente, de 20 a 28 átomos de carbono y de 4 a 6 enlaces dobles. Se pueden obtener, por ejemplo, de fuentes marinas, especialmente los distintos aceites de pescado o por vía fermentativa, por ejemplo, con ayuda de microalgas. Los representantes más conocidos son DHA (ácido docohexaenoico) y EPA (ácido eicosapentaenoico).

Otro objeto de la presente invención se refiere a un primer procedimiento para la preparación de mezclas de lípidos estructurados de fórmula (I),



en la que R<sup>1</sup>CO, R<sup>2</sup>CO y R<sup>3</sup>CO representan, independientemente entre sí,

- (i) restos acilo saturados lineales con 6 a 12 átomos de carbono o
- (ii) el resto acilo del ácido linoleico conjugado (ALC) y/o un ácido graso omega-3 u omega-6 (AO),

a condición de que la cantidad de restos acilo de ALC sea del 3 al 50 y, preferentemente, del 5 al 15 % en moles y/o que la cantidad de restos acilo de AO sea al menos del 5 al 25 y, preferentemente, del 7 al 15 % en moles, respectivamente en relación con la cantidad de restos acilo, que se caracteriza porque se someten (a) los denominados "triglicéridos de cadena media" (TCM) de Fórmula (II),



en la que R<sup>4</sup>CO, R<sup>5</sup>CO y R<sup>6</sup>CO representan, independientemente entre sí, restos acilo saturados lineales con 6 a 12 átomos de carbono y (b) ácido linoleico conjugado (ALC) y/o ácidos grasos omega-3 u omega-6 (AO) y/o triglicéridos a base de ácido linoleico conjugado (TG de ALC) o ácidos grasos omega-3 u omega-6 (TG de AO) a una transesterificación enzimática.

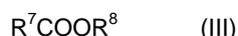
Además de la transesterificación de TCM con ALC o TG de ALC, las nuevas sustancias se pueden obtener también por vía de la esterificación. Por tanto, otro objeto de la presente invención se refiere a un segundo procedimiento para la preparación de mezclas de lípidos estructurados de Fórmula (I)



en la que R<sup>1</sup>CO, R<sup>2</sup>CO y R<sup>3</sup>CO

- (i) representan, independientemente entre sí, restos acilo saturados lineales con 6 a 12 átomos de carbono o
- (ii) el resto acilo del ácido linoleico conjugado (ALC) o un ácido graso omega-3 u omega-6 (AO),

5 a condición de que la cantidad de restos acilo de ALC sea del 3 al 50 y, preferentemente, del 5 al 15 % en moles y/o que la cantidad de restos acilo de AO sea del 5 al 25 y, preferentemente, del 7 al 15 % en moles, respectivamente en relación con la cantidad de restos acilo, que se caracteriza porque se someten (a) mezclas de ácidos grasos o sus ésteres de Fórmula (III)



10 en la que R<sup>7</sup>CO representa un resto acilo saturado lineal con 6 a 12 átomos de carbono y R<sup>8</sup> representa hidrógeno o un resto alquilo con 1 a 4 átomos de carbono y preferentemente metilo y (b) ácido linoleico conjugado (ALC) y/o ácidos grasos omega-3 u omega-6 a una esterificación o transesterificación enzimática.

Para incluir la cantidad pretendida de ALC o AO en los lípidos estructurados, además ha resultado ventajoso que se empleen los TCM o los ácidos grasos por un lado y el ALC y/o AO o sus triglicéridos por otro lado con respecto a equivalentes de ácidos grasos en la relación molar 1 : 1 a 20 : 1. Son ejemplos típicos de este aceite de colza, aceite de soja, aceite de girasol, aceite de cardo, aceite de oliva, aceite de perilla, aceite de borraja, aceite de linaza, aceite de atún, aceite de sardina, aceite de salmón, aceite de caballa así como aceites de algas y otros aceites microbianos que son ricos en ácidos grasos poliinsaturados. A este respecto, por norma general se emplean –con respecto a equivalentes de ácidos grasos– el TCM o los ácidos grasos por un lado y los aceites por otro lado en la relación molar 5 : 1 a 1 : 5 y, en particular, 3 : 1 a 1 : 3. Las condiciones en las que se llevan a cabo las reacciones enzimáticas en sí son conocidas por el experto y, siempre que esto no se aclare de por sí suficientemente por los ejemplos, se puede encontrar por el mismo y ajustar sin que se requiera para ello actividad inventiva. En particular, tanto para la transesterificación como para la esterificación ha resultado ventajosa una temperatura de reacción en el intervalo de 20 a 70 y, en particular, de 40 a 60 °C así como –independientemente de esto– un tiempo de reacción de 2 a 50, preferentemente de 10 a 25 horas.

#### Enzimas

La selección de las enzimas es crítica en el sentido de que de este modo se pueden regular, por un lado, la regioselectividad así como la conversión. Básicamente, para la preparación de los lípidos estructurados, ya sea a través de la vía de la transesterificación o la esterificación, se necesitan enzimas del tipo de las lipasas o esterases. Preferentemente, estas lipasas son lipasas *microbianas* y, a este respecto, se seleccionan del grupo que se forma por *Rhizomucor miehei*, *Thermomyces lanuginosus* así como *Candida antarctica B*. Además, ha resultado ventajoso emplear las lipasas que de forma en sí conocida están presentes en forma inmovilizada.

#### Procesamiento de los productos de reacción

Después de la transesterificación o esterificación ha resultado ventajoso retirar mediante destilación los ácidos grasos, ésteres y monoglicéridos que no han reaccionado de los productos de reacción, por ejemplo, a temperaturas por debajo de 220 °C y presiones inferiores a 100 Pa (1 mbar). Después, habitualmente, los productos se someten a una desodorización y/o un blanqueo mediante el uso de arcilla blanqueadora y/o carbón activado. Durante y/o después de la reacción se pueden añadir a la mezcla, además, antioxidantes admitidos para el ámbito de los alimentos, por ejemplo, en una concentración de 100 - 2000 ppm.

#### Aplicabilidad industrial

Otro objeto de la presente invención se refiere, por tanto, al uso de las nuevas mezclas de lípidos estructurados como alimento o como suplementos alimentarios, como componente en preparaciones farmacéuticas o de pienso animal, pudiéndose tratar en el caso de estos nuevos productos, por ejemplo, de aceites de mesa o de mesa dietéticos así como aceites para asar y freír y similares. Además, los lípidos pueden representar un componente de aliños, mayonesas, margarina, productos lácteos, salsas, productos de panadería y confitería y similares. A este respecto, las mezclas de lípidos se pueden emplear para la transesterificación con grasas hidrogenadas para la generación de lípidos con un contenido de grasa sólida, comportamiento de fusión y cristalización ajustables. Además, los lípidos se pueden emplear en las más diversas formas de administración, en particular también en forma de macro- o microcápsulas. Otra forma de administración es en forma de emulsiones estables con

emulsionantes tales como, por ejemplo, fosfolípidos para un empleo en preparaciones farmacéuticas, en particular para la alimentación parenteral.

Los lípidos se pueden emplear, en general, para la alimentación diaria y son adecuados para la sustitución completa de las grasas de los alimentos. Los lípidos de acuerdo con la invención poseen un contenido suficiente de ácidos grasos esenciales en un equilibrio de  $\omega$ -6 /  $\omega$ -3 ventajoso en cuanto a la fisiología de la alimentación. Una utilidad adicional de los lípidos son los efectos activos. Los ácidos grasos de cadena media aportan al cuerpo energía rápidamente disponible sin producir masa grasa corporal y el ALC influye positivamente en el equilibrio de grasa corporal y masa muscular. Adicionalmente, los lípidos estructurados garantizan una buena disponibilidad de los ácidos grasos omega-3 u omega-6 así como del ALC. Por tanto, los lípidos estructurados de acuerdo con la invención son adecuados para la aplicación como aceite dietético y como fuente de energía en la alimentación de deportistas así como para la alimentación de personas con enfermedades del metabolismo de las grasas al igual que para la preparación de un medicamento para el tratamiento de tales enfermedades.

A continuación se indican algunas formas de realización seleccionadas de la presente invención:

1. Mezcla que contiene lípidos de fórmula (I),



caracterizada porque  $\text{R}^1\text{CO}$ ,  $\text{R}^2\text{CO}$  y  $\text{R}^3\text{CO}$  están seleccionados, independientemente entre sí, del grupo compuesto de

- (i) un resto acilo saturado lineal con 6 a 12 átomos de carbono,
- (ii) el resto acilo del ácido linoleico conjugado (ALC)
- (iii) el resto acilo de un ácido graso omega-3 (AO) y
- (iv) el resto acilo de un ácido graso omega-6 (AO),

a condición de que la cantidad de restos acilo de ALC en la mezcla sea del 3 al 50 % en moles y la cantidad de restos acilo de AO en la mezcla sea del 5 al 25 % en moles, respectivamente en relación con la cantidad de todos los restos acilo en la mezcla.

2. Mezcla de acuerdo con la forma de realización 1, **caracterizada porque**  $\text{R}^1\text{CO}$  y  $\text{R}^3\text{CO}$  representan restos acilo saturados lineales con 6 a 12 átomos de carbono y  $\text{R}^2\text{CO}$  el resto acilo del ácido linoleico conjugado (ALC) y/o un ácido graso omega-3 u omega-6 (AO) (tipo ABA).

3. Mezcla de acuerdo con las formas de realización 1 o 2, **caracterizada porque** presenta un contenido de triglicéridos que se derivan de un ácido graso de cadena media y dos de cadena larga o de dos ácidos grasos de cadena media y uno de cadena larga de al menos el 60 % en moles.

4. Mezcla de acuerdo con una de las formas de realización 1 a 3, **caracterizada porque** presenta un contenido de más del 20 % en moles de ácido oleico con respecto al contenido de ácidos grasos de cadena larga y un contenido de menos del 20 % en moles de ácidos grasos  $\text{C}_{12}$ - $\text{C}_{22}$  saturados así como un contenido de menos del 2 % en moles de ácidos grasos trans insaturados, quedando exceptuadas de esto las proporciones de ALC y AO.

5. Mezcla de acuerdo con una de las formas de realización 1 a 4, **caracterizada porque** al menos el 90 % en moles del ALC unido en la molécula representa el isómero cis 9, trans 11 o el isómero 10 trans, cis 12 o mezclas de estos dos isómeros.

6. Mezcla de acuerdo con una de las formas de realización 1 a 5, **caracterizada porque** los restos acilo, siempre que se deriven de ácidos grasos omega-3 u omega-6, están presentes en una relación de  $\omega$ -6 /  $\omega$ -3 de 5 : 1 a 1 : 1.

7. Procedimiento para la preparación de la mezcla de acuerdo con la forma de realización 1, **caracterizado porque** se someten

- (a) los denominados "triglicéridos de cadena media" (TCM) de Fórmula (II),



representando  $\text{R}^4\text{CO}$ ,  $\text{R}^5\text{CO}$  y  $\text{R}^6\text{CO}$ , independientemente entre sí, respectivamente un resto acilo saturado lineal con 6 a 12 átomos de carbono y

5 (b) ácido linoleico conjugado (ALC) y/o ácidos grasos omega-3 (AO) y/o ácidos grasos omega-6 (AO) y/o triglicéridos a base de ácido linoleico conjugado (TG de ALC) y/o triglicéridos a base de ácidos grasos omega-3 u omega-6 (TG de AO) a una transesterificación enzimática.

8. Procedimiento para la preparación de la mezcla de acuerdo con la forma de realización 1, caracterizado porque se someten

(a) mezclas de ácidos grasos o sus ésteres de Fórmula (III),



en la que  $\text{R}^7\text{CO}$  representa un resto acilo saturado lineal con 6 a 12 átomos de carbono y  $\text{R}^8$  representa hidrógeno o un resto alquilo con 1 a 4 átomos de carbono y

(b) ácido linoleico conjugado (ALC) y/o ácidos grasos omega-3 y/u omega-6 a una esterificación o transesterificación enzimática.

15 9. Procedimiento de acuerdo con una de las formas de realización 7 u 8, caracterizado porque los TCM o los ácidos grasos por un lado y el ALC y/o AO o sus triglicéridos, por otro lado, se emplean con respecto a los equivalentes de ácidos grasos en la relación molar 1 : 1 a 20 : 1.

20 10. Procedimiento de acuerdo con una de las formas de realización 7 a 9, **caracterizado porque** la transesterificación o esterificación se lleva a cabo en presencia de aceites vegetales o marinos o microbianos o sus mezclas.

11. Procedimiento de acuerdo con la forma de realización 10, **caracterizado porque** se emplean aceites que están seleccionados del grupo formado por aceite de colza, aceite de soja, aceite de girasol, aceite de cardo, aceite de oliva, aceite de atún, aceite de sardina, aceite de salmón, aceite de caballa así como aceites de algas y otros aceites microbianos que son ricos en ácidos grasos poliinsaturados.

25 12. Procedimiento de acuerdo con una de las formas de realización 10 u 11, caracterizado porque el TCM o los ácidos grasos, por un lado y los aceites, por otro lado, se emplean –con respecto a los equivalentes de ácidos grasos– en la relación molar 5 : 1 a 1 : 5.

13. Procedimiento de acuerdo con una de las formas de realización 7 a 12, caracterizado porque la transesterificación o esterificación enzimática se lleva a cabo en presencia de al menos una lipasa o esterasa.

30 14. Procedimiento de acuerdo con una de las formas de realización 7 a 13, caracterizado porque se emplean lipasas que están seleccionadas del grupo de las lipasas microbianas.

15. Procedimiento de acuerdo con una de las formas de realización 7 a 14, **caracterizado porque** se emplean lipasas microbianas que están seleccionadas del grupo que se forma por *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Thermomyces*, *Pseudomonas* así como *Candida*.

35 16. Procedimiento de acuerdo con una de las formas de realización 7 a 15, **caracterizado porque** se emplean lipasas inmovilizadas.

17. Procedimiento de acuerdo con una de las formas de realización 7 a 16, **caracterizado porque** la transesterificación o esterificación enzimática se lleva a cabo a temperaturas en el intervalo de 20 a 70 °C.

40 18. Procedimiento de acuerdo con una de las formas de realización 7 a 17, caracterizado porque la transesterificación o esterificación enzimática se lleva a cabo a lo largo de un periodo de tiempo de 2 a 50 horas.

19. Procedimiento de acuerdo con una de las formas de realización 7 a 18, **caracterizado porque** se retiran mediante destilación los ácidos grasos, ésteres y monoglicéridos que no han reaccionado de los productos de reacción.

45 20. Procedimiento de acuerdo con una de las formas de realización 7 a 19, caracterizado porque a continuación los productos de reacción se someten a una desodorización y/o blanqueo.

21. Procedimiento de acuerdo con una de las formas de realización 7 a 21, caracterizado porque durante y/o después de la reacción se añaden a la mezcla antioxidantes admitidos en el ámbito de los alimentos.
22. Uso de la mezcla de acuerdo con la forma de realización 1 como alimento, suplemento alimentario, preparación farmacéutica o pienso animal.
- 5 23. Uso de acuerdo con la forma de realización 22, **caracterizado porque** los alimentos representan aceites de mesa o aceites de mesa dietéticos, aceites para asar o freír y similares.
24. Uso de acuerdo con la forma de realización 22, **caracterizado porque** la mezcla representa un componente de aliños, mayonesas, margarina, productos lácteos, salsas, productos de panadería y confitería y similares.
- 10 25. Uso de acuerdo con la forma de realización 22, **caracterizado porque** la mezcla se emplea para la transesterificación con grasas hidrogenadas y para la generación de lípidos con un contenido de grasa sólida, comportamiento de fusión y cristalización ajustables.
26. Uso de acuerdo con la forma de realización 22, **caracterizado porque** la mezcla se emplea para la alimentación parenteral.
- 15 27. Uso de acuerdo con una de las formas de realización 22 a 26, **caracterizado porque** la mezcla se emplea en forma de emulsiones con fosfolípidos o capsulas.
28. Uso de acuerdo con una de las formas de realización 22 a 27, **caracterizado porque** las mezclas de lípidos se emplean para el suministro de ácido linoleico conjugado y/o ácidos grasos omega-3 u omega-6 y para la reducción del tejido graso.
- 20 29. Uso de acuerdo con una de las formas de realización 22 a 28, **caracterizado porque** las mezclas de lípidos se emplean como aceites de efecto dietético.
30. Uso de acuerdo con una de las formas de realización 22 a 29, **caracterizado porque** las mezclas de lípidos se emplean como fuente de energía rápida y para la generación de masa muscular en la alimentación de deportistas.
- 25 31. Uso de la mezcla de acuerdo con la forma de realización 1 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades del metabolismo de las grasas.

## Ejemplos

### Ejemplo 1

Preparación de lípidos estructurados mediante transesterificación enzimática

30 En cuatro preparaciones se introdujeron mediante pesada, respectivamente, 25 g de TCM (triglicéridos de cadena media, Myritol® 314, Cognis Deutschland GmbH & Co. KG), 5 g de triglicérido de ALC (Tonalin® TG 80, Cognis Deutschland GmbH & Co. KG) así como 20 g de aceite de colza. A las preparaciones 1 y 3 se añadieron, respectivamente, 2,5 g de lipasa inmovilizada de *Rhizomucor miehei* y a las preparaciones 2 y 4, respectivamente, 2,5 g de lipasa inmovilizada de *Thermomyces lanuginosus*. Las preparaciones 1 y 2 se incubaron a 45 °C y las preparaciones 3 y 4 a 60 °C con agitación. Después de 5 h o 29 h (solo de las preparaciones 1 + 2) se extrajeron respectivamente muestras y se analizaron mediante cromatografía de gases. Los resultados están resumidos en la

35 Tabla 1. Está indicada la composición en % de área de CG así como el índice de acidez.

**Tabla 1**

Composición del producto de reacción						
Composición	1a	1b	1c	1d	1e	1f
Preparación N°	1	1	2	2	3	4
Tiempo de reacción [h]	5	29	5	29	5	5
<i>Distribución de glicéridos [% de área]</i>						
- AG (cadena media)	2,6	2,6	2,4	2,3	2,7	2,4
- AG (cadena larga)	1,7	2,1	2,0	2,0	2,0	2,0
- MG (cadena media)	0	0	0	0	0	0
- MG (cadena larga)	0	0	0	0	0	0
- DG (2x cadena media)	4,2	3,6	3,4	3,2	4,0	3,4
- DG (1x cadena media, 1x larga)	2,0	1,9	1,5	1,4	2,0	1,7

(continuación)

Composición del producto de reacción						
Composición	1a	1b	1c	1d	1e	1f
- DG (2x cadena larga)	0,4	0,5	0,5	0,6	0,9	0,3
- TG (3x cadena media)	34,4	23,9	24,7	21,4	29,7	21,6
- TG (2x cadena media, 1x larga)	23,1	35,1	37,8	39,3	28,6	39,3
- TG (1x cadena media, 2x larga)	15,3	24,3	23,0	26,1	21,1	25,3
- TG (3x cadena larga)	16,3	6,0	4,7	3,7	9,2	4,1
Índice de acidez	7	7	7	8	8	7

Los ejemplos muestran que la transesterificación con ambas lipasas inmovilizadas tanto a 45 °C como a 60 °C se desarrolla con rendimientos excelentes.

### Ejemplo 2

- 5 Preparación de lípidos estructurados mediante transesterificación enzimática con purificación de producto mediante destilación

10 En un matraz se introdujeron mediante pesada 750 g de TCM, 150 g de triglicérido de ALC así como 600 g de aceite de colza. La preparación se revistió con nitrógeno, se mezcló con 75 g de lipasa inmovilizada de *Thermomyces lanuginosus* y se incubó durante 24 h con agitación. Después de 5 h o 24 h se extrajeron respectivamente muestras y se analizaron mediante cromatografía de gases así como con respecto al índice de acidez. Después de 24 h se retiró la enzima mediante filtración del producto bruto. El producto bruto se purificó a 200 °C y un vacío de 40 Pa (0,4 mbar) por medio de una destilación de recorrido corto. A continuación se analizaron el producto de fondo así como el destilado mediante cromatografía de gases y química húmeda. A este respecto se analizó la distribución de los glicéridos así como el espectro de ácidos grasos y se determinaron los índices característicos de química de grasas del producto de fondo. El producto de fondo se refinó con hidróxido sódico al 50 % en peso (doble cantidad molar con respecto a los ácidos grasos libres) a 80 °C durante 15 min, se trató durante 15 min a 100 °C con el 2 % de arcilla blanqueadora Tonsil y después se lavó con el 5 % en peso de agua. A continuación se separó la fase acuosa y el residuo se secó al vacío. El producto terminado se mezcló para la estabilización con 500 ppm de tocoferoles mixtos (Covi-ox T-90). Los resultados están resumidos en la Tabla 2. Está indicada la composición en % de área de CG así como el índice de acidez. En la Tabla 3 están indicados los índices de acidez así como los índices de color según Lovibond y Gardner antes y después del refinado y el blanqueo.

**Tabla 2**

Composición del producto de reacción				
Composición	2a	2b	2c	2d
Producto	5 h de síntesis	24 h de síntesis	Destilación fondo	Destilación destilado
<i>Distribución de glicéridos [% de área]</i>				
- AG (cadena media)	1,5	1,3	0,1	31,6
- AG (cadena larga)	0,7	0,8	0,7	16,6
- MG (cadena media)	0	0	0	0,8
- MG (cadena larga)	0	0	0	0
- DG (2x cadena media)	2,3	2,0	1,4	16,8
- DG (1x cadena media, 1x larga)	0,5	1,0	0,7	0,4
- DG (2x cadena larga)	0,3	0,5	0,4	0
- TG (3x cadena media)	33,7	21,6	21,6	31,5
- TG (2x cadena media, 1x larga)	30,2	40,9	41,7	2,2
- TG (1x cadena media, 2x larga)	16,0	27,5	28,7	0,1
- TG (3x cadena larga)	14,8	4,4	4,7	0
<i>Espectro de ácidos grasos</i>				
- C8		30,0	29,7	49,9
- C10		13,5	13,9	19,0
- C16:0		2,4	2,4	2,2
- C18:0		1,2	1,2	0,8

(continuación)

Composición del producto de reacción				
Composición	2a	2b	2c	2d
- C18:1		29,8	39,9	17,4
- C18:2		9,5	9,4	4,3
- C18:3		4,0	3,9	1,7
- C9,t11 ALC		4,9	4,8	2,4
- t10,c12 ALC		4,7	4,7	2,2
<i>Índices característicos de química húmeda</i>				
Índice de acidez	5	5	1,3	137
Índice de hidroxilo			6,4	
Índice de yodo			57	
Índice de saponificación			261	
Índice de peróxido			5,0	

Tabla 3

Descripción del producto de reacción			
Índices de color	Producto de fondo después de la destilación	Producto blanqueado, refinado	Aceite de colza
Gardner	3,4	1,0	1,8
Lovibond 5 ¼	Ly 24,0; Lr 2,8	Ly 7,8; Lr 1,0	Ly 12,0; Lr 1,4
Índice de acidez	1,3	0,5	0,4

Los ejemplos muestran que mediante transesterificación enzimática y purificación por destilación se pueden preparar lípidos estructurados de gran calidad.

### 5 Ejemplo 3

Preparación de lípidos estructurados mediante transesterificación enzimática con purificación de producto por destilación

En un matraz se dispusieron 450 g de TCM, 150 g de triglicérido de ALC así como 900 g de aceite de colza. La preparación se recubrió con nitrógeno, se mezcló con 75 g de lipasa inmovilizada de *Thermomyces lanuginosus* y se incubó durante 24 h con agitación. Después de 5 h o 24 h se extrajeron respectivamente muestras y se analizaron mediante cromatografía de gases así como con respecto al índice de acidez. Después de 24 h se retiró la enzima mediante filtración del producto bruto. El producto bruto se purificó a 200 °C y un vacío de 40 Pa (0,4 mbar) por medio de una destilación de recorrido corto. El producto de fondo así como el destilado se analizaron mediante cromatografía de gases y química húmeda. A este respecto se analizó la distribución de los glicéridos así como el espectro de ácidos grasos así como los índices característicos de química de grasas del producto de fondo. El producto de fondo se refinó con hidróxido sódico al 50 % en peso (doble cantidad molar con respecto a ácidos grasos libres) a 80 °C durante 15 min, se trató durante 15 min a 100 °C con el 2 % en peso de arcilla blanqueadora Tonsil y finalmente se lavó con el 5 % en peso de agua. A continuación se retiró la fase acuosa y se secó el producto al vacío. El producto terminado se mezcló para la estabilización con 500 ppm de tocoferoles mixtos (Covi-ox T-90). Los resultados están resumidos en la Tabla 4. Está indicada la composición en % de área de CG así como el índice de acidez. En la Tabla 5 están indicados los índices de acidez así como los índices de color según Lovibond y Gardner antes y después del refinado y el blanqueo.

Tabla 4

Composición del producto de reacción				
Composición	3a	3b	3c	3d
Producto	5 h de síntesis	24 h de síntesis	Destilación fondo	Destilación destilado
<i>Distribución de glicéridos [% de área]</i>				
- AG (cadena media)	1,0	0,9	0	29,2
- AG (cadena larga)	0,8	1,1	0,7	35,1
- MG (cadena media)	0	0	0	0,9

(continuación)

<b>Composición del producto de reacción</b>				
<b>Composición</b>	<b>3a</b>	<b>3b</b>	<b>3c</b>	<b>3d</b>
- MG (cadena larga)	0	0	0	0
- DG (2x cadena media)	0,9	0,7	0,7	13,4
- DG (1x cadena media, 1x larga)	0,5	0,9	0,5	0,9
- DG (2x cadena larga)	0,5	1,0	0,5	0
- TG (3x cadena media)	16,8	8,5	9,5	18,3
- TG (2x cadena media, 1x larga)	25,3	30,8	32,5	2,1
- TG (1x cadena media, 2x larga)	26,3	41,3	43,2	0,1
- TG (3x cadena larga)	27,9	14,8	12,4	0
<i>Espectro de ácidos grasos</i>				
- C8		19,9	20,5	35,0
- C10		8,8	9,2	14,2
- C16:0		3,0	3,0	3,7
- C18:0		1,4	1,3	1,2
- C18:1		39,3	38,5	29,4
- C18:2		12,7	12,6	7,5
- C18:3		5,5	5,5	3,2
- C9,t11 ALC		4,8	4,7	3,0
- t10,c12 ALC		4,7	4,6	2,9
<i>Índices característicos de química húmeda</i>				
Índice de acidez	4	5	1,4	168
Índice de hidroxilo			6,2	
Índice de yodo			66	
Índice de saponificación			239	
Índice de peróxido			9,4	

**Tabla 5**

<b>Descripción del producto de reacción</b>			
Índices de color	Producto de fondo después de destilación	Producto blanqueado, refinado	Aceite de colza
Gardner	3,6	1,1	1,8
Lovibond 5 ¼	Ly 26,0; Lr 3,1	Ly 8,2; Lr 0,9	Ly 12,0; Lr 1,4
Índice de acidez	1,4	0,4	0,4

Los ejemplos muestran que mediante transesterificación enzimática y purificación por destilación se pueden preparar lípidos estructurados de gran calidad.

#### 5 Ejemplo 4

Preparación de lípidos estructurados mediante síntesis enzimática

En dos preparaciones se introdujeron mediante pesada, respectivamente, 30 g de ácido caprílico, 12 g de ácido cáprico, 9 g de ácido graso ALC al 80 % en peso (Tonalin® ALC 80; Cognis Deutschland GmbH & Co. KG), 9 g de glicerina así como 40 g de aceite de colza. A la preparación 1 se añadieron 5 g de lipasa inmovilizada de *Candida antarctica B* y a la preparación 2, 5 g de lipasa inmovilizada de *Rhizomucor miehei*. Las preparaciones se incubaron a 60 °C y un vacío de 2 kPa (20 mbar) con agitación y gasificación con nitrógeno. Después de 6 h y 24 h se extrajeron respectivamente muestras y se analizaron mediante cromatografía de gases. Los resultados están resumidos en la Tabla 6. Está indicada la composición en % de área de CG así como el índice de acidez (medido después de 50 h).

Tabla 6

Composición del producto de reacción				
Composición	4a	4b	4c	4d
Preparación N°	1	1	2	2
Tiempo de reacción [h]	6	24	6	24
<i>Distribución de glicéridos [% de área]</i>				
- AG (cadena media)	11,3	5,9	16,9	10,4
- AG (cadena larga)	7,2	5,1	10,3	7,8
- MG (cadena media)	0	0	0	0
- MG (cadena larga)	0	0	0	0
- DG (2x cadena media)	6,9	0,5	12,8	8,1
- DG (1x cadena media, 1x larga)	6,7	0	21,1	2,5
- DG (2x cadena larga)	1,3	0,7	1,4	0,9
- TG (3x cadena media)	20,3	21,6	3,2	16,5
- TG (2x cadena media, 1x larga)	20,4	34,8	13,6	27,8
- TG (1x cadena media, 2x larga)	11,7	22,9	15,2	21,9
- TG (3x cadena larga)	14,2	8,4	5,0	4,1
Índice de acidez	21		20	

Los ejemplos muestran que tanto con lipasa inmovilizada de *Candida B* como con lipasa inmovilizada de *Rhizomucor miehei* se consigue una síntesis con transesterificación simultánea. A este respecto, la lipasa de *Candida B* muestra una actividad de síntesis mejor, mientras que la lipasa de *Rhizomucor miehei* posee una mejor actividad de transesterificación.

#### Ejemplo 5

Preparación de lípidos estructurados mediante síntesis enzimática con purificación de producto por destilación

En un reactor de doble camisa calentable se introdujeron mediante pesada 450 g de ácido caprílico, 180 g de ácido cáprico, 135 g de ácido graso de ALC al 80 % en peso (Tonalin® ALC 80), 142,5 g de glicerina así como 900 g de aceite de colza. A la preparación se añadieron 37,5 g de lipasa inmovilizada de *Candida antarctica B* y 37,5 g de lipasa inmovilizada de *Rhizomucor miehei* y la preparación se incubó durante 48 h a 60 °C con agitación y gasificación con nitrógeno a un vacío de 500 Pa (5 mbar). Después de 5 h, 24 h o 48 h se extrajeron respectivamente muestras y se analizaron mediante cromatografía de gases así como respecto al índice de acidez. Después de 48 h se retiró la enzima mediante filtración del producto bruto que se purificó a continuación a 200 °C y un vacío de 40 Pa (0,4 mbar) por medio de una destilación de recorrido corto. El producto de fondo así como el destilado se analizaron mediante cromatografía de gases así como mediante química húmeda y se analizó la distribución de los glicéridos así como el espectro de ácidos grasos y se determinaron los índices característicos de química de grasas del producto de fondo. El producto de fondo se refinó con el 50 % en peso de hidróxido sódico (doble cantidad molar con respecto a ácidos grasos libres) a 80 °C durante 15 min y se trató durante 15 min a 100 °C con el 2 % de arcilla blanqueadora Tonsil. A continuación se lavó el producto con el 5 % en peso de agua, se separó la fase acuosa y el residuo se secó al vacío. El producto terminado se mezcló para la estabilización con 500 ppm de tocoferoles mixtos (Covi-ox T-90). Los resultados están resumidos en la Tabla 7. Está indicada la composición en % de área de CG así como el índice de acidez. En la Tabla 8 están indicados los índices de acidez así como los índices de color según Lovibond y Gardner antes y después del refinado y el blanqueo.

Tabla 7

Composición del producto de reacción					
Composición	5a	5b	5c	5d	5e
Producto	5 h de síntesis	24 h de síntesis	48 h de síntesis	Destilación fondo	Destilación destilado
<i>Distribución de glicéridos [% de área]</i>					
- AG (cadena media)	16,4	4,0	3,8	0	18,8
- AG (cadena larga)	8,7	4,1	3,1	0,2	22,7
- MG (cadena media)	0	0	0	0	0,3
- MG (cadena larga)	0	0	0	0	0

(continuación)

Composición del producto de reacción					
Composición	5a	5b	5c	5d	5e
- DG (2x cadena media)	13,6	0,5	0,2	0	3,7
- DG (1x cadena media, 1x larga)	9,9	0,8	0	0,2	0,3
- DG (2x cadena larga)	0,9	0,4	0,6	0,6	0
- TG (3x cadena media)	10,1	17,4	18,3	12,9	49,6
- TG (2x cadena media, 1x larga)	12,6	39,3	39,9	45,9	4,5
- TG (1x cadena media, 2x larga)	10,8	28,3	29,3	34,7	0,1
- TG (3x cadena larga)	16,5	5,2	4,8	5,5	0
<i>Espectro de ácidos grasos</i>					
- C8			30,9	27,2	56,0
- C10			13,9	13,8	16,9
- C16:0			2,5	2,5	1,4
- C18:0			1,2	1,2	0,6
- C18:1			29,4	31,7	15,1
- C18:2			9,5	10,3	3,8
- C18:3			3,9	4,3	1,6
- C9,t11 ALC			4,3	4,6	2,4
- t10,c12 ALC			4,3	4,5	2,1
<i>Índices característicos de química húmeda</i>					
Índice de acidez		19	13	0,4	99
Índice de hidroxilo				2,5	
Índice de yodo				57	
Índice de saponificación				251	
Índice de peróxido				4,0	

**Tabla 8**

Descripción del producto de reacción			
Índices de color	Producto de fondo después de destilación	Producto blanqueado, refinado	Aceite de colza
Gardner	3,5	0,8	1,8
Lovibond 5 ¼	Ly 22,0; Lr 3,0	Ly 6,4; Lr 0,9	Ly 12,0; Lr 1,4
Índice de acidez	0,4	0,1	0,4

Los ejemplos muestran que mediante síntesis enzimática y purificación por destilación se pueden preparar lípidos estructurados de gran calidad.

## 5 Ejemplo 6

Preparación de lípidos estructurados mediante síntesis enzimática acoplada y transesterificación con purificación de producto por destilación

En un reactor de doble camisa calentable se introdujeron mediante pesada 450 g de ácido caprílico, 180 g de ácido cáprico, 135 g de ácido graso de ALC al 80 % en peso (Tonalin® ALC 80), 142,5 g de glicerina así como 900 g de aceite de colza. A la preparación se añadieron 50 g de lipasa inmovilizada de *Candida antarctica B* y se incubó la preparación durante 24 h a 60 °C con agitación y gasificación con nitrógeno a un vacío de 500 Pa (5 mbar). Después de 5 h o 24 h se extrajeron respectivamente muestras y se analizaron mediante cromatografía de gases así como respecto al índice de acidez. Después de 24 h se separó la enzima mediante filtración del producto bruto y para la transesterificación posterior se bombeó a través de una columna rellena con lipasa inmovilizada de *Thermomyces lanuginosus*. Con este fin, la columna estaba cargada con 25 g de lipasa inmovilizada y se hizo funcionar a temperatura ambiente con un caudal de 50 g/h. El producto transesterificado se examinó mediante cromatografía de gases así como con respecto al índice de acidez y a continuación se purificó a 200 °C y un vacío de 40 Pa (0,4

5 mbar) por medio de una destilación de recorrido corto. El producto de fondo así como el destilado se analizaron mediante cromatografía de gases y química húmeda. A este respecto se analizan la distribución de los glicéridos así como el espectro de ácidos grasos y se determinan los índices característicos de química de grasas del producto de fondo. Después se refinó el producto de fondo con el 50 % en peso de hidróxido sódico (doble cantidad molar con respecto a ácidos grasos libres) a 80 °C durante 15 min, se trató durante 15 min a 100 °C con el 2 % en peso de arcilla blanqueadora Tonsil y se lavó con el 5 % en peso de agua. A continuación se separó la fase acuosa y el producto se secó al vacío. El producto terminado se mezcló para la estabilización con 500 ppm de tocoferoles mixtos (Covi-ox T-90). Los resultados están resumidos en la Tabla 9. Está indicada la composición en % de área de CG así como el índice de acidez. En la Tabla 10 están indicados los índices de acidez así como los índices de color antes y después del refinado y el blanqueo.

10

**Tabla 9**

Composición del producto de reacción					
Composición	6a	6b	6c	6d	6e
Producto	5 h de síntesis	24 h de síntesis	Columna de transest.	Destilación fondo	Destilación destilado
<i>Distribución de glicéridos [% de área]</i>					
- AG (cadena media)	14,8	4,2	3,5	0	20,5
- AG (cadena larga)	5,6	3,4	3,0	0,3	24,4
- MG (cadena media)	0	0	0	0	0,3
- MG (cadena larga)	0	0	0	0	0
- DG (2x cadena media)	15,1	1,7	1,8	0,2	12,4
- DG (1x cadena media, 1x larga)	5,3	0,4	1,0	0,5	1,0
- DG (2x cadena larga)	0,8	0,9	0,7	0,8	0
- TG (3x cadena media)	16,9	21,0	18,7	16,0	38,4
- TG (2x cadena media, 1x larga)	7,9	34,8	37,9	42,9	3,0
- TG (1x cadena media, 2x larga)	4,0	25,1	27,4	32,2	0
- TG (3x cadena larga)	29,6	8,5	6,0	7,1	0
<i>Espectro de ácidos grasos</i>					
- C8			28,2	27,5	50,1
- C10			13,4	13,8	16,5
- C16:0			2,4	2,5	1,8
- C18:0			1,2	1,2	0,8
- C18:1			31,2	31,6	18,5
- C18:2			10,0	10,3	4,6
- C18:3			4,2	4,1	1,9
- C9,t11 ALC			4,8	4,5	3,1
- t10,c12 ALC			4,6	4,5	2,7
<i>Índices característicos de química húmeda</i>					
Índice de acidez	50	20	16	0,4	115
Índice de hidroxilo				5,4	
Índice de yodo				68	
Índice de saponificación				255	
Índice de peróxido				5,2	

**Tabla 10**

Descripción del producto de reacción			
Índices de color	Producto de fondo después de destilación	Producto blanqueado, refinado	Aceite de colza
Gardner	3,9	0,8	1,8
Lovibond 5 ¼	Ly 27,0; Lr 3,7	Ly 6,3; Lr 0,8	Ly 12,0; Lr 1,4
Índice de acidez	0,4	0,4	0,4

Los ejemplos muestran que mediante síntesis enzimática y transesterificación se pueden obtener lípidos estructurados cualitativamente de alta calidad después de la purificación por destilación.

### Ejemplo 7

Preparación de lípidos estructurados mediante transesterificación enzimática

- 5 En tres preparaciones se introdujeron mediante pesada, respectivamente, 17,5 g de ácido caprílico, 7,5 g de ácido cáprico, 5 g de triglicérido de ALC (Tonalin® TG 80) así como 20 g de aceite de colza. A las preparaciones 1 y 2 se añadieron respectivamente 2,5 g de lipasa inmovilizada de *Rhizomucor miehei* y a la preparación 3, 2,5 g de lipasa inmovilizada de *Thermomyces lanuginosus*. Las preparaciones 1 y 3 se incubaron a 45 °C y la preparación 3 a 60 °C con agitación. Después de 5 h, 24 h o 48 h (de la preparación 3 solo después de 5 h) se extrajeron  
10 respectivamente muestras y se analizaron mediante cromatografía de gases. Los resultados están resumidos en la Tabla 11. Está indicada la composición en % de área de CG así como el índice de acidez.

**Tabla 11**

Composición del producto de reacción							
Composición	7a	7b	7c	7d	7e	7f	7g
Preparación nº	1	1	1	2	3	3	3
Tiempo de reacción [h]	5 h	24 h	48 h	5 h	5 h	24 h	48 h
<i>Distribución de glicéridos [% de área]</i>							
- AG (cadena media)	52,2	49,0	40,7	50,8	57,1	55,8	51,7
- AG (cadena larga)	8,2	20,9	24,3	11,3	3,7	9,1	12,6
- MG (cadena media)	0	0	0	0	0	0	0
- MG (cadena larga)	0	0	0	0	0	0	0
- DG (2x cadena media)	0,7	0,5	1,6	0,7	0,2	0	0,4
-DG (1x cadena media, 1x larga)	1,2	0,7	1,8	1,0	0,5	0,5	1,4
- DG (2x cadena larga)	0,2	0	0,2	0,2	0,9	1,9	1,4
- TG (3x cadena media)	0	0	0,6	0	0	0	0,2
- TG (2x cadena media, 1x larga)	2,0	6,1	10,1	3,3	2,3	1,0	3,6
- TG (1x cadena media, 2x larga)	7,9	15,3	16,5	11,4	3,5	8,2	12,6
- TG (3x cadena larga)	27,6	7,5	4,2	21,1	31,8	23,5	16,1
Índice de acidez	182	184	184	188	188	190	190

Los ejemplos muestran que la transesterificación con ambas lipasas inmovilizadas se puede llevar a cabo exitosamente tanto a 45 °C como a 60 °C. Con presencia de elevadas

### 15 Ejemplo 8

Preparación de lípidos estructurados mediante transesterificación enzimática con purificación de producto por destilación

- 20 En un matraz se introdujeron mediante pesada 875 g de ácido caprílico, 375 g de ácido cáprico, 250 g de triglicérido de ALC (Tonalin® TG 80) así como 1000 g de aceite de colza. La preparación se recubrió con nitrógeno, se mezcló con 150 g de lipasa inmovilizada de *Rhizomucor miehei* y se incubó durante 48 h con agitación. Las primeras 24 h se incubó a una temperatura de 45 °C, después se aumentó la temperatura a 60 °C. Después de 5 h, 24 h o 48 h se extrajeron respectivamente muestras y se analizaron mediante cromatografía de gases así como con respecto al índice de acidez. Después de 48 h se retiró la enzima mediante filtración del producto bruto. El producto bruto se purificó a 200 °C y un vacío de 40 Pa (0,4 mbar) dos veces por medio de una destilación de recorrido corto y el  
25 producto de fondo obtenido de este modo así como el destilado combinado se analizaron mediante cromatografía de gases y química húmeda. A este respecto se analizaron la distribución de los glicéridos así como el espectro de ácidos grasos y se determinaron los índices característicos de química de grasas del producto de fondo. El producto de fondo se refinó con el 50 % en peso de hidróxido sódico (doble cantidad molar con respecto a ácidos grasos libres) a 80 °C durante 15 min, se trató durante 15 min a 100 °C con el 2 % de arcilla blanqueadora Tonsil y se lavó con el 5 % en peso de agua. A continuación se separó la fase acuosa y se secó el residuo al vacío. El producto terminado se mezcló para la estabilización con 500 ppm de tocoferoles mixtos (Covi-ox T-90). Los índices de acidez así como los índices de color según Lovibond y Gardner se establecen antes y después del refinado y el blanqueo. Los resultados están resumidos en la Tabla 12. Está indicada la composición en % de área de CG así como el índice de acidez. En la Tabla 13 están indicados los índices de acidez así como los índices de color según Lovibond y  
35 Gardner antes y después del refinado y el blanqueo.

Tabla 12

<b>Composición del producto de reacción</b>					
<b>Composición</b>	<b>8a</b>	<b>8b</b>	<b>8c</b>	<b>8d</b>	<b>8e</b>
Producto	5 h de síntesis	24 h de síntesis	48 h de síntesis	Destilación fondo	Destilación destilado
<i>Distribución de glicéridos [% de área]</i>					
- AG (cadena media)	54,0	48,0	44,0	0,1	59,2
- AG (cadena larga)	7,1	18,5	26,0	1,3	37,8
- MG (cadena media)	0	0	0	0	0,1
- MG (cadena larga)	0	0	0	0	0,1
- DG (2x cadena media)	0,4	0,9	0,4	0,1	0,7
- DG (1x cadena media, 1x larga)	0,3	0,3	0,7	0,8	0
- DG (2x cadena larga)	0,5	0,3	0,5	0,6	0
- TG (3x cadena media)	0	0,5	1,3	5,6	1,1
- TG (2x cadena media, 1x larga)	0,9	6,2	8,7	30,4	0,1
- TG (1x cadena media, 2x larga)	8,1	17,6	15,7	48,3	0
- TG (3x cadena larga)	28,7	7,7	2,7	12,8	0
<i>Espectro de ácidos grasos</i>					
- C8			35,3	16,9	41,9
- C10			17,1	8,4	19,3
- C16:0			2,2	2,4	2,0
- C18:0			1,1	1,3	0,9
- C18:1			25,4	38,6	21,7
- C18:2			7,2	15,0	5,3
- C18:3			3,2	6,3	2,1
- C9,t11 ALC			4,3	5,5	3,5
- t10,c12 ALC			4,1	5,6	3,3
<i>Índices característicos de química húmeda</i>					
Índice de acidez			185	3,1	290
Índice de hidroxilo				6,6	
Índice de yodo				62	
Índice de saponificación				234	
Índice de peróxido				4,1	

Tabla 13

<b>Descripción del producto de reacción</b>			
Índices de color	<b>Producto de fondo</b> después de destilación	<b>Producto</b> blanqueado, refinado	Aceite de colza
Gardner	7,1	3,1	1,8
Lovibond 5 ¼	Ly 107; Lr 15,2	Ly 34,0; Lr 3,9	Ly 12,0; Lr 1,4
Índice de acidez	3,1	0,6	0,4

Los ejemplos muestran que mediante transesterificación enzimática y purificación por destilación se pueden preparar lípidos estructurados de gran calidad.

**Ejemplo 9**

Preparación de lípidos estructurados con distintos aceites vegetales y animales

En cinco matraces que se pueden cerrar se cargaron, respectivamente, 7,5 g de TCM, 1,5 g de triglicéridos de ALC (Tonalin® TG 80), 0,5 g de Lipozym® TL IM y los siguientes aceites vegetales y animales:

- 5 Preparación 1: 1,5 g de aceite de atún y 4,5 g de aceite de colza
- Preparación 2: 1,5 g de aceite de caballa y 4,5 g de aceite de colza
- Preparación 3: 1,5 g de aceite de linaza y 4,5 g de aceite de soja
- Preparación 4: 1,5 g de aceite de linaza y 4,5 g de aceite de girasol
- Preparación 5: 3,0 g de aceite de oliva y 3,0 g de aceite de colza

10 Los recipientes se cerraron y se incubaron durante 24 h a 45 °C con agitación. Después de finalizada la reacción se silió una muestra y se examinó mediante cromatografía de gases con respecto a la distribución de glicéridos. Se determinó el contenido de especies de triglicéridos, normalizándose el contenido de triglicéridos a 100. Adicionalmente se metiló una muestra y se determinó mediante cromatografía de gases la composición de ácidos grasos. Los resultados están resumidos en la Tabla 14. Está indicada la composición en % de área de CG.

15 **Tabla 14**

<b>Composición del producto de reacción</b>					
<b>Composición</b>	<b>9a</b>	<b>9b</b>	<b>9c</b>	<b>9d</b>	<b>9e</b>
<i>Distribución de glicéridos [% de área]</i>					
- 3x cadena media	35,3	36,4	33,6	32,5	32,1
- 2x cadena media, 1x larga	34,3	33,0	34,6	34,8	33,3
- 1x cadena media, 2x larga	18,7	18,0	18,4	20,5	20,4
- 3x cadena larga	11,7	12,7	13,4	12,1	14,3
<i>Espectro de ácidos grasos</i>					
- C8	38,2	37,4	37,0	36,5	36,5
- C10	16,6	16,3	16,0	15,8	16,0
- C16:0	3,4	3,3	4,2	2,6	2,8
- C18:0	1,3	1,3	1,8	1,7	1,4
- C18:1	20,6	20,8	10,5	12,3	28,7
- C18:2	6,2	6,5	17,2	18,6	5,8
- C18:3	2,2	2,3	6,0	4,7	1,6
- C9,t11 ALC	4,0	4,3	3,6	3,9	3,6
- t10,c12 ALC	3,8	4,1	3,6	3,9	3,5
- C20:5	2,2	2,3	0	0	0
- C22:6	1,5	1,4	0	0	0

Los ejemplos muestran que la preparación de lípidos estructurados se pudo llevar a cabo con éxito independientemente de la naturaleza de las grasas y los aceites empleados.

**Ejemplo 10**

Preparación de lípidos estructurados de tipo ABA con distintos aceites vegetales y animales

20 Los Ejemplos 10a a 10e se repitieron, sin embargo se sustituyó la cantidad de TCM por también 7,5 g de ácido caprílico. Los resultados están resumidos en la Tabla 15. Está indicada la composición en % de área de CG.

**Tabla 15**

<b>Composición del producto de reacción</b>					
<b>Composición</b>	<b>10a</b>	<b>10b</b>	<b>10c</b>	<b>10d</b>	<b>10e</b>
<i>Distribución de glicéridos [% de área]</i>					
- 3x cadena media	2,0	1,5	1,8	1,8	1,7
- 2x cadena media, 1x larga	26,9	14,7	25,9	26,4	24,6
- 1x cadena media, 2x larga	39,2	33,6	38,3	38,0	37,2
- 3x cadena larga	31,8	40,2	34,0	33,7	36,5

También estos ejemplos muestran que se pudo llevar a cabo con éxito la preparación de lípidos estructurados independientemente de la naturaleza de las grasas y los aceites empleados

**Ejemplo 11**

Preparación de lípidos estructurados con distintos contenidos de ácidos grasos de cadena media

- 5 En cuatro matraces que se pueden cerrar se introdujeron mediante pesada TCM, triglicérido de ALC (Tonalin® TG 80) y aceite de colza en distintas cantidades. En la preparación 1 se emplearon 5 g de TCM, 1,5 g de triglicérido de ALC y 8,5 g de aceite de colza, en la preparación 2 en un orden correspondiente 7,5 g, 1,5 g y 6 g, en la preparación 3, 10 g, 1,5 g y 3,5 g y en la preparación 4, 7,5 g, 3 g y 4,5 g. Después de la adición de 0,5 g de Lipozym® TL IM se cerraron los recipientes y se incubaron durante 24 h a 45 °C. Después de finalizada la reacción se silió una muestra y se examinó mediante cromatografía de gases con respecto a la distribución de glicéridos. Se determinó el contenido de especies de triglicéridos, normalizándose el contenido de triglicéridos a 100. Adicionalmente se metiló una muestra y se determinó mediante cromatografía de gases la composición de ácidos grasos. Los resultados están resumidos en la Tabla 16. Está indicada la composición en % de área de CG.

**Tabla 16**

<b>Composición del producto de reacción</b>				
<b>Composición</b>	<b>11a</b>	<b>11b</b>	<b>11c</b>	<b>11d</b>
<i>Distribución de glicéridos [% de área]</i>				
- 3x cadena media	16,0	33,2	52,9	34,1
- 2x cadena media, 1x larga	30,8	34,3	30,3	28,4
- 1x cadena media, 2x larga	27,3	20,8	10,5	18,3
- 3x cadena larga	25,8	11,7	6,2	19,2
<i>Espectro de ácidos grasos</i>				
- C8	23,6	36,2	49,5	35,2
- C10	10,3	15,9	21,5	15,3
- C16:0	3,1	2,1	1,2	1,7
- C18:0	1,4	1,1	0,7	1,2
- C18:1	36,7	25,6	14,0	21,3
- C18:2	12,1	8,2	4,3	6,5
- C18:3	4,8	3,1	1,6	2,6
- C9,t11 ALC	4,0	4,0	3,6	8,2
- t10,c12 ALC	4,0	3,9	3,5	8,0

- 15 Los ejemplos muestran que la preparación de los lípidos estructurados se puede llevar a cabo con éxito independientemente de las proporciones de empleo seleccionadas.

**Ejemplo 12**

Preparación de lípidos estructurados del tipo ABA con distintos contenidos de ácidos grasos de cadena media

- 20 Los Ejemplos 50 a 53 se repitieron, la cantidad de TCM se sustituyó por una cantidad del mismo peso de ácido caprílico. Después de finalizada la reacción se silió una muestra y se examinó mediante cromatografía de gases con respecto a la distribución de glicéridos. Se determinó el contenido de especies de triglicéridos, normalizándose el contenido de triglicéridos a 100. Adicionalmente se metiló una muestra y se determinó mediante cromatografía de gases la composición de ácidos grasos. Los resultados están resumidos en la Tabla 17. Está indicada la composición en % de área de CG.

**Tabla 17**

<b>Composición del producto de reacción</b>				
<b>Composición</b>	<b>12a</b>	<b>12b</b>	<b>12c</b>	<b>12d</b>
<i>Distribución de glicéridos [% de área]</i>				
- 3x cadena media	1,5	1,3	0,7	2,1
- 2x cadena media, 1x larga	31,3	23,6	16,2	27,4
- 1x cadena media, 2x larga	51,2	35,0	18,8	37,9
- 3x cadena larga	16,0	40,1	64,3	32,6

25

También estos ejemplos muestran que la preparación de los lípidos estructurados se puede llevar a cabo exitosamente independientemente de las proporciones de empleo seleccionadas.

**Ejemplo 13**

Comparación de la composición de ácidos grasos regioselectiva de los lípidos estructurados

- 5 Los lípidos destilados de los Ejemplo 2, 3, 5, 6 y 8 se examinaron con respecto a su estructura de ácidos grasos regioselectiva. Para esto se llevó a cabo una alcoholisis enzimática regioselectiva con lipasa inmovilizada de *Thermomyces lanuginosus* a 20 °C. Se mezclaron respectivamente 0,5 g de lípido estructurado con 1,5 g de etanol y se incubó con agitación con lipasa. Los productos escindidos regioselectivamente se sililaron y se sometieron a una determinación mediante cromatografía de gases. Las áreas de pico de los ésteres de etilo formados se
- 10 evaluaron y se puso la suma total de los ésteres de etilo = 100. Para la determinación de la composición de ácidos grasos en la posición 2 se formó la diferencia de la distribución total de ácidos grasos y la distribución en la posición 1 y 3. La distribución total se determinó mediante metilación de los lípidos estructurados y análisis mediante cromatografía de gases. Para la determinación de la distribución en la posición 2 se extrapólo mediante cálculo la diferencia de masas de los ésteres de metilo así como los ésteres de etilo analizados. La totalidad de los ácidos
- 15 grasos en las posiciones 1, 3 y 2 se normalizó respectivamente a 100. Los resultados están resumidos en la Tabla 18. Están indicados respectivamente los % de área de CG.

**Tabla 18**

<b>Composición del producto de reacción</b>			
<b>Ácido graso</b>	<b>Total</b>	<b>Posición 1,3</b>	<b>Posición 2</b>
<i>Muestra del Ejemplo 2</i>			
- C8	29,7	31,7	25,7
- C10	13,9	13,8	14,0
- C16:0	2,4	2,5	2,2
- C18:0	1,2	1,2	1,3
- C18:1	29,9	29,2	31,3
- C18:2	9,4	8,0	12,3
- C18:3	3,9	3,5	4,8
- C9,t11 ALC	4,8	5,1	4,3
- t10,c12 ALC	4,7	5,1	4,0
<i>Muestra del Ejemplo 3</i>			
- C8	20,5	21,0	19,5
- C10	9,2	9,0	9,7
- C16:0	3,0	3,4	2,4
- C18:0	1,3	1,5	1,0
- C18:1	38,5	39,6	36,1
- C18:2	12,6	11,1	15,6
- C18:3	5,5	4,7	7,1
- C9,t11 ALC	4,7	4,9	4,4
- t10,c12 ALC	4,6	4,9	4,1
<i>Muestra del Ejemplo 5</i>			
- C8	27,2	29,7	22,1
- C10	13,8	13,6	14,1
- C16:0	2,5	2,6	2,3
- C18:0	1,2	1,3	1,1
- C18:1	31,7	30,5	34,0
- C18:2	10,3	8,4	14,0
- C18:3	4,3	3,5	5,8
- C9,t11 ALC	4,6	5,2	3,5
- t10,c12 ALC	4,5	5,2	3,1

(continuación)

<b>Composición del producto de reacción</b>			
<b>Ácido graso</b>	<b>Total</b>	<b>Posición 1,3</b>	<b>Posición 2</b>
<i>Muestra del Ejemplo 6</i>			
- C8	27,5	27,9	26,7
- C10	13,8	13,0	15,4
- C16:0	2,5	2,7	2,1
- C18:0	1,2	1,4	1,0
- C18:1	31,6	31,9	30,9
- C18:2	10,3	8,9	13,1
- C18:3	4,1	3,9	4,5
- C9,t11 ALC	4,5	5,2	3,1
- t10,c12 ALC	4,5	5,2	3,1
<i>Muestra del Ejemplo 8</i>			
- C8	16,9	23,9	2,9
- C10	8,4	10,9	3,5
- C16:0	2,4	2,8	1,5
- C18:0	1,3	1,4	1,2
- C18:1	38,6	35,0	45,7
- C18:2	15,0	10,2	24,5
- C18:3	6,3	4,4	10,1
- C9,t11 ALC	5,5	5,6	5,3
- t10,c12 ALC	5,6	5,8	5,3

Los ejemplos muestran que la regioestructura del aceite de colza empleado se mantiene parcialmente, los ácidos grasos poliinsaturados se encuentran preferentemente en la posición 2. La muestra del Ejemplo 8 posee una estructura de tipo ABA con ácidos grasos de cadena media en la posición 1,3 y ácidos grasos de cadena larga en la posición 2.

#### **Ejemplo 14**

Comparación del contenido de ácidos grasos trans de los lípidos estructurados

Los lípidos destilados de los Ejemplos 2, 3, 5, 6 y 8 se examinaron con respecto a su contenido de ácidos grasos trans en comparación con el aceite de colza empleado. El examen se llevó a cabo mediante cromatografía de gases después de la metilación de los lípidos. No se tuvieron en cuenta los compuestos trans conjugados (ALC) en la evaluación. Los resultados están resumidos en la Tabla 18. Están indicados, respectivamente, % de área de CG.

**Tabla 19**

<b>Composición del producto de reacción (cont.)</b>						
<b>Ácido graso</b>	<b>Ej. 2</b>	<b>Ej. 3</b>	<b>Ej. 5</b>	<b>Ej. 6</b>	<b>Ej. 8</b>	<b>Aceite de colza</b>
18:1 trans	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
18:2 trans	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	0,3
18:3 trans	<0,5	<0,8	<0,7	<0,7	<1,0	<1,3
Total	0,6	1,0	0,8	0,8	1,1	1,5

Los ejemplos muestran que durante la reacción enzimática y el procesamiento no se producen ácidos grasos trans indeseados adicionales. Los contenidos trans analizados en los productos proceden del producto de partida empleado aceite de colza. Por tanto, las muestras contienen solo los ácidos linoleicos conjugados positivos en cuanto a la fisiología de la alimentación.

#### **Ejemplo 15**

Comparación de las estabildades a oxidación de los lípidos estructurados

Los lípidos destilados de los Ejemplos 2, 3, 5, 6 y 8 se examinaron con respecto a su estabilidad a oxidación. Para esto se llevaron a cabo exámenes en un Rancimat Metrohm a 100 °C. Los lípidos destilados se estabilizaron tanto con como sin antioxidante (Covi-ox T-90) y se examinaron en comparación con TCM, triglicérido de ALC y aceite de colza. El aceite de colza contiene antioxidantes naturales que influyen positivamente en la estabilidad a oxidación. Los resultados están resumidos en la Tabla 20.

**Tabla 20**

Estabilidad a oxidación [h]		
Muestra de	sin antioxidante	con antioxidante
Ejemplo 3	3	11
Ejemplo 4	3	13
Ejemplo 5	6	16
Ejemplo 6	6	9
Ejemplo 8	2	4
Aceite de colza	12	
TCM	> 100	
Triglicérido de ALC		6

Los ejemplos muestran que los lípidos estructurados tratados con el antioxidante presentan una estabilidad comparable al aceite de colza y una mejor estabilidad que el triglicérido de ALC.

**Ejemplo 16**

- 5 Comparación de las propiedades físicas viscosidad y punto de opacidad de los lípidos estructurados

Los lípidos destilados de los Ejemplos 2, 3, 5, 6 y 8 se examinaron con respecto a sus propiedades físicas. Para esto se analizó el punto de opacidad según ASTM D2500 con un ATPEM V4701. Las viscosidades se registraron reométricamente a diferentes temperaturas. Todas las mediciones se llevaron a cabo de forma comparativa con aceite de colza, TCM y triglicérido de ALC. Los resultados están resumidos en la Tabla 21.

10

**Tabla 21**

Punto de opacidad y viscosidad					
Muestra de	Punto de opacidad [°C]	Viscosidad a [mm <sup>2</sup> /s]			
		10 °C	30 °C	50 °C	70 °C
Ejemplo 2	-20	84	35	17	10
Ejemplo 3	-26	99	49	20	12
Ejemplo 5	-17	88	36	18	11
Ejemplo 6	-17	90	37	18	11
Ejemplo 8	-30				
Aceite de colza	-33	130	53	26	15
TCM	-59	47	20	10	6
-TG de ALC		281	96	42	22

Como muestran los ejemplos, el punto de opacidad de los lípidos estructurados se encuentra en el intervalo del aceite de colza y otros aceites de mesa. La viscosidad de los lípidos estructurados se encuentra también en el intervalo del aceite de colza.

**Ejemplo 17**

- 15 Inclusión de los lípidos estructurados en leche

Las muestras de los Ejemplos 3 y 5 se incluyeron en diferentes concentraciones en leche. A leche con un contenido de grasa del 1,5 % en peso se añadieron, respectivamente, el 1 % en peso o el 4 % en peso de las muestras y la mezcla se homogeneizó durante 30 segundos con un Ultra-Turrax a 9500 rpm. Se produjo respectivamente una leche blanca estable y homogénea.

- 20 **Ejemplo 18**

Inclusión de los lípidos estructurados en mayonesa

- 25 Las muestras de los Ejemplos 3 y 5 se incluyeron en una proporción del 6 % en peso en mayonesa. Para esto se agitaron el 17,8 % en peso de agua con el 2 % en peso de Lamegin® ZE 609 Pastille a 65 °C hasta dar una pasta. Después se calentaron el 19 % en peso de aceite de girasol y respectivamente el 6 % en peso de los lípidos estructurados a 40 °C y se añadieron a la pasta de emulsionante-agua. Después se calentó la fase acuosa compuesta del 4 % en peso de vinagre (al 5 % en volumen), el 50 % en peso de agua, el 0,5 % en peso de Prinza®

452 y el 0,7 % en peso de sal común a 65 °C y con agitación se añadió a la pasta oleosa. Con agitación se enfrió la mayonesa a temperatura ambiente. Se produjo respectivamente una formulación de mayonesa estable blanca.

**Ejemplo 19**

Formación de humo de los lípidos estructurados durante el calentamiento

- 5 Con las muestras de los Ejemplos 3 y 5 se llevó a cabo una determinación del punto de humo en comparación con mezclas de aceite de colza y TCM. Los valores indicados son valores medios de 2 mediciones. Los resultados están resumidos en la Tabla 22.

**Tabla 22**

Puntos de humo		
Muestra de	Ácidos grasos de cadena media [% en peso]	punto de humo [°C]
Ejemplo 3	29,7	169
Ejemplo 5	40,0	171
100 % aceite de colza	0	180
90 % aceite de colza + 10 % TCM	10	170
80 % aceite de colza + 20 % TCM	40	163
60 % aceite de colza + 40 % TCM	60	160
20 % aceite de colza + 80 % TCM	80	156
100 % TCM	100	152

- 10 Los ejemplos muestran que los lípidos estructurados presentan un comportamiento de humo claramente mejor que las mezclas con las correspondientes concentraciones de TCM y aceite de colza.

**Ejemplo 20**

Preparación de lípidos estructurados mediante transesterificación enzimática con purificación de producto por destilación

- 15 En un reactor de doble camisa se dispusieron 500 g de TCM (Delios® V), 100 g de triglicérido de ALC (Tonalin TG 80) así como 400 g de aceite de colza (refinado completo) y 0,5 g de Covi-ox® T-90. La preparación se mezcló con 100 g de lipasa inmovilizada de *Thermomyces lanuginosus* y la enzima se secó durante 3 h con agitación a 45 °C y un vacío de 2 kPa (20 mbar). A continuación se retiró mediante filtración la enzima inmovilizada y se devolvió de nuevo al reactor. A esto se añadieron 1000 g de TCM (Delios® V), 200 g de triglicérido de ALC (Tonalin® TG 80) así como 800 g de aceite de colza (refinado completo) y 1,0 g de Covi-ox® T-90 y la preparación se revistió con nitrógeno. La preparación se incubó a 45 °C con agitación durante 24 h. Después de 24 h se retiró la enzima mediante filtración del producto bruto. El producto bruto se purificó a 205 °C y un vacío de 30 Pa (0,3 mbar) por medio de una destilación de recorrido corto. El producto de fondo se analizó mediante cromatografía de gases y mediante química húmeda. A este respecto se analizó la distribución de los glicéridos así como el espectro de ácidos grasos así como los índices característicos de química de grasas. Los resultados están resumidos en la
- 20
- 25 Tabla 23. Adicionalmente se llevó a cabo del producto una desodorización con gas portador a contracorriente para la comparación sensorial.

**Tabla 23**

Composición del producto de reacción	
Composición	Producto
<i>Distribución de glicéridos [% de área]</i>	
Ácido libre total	0,3
Monoglicéridos totales	<0,1
Diglicéridos totales	1,0
- TG (3x cadena media)	16,1
- TG (2x cadena media, 1x larga)	47,7
- TG (1x cadena media, 2x larga)	30,4
- TG (3x cadena larga)	4,5

(continuación)

<b>Composición del producto de reacción</b>	
<b>Composición</b>	<b>Producto</b>
<i>Espectro de ácidos grasos [% de área]</i>	
- C8	24,1
- C10	19,9
- C16:0	2,2
- C18:0	1,1
- C18:1	28,2
- C18:2	10,0
- C18:3	4,9
- c9,t1 ALC	4,9
- t10,c12 ALC	4,9
<i>Índices característicos de química húmeda</i>	
Índice de acidez	0,1
Índice de hidroxilo	4,3
Índice de yodo	67
Índice de saponificación	256
Índice de peróxido	2,3

El ejemplo muestra que a través de transesterificación enzimática en atmósfera de gas inerte con enzima presecada y purificación por destilación se pueden preparar lípidos estructurados de gran calidad.

#### **Ejemplo 21**

#### 5 Formación de humo y estabilidad a oxidación del lípido estructurado del Ejemplo 20

Con la muestra del Ejemplo 20 se determinó una determinación del punto de humo en comparación con los materiales brutos empleados así como una estabilidad a oxidación a 100 °C en comparación con el aceite de colza empleado y Tonalin® TG 80. Los resultados están resumidos en la Tabla 24.

**Tabla 24**

<b>Estabilidad a oxidación y punto de humo</b>		
<b>Muestra de</b>	<b>Estabilidad a oxidación [h]</b>	<b>Punto de humo [°C]</b>
Ejemplo 20	20	187
Tonalin® TG 80	6	185
Delios® V		149
Refinado completo de aceite de colza	8	191

10 Los ejemplos muestran que el lípido estructurado presenta una estabilidad a oxidación claramente mejor que los reactantes Tonalin® TG 80 y aceite de colza y que el comportamiento de humo es comparable al de triglicéridos puros de cadena larga y claramente mejor que el Delios® V de cadena media. La comparación con las mezclas con las concentraciones correspondientes de TCM y aceite de colza del Ejemplo 19 muestran un comportamiento de humo mejorado aproximadamente 25 °C del lípido estructurado.

#### 15 **Ejemplo 22**

Comparación de las propiedades sensoriales frente a aceite de colza

20 Las muestras del Ejemplo 20 (desodorizadas y no desodorizadas) se examinaron frente al aceite de colza empleado para la síntesis sensorialmente con respecto a olor y sabor. Para la valoración se analizó por un panel de 3 personas de ensayo formadas los parámetros olor a rancio; olor extraño, sabor a rancio, sabor incorrecto y amargura. Los lípidos estructurados en las categorías olor a rancio, sabor a rancio y sabor incorrecto puntuaron claramente mejor que el aceite de colza. En las categorías olor extraño y amargura se obtuvieron resultados de ensayo similares para los lípidos estructurados y el aceite de colza con una valoración ligeramente mejor de los lípidos estructurados. A este respecto, el lípido estructurado desodorizado consiguió una valoración ligeramente mejor que el producto no desodorizado.

**Ejemplo 23**

Comparación de las propiedades sensoriales frente a aceite de colza en leche

Las muestras del Ejemplo 20 (desodorizadas y no desodorizadas) se examinaron frente al aceite de colza empleado para la síntesis sensorialmente con respecto a olor y sabor incluidas en leche. Para la valoración se analizaron por un panel de 3 personas de ensayo formadas los parámetros olor a rancio; olor extraño, sabor a rancio, sabor incorrecto, nota de sabor a pescado y amargura. Para esto se incluyeron las muestras y el aceite de colza en diferentes concentraciones en leche. A leche con una parte de grasa del 1,5 % en peso se añadieron respectivamente el 1 % en peso, el 4 % en peso o el 8 % en peso de las muestras y la mezcla se homogeneizó durante 30 segundos con un Ultra-Turrax a 9500 rpm. Se preparó respectivamente una leche blanca estable y homogénea. Los lípidos estructurados incluidos en la leche en las categorías olor extraño, sabor incorrecto y nota de sabor a pescado puntuaron claramente mejor que el aceite de colza. En las otras categorías se obtuvieron resultados de ensayo similares para los lípidos estructurados y el aceite de colza, con una valoración ligeramente mejor de los lípidos estructurados. El lípido estructurado desodorizado, a este respecto, consiguió una valoración ligeramente mejor que el producto no desodorizado.

**Ejemplo 24**

Comparación de las propiedades sensoriales frente a aceite de colza en mayonesa

Las muestras del Ejemplo 20 (desodorizadas y no desodorizadas) se examinaron frente al aceite de colza empleado para la síntesis sensorialmente con respecto a olor y sabor incluidas en mayonesa. Para la valoración se analizaron por un panel de 3 personas de ensayo formadas los parámetros olor a rancio; olor extraño, sabor a rancio, sabor incorrecto, nota de sabor a pescado y amargura. Para esto se incluyeron las muestras y el aceite de colza con una parte del 6 % en peso en mayonesa. Para esto se agitaron el 17,8 % en peso de agua con el 2 % en peso de Lamegin® ZE 609 Pastille a 65 °C hasta dar una pasta. Después se calentaron el 19 % en peso de aceite de girasol y respectivamente el 6 % en peso de los lípidos estructurados a 40 °C y se añadieron a la pasta de emulsionante - agua. Después se calentó la fase acuosa compuesta del 4 % en peso de vinagre (al 5 % en volumen), el 50 % en peso de agua, el 0,5 % en peso de Prinza® 452 y el 0,7 % en peso de sal común hasta 65 °C y se añadió con agitación a la pasta oleosa. Con agitación se refrigeró la mayonesa a temperatura ambiente. Se preparó respectivamente una formulación de mayonesa estable blanca. Los lípidos estructurados incluidos en la mayonesa en todas las categorías puntuaron de forma comparable al aceite de colza empleado.

**Ejemplo 25**

Comparación de la velocidad de degradación en líquido intestinal simulado

Las muestras de los Ejemplos 2 y 5 se analizaron frente a una mezcla de triglicéridos en líquido intestinal simulado con respecto a su capacidad de hidrólisis y la velocidad de la liberación de ALC. Para eso se preparó un líquido intestinal simulado. Solución A: a 1,36 g de hidrogenofosfato de potasio se añadieron 38 ml de NaOH 0,2 M y 70 ml de agua destilada. Solución B: 0,5 g de pancreatina se agitan con agua hasta dar una pasta sin grumos. A este respecto se añade, mezclando, agua hasta una cantidad total de 30 ml. Solución C: la solución A y la solución B se agrupan. Se añaden 50 mg de ácido taurocólico con agitación y se ajusta el valor de pH con NaOH 0,2 M a 7,5. A continuación se rellena la solución hasta 180 ml con agua destilada.

Respectivamente 2 g de muestra de los lípidos estructurados de los Ejemplos 2 y 5 así como 2 g de una mezcla de lípidos compuesta de 0,2 g de triglicérido de ALC (Tonalin® TG 80), 0,8 g de TCM y 1 g de aceite de colza como determinación doble se ponen en 40 ml de solución C precalentada y se incuban con agitación a 37 °C. Después de 1 h y 3 h se toman respectivamente 2 ml de muestra y se extraen con agitación con 0,1 ml de HCl 1 M y 0,4 ml de octanol durante 10 min. La fase de octanol que contiene lípidos se retira. 200 µl de la fase de octanol se sililan durante 30 min a 80 °C con 800 µl de BSTFA/MSTFA y se analiza mediante cromatografía de gases. Los ácidos grasos liberados se evalúan mediante su área con respecto al contenido de todos los constituyentes lipídicos (triglicéridos, glicéridos parciales y ácidos grasos). Los resultados están resumidos en la Tabla 25. Los valores de la mezcla de lípidos comparativa son valores medios de la determinación doble.

**Tabla 25**

Liberación de ácidos grasos en la hidrólisis en líquido intestinal simulado		
Muestra del Ejemplo 2	Contenido de ácidos grasos después de 1 h	Contenido de ácidos grasos después de 3 h
AG de cadena media	4,9 %	14,1 %
AG de cadena larga	9,2 %	18,5 %
ALC	1,2 %	2,6 %
Suma	15,3 %	35,2 %

(continuación)

<b>Liberación de ácidos grasos en la hidrólisis en líquido intestinal simulado</b>		
<b>Muestra del Ejemplo 5</b>	<b>Contenido de ácidos grasos después de 1 h</b>	<b>Contenido de ácidos grasos después de 3 h</b>
AG de cadena media	4,0 %	13,2 %
AG de cadena larga	6,7 %	12,5 %
ALC	1,2 %	2,5 %
Suma	11,9 %	28,2 %
<b>Mezcla de lípidos del 10 % de TG de ALC, 40 % de TCM y 50 % de aceite de colza</b>	<b>Contenido de ácidos grasos después de 1 h</b>	<b>Contenido de ácidos grasos después de 3 h</b>
AG de cadena media	2,6 %	15,0 %
AG de cadena larga	2,0 %	6,2 %
ALC	0,4 %	1,2 %
Suma	5,0 %	22,4 %

Los ejemplos muestran que los lípidos estructurados en total se hidrolizan de modo sustancialmente más rápido que una mezcla comparativa de lípidos no estructurados. En particular los ácidos grasos de cadena larga se liberan claramente de forma más rápida que de la mezcla comparativa. Esto significa que queda garantizada una mejor disponibilidad de los ácidos grasos esenciales y que puede tener lugar una acción más rápida del ALC.

5

## REIVINDICACIONES

1. Mezcla que contiene lípidos de fórmula (I)



5 **caracterizada porque** R<sup>1</sup>CO, R<sup>2</sup>CO y R<sup>3</sup>CO están seleccionados, independientemente entre sí, del grupo compuesto de

- (v) un resto acilo saturado lineal con 6 a 12 átomos de carbono,
- (vi) el resto acilo del ácido linoleico conjugado (ALC),
- (vii) el resto acilo de un ácido graso omega-3 (AO) y
- (viii) el resto acilo de un ácido graso omega-6 (AO),

10 a condición de que la cantidad de restos acilo de ALC en la mezcla sea del 3 al 50 % en moles y la cantidad de restos acilo de AO en la mezcla sea del 5 al 25 % en moles, respectivamente en relación con la cantidad de todos los restos acilo en la mezcla.

2. Procedimiento para la preparación de la mezcla de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado porque** se someten

15 (a) los denominados "triglicéridos de cadena media" (TCM) de fórmula (II),



representando R<sup>4</sup>CO, R<sup>5</sup>CO y R<sup>6</sup>CO, independientemente entre sí, respectivamente un resto acilo saturado lineal con 6 a 12 átomos de carbono y

20 (b) ácido linoleico conjugado (ALC) y/o ácidos grasos omega-3 (AO) y/o ácidos grasos omega-6 (AO) y/o triglicéridos a base de ácido linoleico conjugado (TG de ALC) y/o triglicéridos a base de ácidos grasos omega-3 u omega-6 (TG de AO), a una transesterificación enzimática.

3. Procedimiento para la preparación de la mezcla de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado porque** se someten

(a) mezclas de ácidos grasos o sus ésteres de Fórmula (III)

25  $\text{R}^7\text{COOR}^8$  (III)

en la que R<sup>7</sup>CO representa un resto acilo saturado lineal con 6 a 12 átomos de carbono y R<sup>8</sup> representa hidrógeno o un resto alquilo con 1 a 4 átomos de carbono y

(b) ácido linoleico conjugado (ALC) y/o ácidos grasos omega-3 y/u omega-6 a una esterificación o transesterificación enzimática.

30 4. Uso de la mezcla de acuerdo con la reivindicación 1 como alimento, suplemento alimentario, preparación farmacéutica o pienso animal.

5. Uso de acuerdo con la reivindicación 4, **caracterizado porque** los alimentos representan aceites de mesa o aceites de mesa dietéticos, aceites para asar y freír y similares.

35 6. Uso de acuerdo con la reivindicación 4, **caracterizado porque** la mezcla representa un componente de aliños, mayonesas, margarina, productos lácteos, salsas, productos de panadería y confitería y similares.

7. Uso de acuerdo con la reivindicación 4, **caracterizado porque** la mezcla se emplea para la transesterificación con grasas hidrogenadas y para la generación de lípidos con un contenido de grasa sólida, comportamiento de fusión y cristalización ajustables.

8. Uso de acuerdo con la reivindicación 4, **caracterizado porque** la mezcla se emplea para la alimentación parenteral.
9. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 4 a 8, **caracterizado porque** la mezcla se emplea en forma de emulsiones con fosfolípidos o cápsulas.
- 5 10. Uso de la mezcla de acuerdo con la reivindicación 1 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades del metabolismo de las grasas.