

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 516**

51 Int. Cl.:

A23L 5/00 (2006.01)

A23L 29/00 (2006.01)

C11B 1/00 (2006.01)

C11B 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.03.2015 PCT/EP2015/057073**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.10.2015 WO15150405**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.03.2015 E 15713746 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018 EP 3139770**

54 Título: **Composición de ácidos grasos, método de producción de la misma y uso de la misma**

30 Prioridad:

04.04.2014 EP 14163603

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

13.04.2018

73 Titular/es:

**LODERS CROKLAAN B.V. (100.0%)
Hogeweg 1
1521 AZ Wormerveer, NL**

72 Inventor/es:

**'T ZAND, IMRO;
BHAGGAN, KRISHNADATH y
MA, JUN**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 663 516 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

Composición de ácidos grasos, método de producción de la misma y uso de la misma

- 5 La presente invención se refiere a una composición de ácidos grasos, a un proceso de producción de la composición y al uso de la composición en la preparación de triglicéridos.

10 Las grasas y aceites de triglicéridos son componentes importantes de muchos productos comestibles. Las grasas y aceites utilizados en la industria alimentaria se proporcionan con frecuencia a partir de fuentes vegetales, tales como girasol y palma. Las grasas de triglicéridos también pueden ser producidas por la reacción de grasas y aceites con ácidos grasos; esto permite que las propiedades físicas de los triglicéridos, tales como la dureza y punto de fusión, sean controladas. Por ejemplo, la hidrogenación de aceites para convertir ácidos grasos no saturados a ácidos grasos saturados, que puede dar lugar a la formación de ácidos grasos trans no deseados, puede evitarse mediante la transesterificación del aceite con un ácido graso saturado a fin de introducir ácidos grasos saturados en los triglicéridos.

20 El ácido esteárico se produce en numerosas grasas y aceites animales y vegetales, pero es más abundante en la grasa animal que en la grasa vegetal. Las excepciones son manteca de cacao, manteca de karité y algunas otras fuentes de aceites vegetales, tales como semilla de mango, sal e ilipé, en el que el contenido de ácido esteárico (como un triglicérido) es normalmente de 28 a 45 %. Véase: http://en.wikipedia.org/wiki/Stearic_acid. El ácido esteárico se puede preparar mediante el tratamiento de estas grasas y aceites con agua a una alta presión y temperatura, conduciendo a la hidrólisis de los triglicéridos. A continuación, se destila la mezcla resultante.

25 El documento US 2589148 describe la separación de mezclas de ácidos grasos obtenidos por hidrólisis de grasas y aceites naturales.

30 El documento WO 2004/111164 se refiere a un método de hidrolización de una composición que contiene éster de ácido graso de glicerol, tal como una grasa y/o un aceite, para producir ácidos grasos con una baja proporción de ácidos grasos trans.

El documento EP-A-1001007 se refiere a concentrados de esteroides de karité en glicéridos con más de 12,5 % en peso de esteroides de karité, su preparación por hidrólisis enzimática de glicéridos en aceites de karité o fracciones de los mismos y la aplicación de los concentrados en productos alimenticios aireados.

35 El documento GB-A-2239256 desvela productos de aceite de margarina transesterificados que tienen una sensación en boca suave y amplias características de intervalo de fusión que contienen un contenido muy bajo de ácidos grasos saturados C8-C16 y un contenido bajo de ácidos grasos transinsaturados, así como métodos enzimáticos de preparación de tales productos de aceite de margarina.

40 De acuerdo con la presente invención, se proporciona una composición de ácidos grasos que comprende:

- (i) de 60 % a 80 % en peso de ácido esteárico;
- (ii) de 3 % a 30 % en peso de ácido oleico; y
- (iii) menos de 10 % en peso de ácido palmítico.

45 La expresión ácido graso, como se utiliza en la presente memoria, se refiere a ácidos carboxílicos saturados o no saturados de cadena lineal (incluyendo mono-, di- y poli-insaturado) que tienen de 12 a 22 átomos de carbono. El término grasa se refiere en general a composiciones que contienen una mezcla de glicéridos de ácidos grasos.

50 También se proporciona por la invención un proceso de producción de la composición de ácidos grasos de la invención, que comprende la hidrólisis enzimática de un triglicérido.

55 En otro aspecto, la invención proporciona el uso de una composición de la invención en la preparación de un triglicérido.

Además se proporciona por la invención un método de preparación de un primer triglicérido que comprende una reacción de acidólisis enzimática entre: una grasa con al menos 30 % en peso de ácido oleico en la posición 2 (es decir, sn-2) basándose en ácidos grasos C12 a C22 totales en la posición 2; y la composición de ácidos grasos de la invención.

60 La invención también proporciona un método de preparación de un segundo triglicérido que comprende una reacción de acidólisis enzimática entre: una grasa con al menos 50 % en peso de ácidos grasos saturados C12-C22 en la posición 2 basándose en ácidos grasos C12 a C22 totales en la posición 2; y una segunda composición de ácidos grasos que puede obtenerse mediante el proceso de la invención y que comprende más de 63 % en peso de ácido oleico, más de 4 % en peso de ácido linoleico y más de 2 % en peso de ácido esteárico.

65

ES 2 663 516 T3

Se ha descubierto que las composiciones de la invención son particularmente adecuadas para la formación de triglicéridos (p. ej., el primer triglicérido) que pueden actuar como equivalentes de manteca de cacao. Pueden formar un equivalente de manteca de cacao que exhiba un perfil de fusión muy similar a la manteca de cacao.

5 La composición de ácidos grasos de la invención comprende al menos 85 % en peso de ácidos grasos libres, más preferentemente al menos 90 % en peso de ácidos grasos libres, tales como al menos 95 % en peso de ácidos grasos libres. El resto de la composición incluye normalmente componentes menores, tales como glicéridos.

10 La composición de ácidos grasos es preferentemente no hidrogenada es decir, la composición no se ha sometido a una etapa de hidrogenación durante su producción a partir de su fuente natural, p. ej., como un aceite vegetal. El contenido de ácidos grasos trans de la composición de ácidos grasos es, por lo tanto, normalmente inferior a 1 % en peso, más preferentemente inferior a 0,5 % en peso.

15 Las composiciones de ácidos grasos de la invención comprenden de 60 % a 80 % en peso de ácido esteárico, más preferentemente de 61 a 75 % en peso de ácido esteárico, tal como de 62 a 72 % en peso de ácido esteárico.

Las composiciones de ácidos grasos de la invención comprenden de 3 % a 30 % en peso de ácido oleico, preferentemente de 10 a 29 % en peso de ácido oleico, tal como de 15 a 28 % en peso de ácido oleico.

20 Las composiciones de ácidos grasos de la invención comprenden menos de 10 % en peso de ácido palmítico, preferentemente de 2 a 7 % en peso de ácido palmítico, tal como de 4 a 6 % en peso de ácido palmítico.

Preferentemente, las composiciones de ácidos grasos comprenden de 1 a 5 % en peso de ácido linoleico, tal como de 2 a 4 % en peso de ácido linoleico.

25 Preferentemente, las composiciones de ácidos grasos comprenden de 1 a 3 % en peso de ácido araquídico, tal como de 1 a 2 % en peso de ácido araquídico.

30 Una composición de ácidos grasos preferente de la invención comprende de 60 % a 80 % en peso de ácido esteárico, de 10 a 30 % en peso de ácido oleico, de 2 a 7 % en peso de ácido palmítico, de 1 a 5 % en peso de ácido linoleico, y de 1 a 3 % en peso de ácido araquídico.

35 La composición de ácidos grasos de la invención puede obtenerse preferentemente a partir de manteca de karité o sus fracciones, más preferentemente oleína de karité. Lo más preferentemente, el contenido de ácido esteárico en la oleína de karité es de 20 a 40 % en peso basado en los ácidos grasos totales presentes y el contenido de ácido oleico es de 45 a 65 % en peso basado en los ácidos grasos totales presentes. Se apreciará que cuando se haga referencia a la oleína de karité, el contenido de ácidos grasos se refiere a ácidos grasos, incluyendo los unidos a los glicéridos.

40 El proceso de la invención para producir la composición de ácidos grasos de la invención comprende la hidrólisis enzimática de un triglicérido.

45 Preferentemente, el proceso de la invención también produce una segunda composición de ácidos grasos que comprende más de 63 % en peso de ácido oleico, más de 4 % en peso de ácido linoleico y más de 2 % en peso de ácido esteárico.

Más preferentemente, la segunda composición de ácidos grasos comprende de 63 a 80 % en peso de ácido oleico, de 5 a 20 % en peso de ácido linoleico y de 5 a 20 % en peso de ácido esteárico.

50 La segunda composición de ácidos grasos comprende al menos 90 % en peso de ácidos grasos libres, más preferentemente al menos 95 % en peso de ácidos grasos libres, tal como al menos 98 % en peso de ácidos grasos libres. El resto de la composición incluye normalmente componentes menores, tales como glicéridos.

55 La segunda composición de ácidos grasos comprende preferentemente de 65 a 75 % en peso de ácido oleico, tal como de 66 a 70 % en peso de ácido oleico.

Preferentemente, la segunda composición de ácidos grasos comprende de 5 a 15 % en peso de ácido linoleico, tal como de 8 a 12 % de ácido linoleico.

60 La segunda composición de ácidos grasos comprende preferentemente de 5 a 20 % en peso de ácido esteárico, tal como de 8 a 15 % en peso de ácido esteárico.

La segunda composición de ácidos grasos también puede comprender de 1 a 10 % en peso de ácido palmítico, más preferentemente de 4 a 8 % en peso de ácido palmítico.

65 La segunda composición de ácidos grasos comprende normalmente de 0,5 a 2 % en peso de ácido araquidónico.

Una segunda composición de ácidos grasos preferente comprende de 63 a 75 % en peso de ácido oleico, de 5 a 15 % en peso de ácido linoleico, de 5 a 20 % en peso de ácido esteárico, de 1 a 10 % en peso de ácido palmítico, y de 0,5 a 2 % en peso de ácido araquidónico.

5 El proceso de la invención comprende preferentemente:

- a) la hidrolización de una grasa que comprende al menos 20 % de ácido esteárico basado en el peso de los ácidos grasos presentes en la grasa;
- 10 b) la destilación del producto de la etapa a); y
- c) el fraccionamiento del producto de la etapa b).

Un proceso particularmente preferente de la invención comprende:

- 15 a) la hidrolización de una grasa que comprende al menos 20 % de ácido esteárico basado en el peso de los ácidos grasos presentes en la grasa;
- b) la destilación del producto de la etapa a); y
- c) el fraccionamiento del producto de la etapa b),

20 en el que el fraccionamiento en c) produce: una primera composición de ácidos grasos que comprende más de 60 % en peso de ácido esteárico, de 3 % a 30 % en peso de ácido oleico y menos de 10 % en peso de ácido palmítico; y una segunda composición de ácidos grasos que comprende más de 63 % en peso de ácido oleico, más de 4 % en peso de ácido linoleico y más de 2 % en peso de ácido esteárico.

Incluso más preferentemente, el proceso comprende:

- 25 a) la hidrolización de una grasa que comprende al menos 20 % de ácido esteárico basado en el peso de los ácidos grasos presentes en la grasa;
- b) la destilación del producto de la etapa a); y
- 30 c) el fraccionamiento del producto de la etapa b),

en el que el fraccionamiento en c) produce: una primera composición de ácidos grasos que comprende de 60 % a 80 % en peso de ácido esteárico, de 10 a 30 % en peso de ácido oleico, de 2 a 7 % en peso de ácido palmítico, de 1 a 5 % en peso de ácido linoleico, y de 1 a 3 % en peso de ácido araquídico; y una segunda composición de ácidos grasos comprende de 63 a 75 % en peso de ácido oleico, de 5 a 15 % en peso de ácido linoleico, de 5 a 20 % en peso de ácido esteárico, de 1 a 10 % en peso de ácido palmítico, y de 0,5 a 2 % en peso de ácido araquidónico.

La hidrólisis en a) implica preferentemente la hidrólisis de la grasa para que libere al menos 50 % en peso de los ácidos grasos que están presentes en los glicéridos de la grasa como ácidos grasos libres. Preferentemente, se libera al menos un 60 % en peso de los ácidos grasos en la grasa, más preferentemente al menos 70 % en peso, tal como al menos 75 % en peso.

La hidrólisis en a) puede llevarse a cabo química o enzimáticamente. La hidrólisis en a) se lleva a cabo preferentemente utilizando una o más enzimas lipasa. La enzima o mezcla de enzimas es no específica para permitir la hidrólisis en las posiciones 1, 2 y 3 en el glicérido.

Preferentemente, la hidrólisis en a) se lleva a cabo en presencia de agua, más preferentemente en una cantidad de 1 a 50 % en peso. La hidrólisis se lleva a cabo normalmente a una temperatura de 20 a 60 °C durante 1 hora hasta aproximadamente 30 horas.

50 La grasa utilizada en la etapa a) es preferentemente manteca de karité y/o una fracción de la misma, más preferentemente oleína de karité. Cuando se utiliza oleína de karité, el contenido de ácido esteárico en la oleína de karité es preferentemente de 20 a 40 % en peso basado en los ácidos grasos totales presentes y el contenido de ácido oleico es de 45 a 65 % en peso basado en los ácidos grasos totales presentes. Una vez más, se apreciará que cuando se haga referencia a la oleína de karité, el contenido de ácidos grasos se refiere a ácidos grasos, incluyendo los unidos en los glicéridos.

El producto obtenido en a) se extrae normalmente de la mezcla de reacción (por ejemplo, por eliminación de la fase acuosa) y se seca opcionalmente. Este producto se destila en b), por ejemplo por destilación de corto recorrido, a fin de separar los ácidos grasos libres de determinados glicéridos no hidrolizados. Los ácidos grasos libres se recogen como el destilado. Las condiciones de destilación adecuadas son una temperatura de 180 a 220 °C y una presión de 1×10^3 a 10×10^{-3} mbar.

El producto de b) se fracciona en c). El fraccionamiento puede ser en húmedo o en seco y es preferentemente en seco (es decir, sin disolventes añadidos). El fraccionamiento se lleva a cabo preferentemente a una temperatura en el intervalo de 30 a 45 °C. La velocidad de enfriamiento es preferentemente de 3 a 6 °C por hora, más preferentemente seguido de un tiempo de espera de 5 a 10 horas. El fraccionamiento en c) forma una fracción de

estearina que es la primera fracción de ácidos grasos de la invención y una fracción de oleína que es la segunda fracción de ácidos grasos de la invención. La primera y segunda fracciones de ácidos grasos se separan entonces, por ejemplo, presionando un filtro.

- 5 La primera y segunda composiciones de ácidos grasos de la invención se pueden utilizar en la preparación de triglicéridos.

La invención proporciona un método de preparación de un primer triglicérido que comprende una reacción de acidólisis enzimática entre: una grasa con al menos 30 % en peso de ácido oleico en la posición 2 basado en ácidos grasos C12 a C22 totales en la posición 2; y la composición de ácidos grasos de la invención.

Preferentemente, la grasa con al menos 30 % en peso de ácido oleico en la posición 2 basado en ácidos grasos C12 a C22 totales en la posición 2 es una media fracción de palma. La relación en peso de la grasa a la composición de ácidos grasos está preferentemente en el intervalo de 2:1 a 1:2, más preferentemente de 1,2:1 a 1:1,2.

15 El método se lleva a cabo normalmente utilizando una lipasa, preferentemente una lipasa 1,3 específica. Una pequeña cantidad de agua está presente preferentemente, tal como en una cantidad de 0,05 a 5 % en peso de la mezcla de reacción.

20 El exceso de ácidos grasos se puede eliminar de los triglicéridos por destilación, por ejemplo, destilación de corto recorrido.

El producto de la reacción de acidólisis enzimática, opcionalmente después de cualquier destilación, es preferentemente fraccionado. El fraccionamiento puede ser en húmedo o en seco, pero es preferentemente un fraccionamiento con disolvente (es decir, en húmedo), más preferentemente en presencia de acetona. El fraccionamiento se lleva a cabo preferentemente para proporcionar el primer triglicérido como una media fracción. Un primer fraccionamiento con disolvente se lleva a cabo, preferentemente a una temperatura de 5 a 15 °C, los sólidos se eliminan y la oleína (líquida, fracción sobrenadante) se recoge. Un segundo fraccionamiento de esta fracción de oleína se lleva a cabo, preferentemente a una temperatura en el intervalo de 15 a 30 °C, tal como de 20 a 25 °C, y una fracción de estearina se recoge como el producto de triglicérido. El rendimiento del triglicérido final después del fraccionamiento es preferentemente de 40 a 70 % en peso, más preferentemente de 50 a 65 % en peso. El primer triglicérido puede ser utilizado como un equivalente de manteca de cacao es decir, como un sustituto de la manteca de cacao o como un aditivo para la manteca de cacao. Por ejemplo, el primer triglicérido puede ser utilizado en un recubrimiento de artículos, barritas o relleno de artículos de confitería, por ejemplo, junto con componentes tales como azúcar y/o cacao en polvo.

También se proporciona por la invención un método de preparación de un segundo triglicérido que comprende una reacción de acidólisis enzimática entre: una grasa con al menos 20-40 % en peso de ácidos grasos saturados C12-C22 en la posición 2 basado en ácidos grasos C12 a C22 totales en la posición 2; y una segunda composición de ácidos grasos que comprende más de 63 % en peso de ácido oleico, más de 4 % en peso de ácido linoleico y más de 2 % en peso de ácido esteárico.

El segundo triglicérido producido a partir de la segunda composición de ácidos grasos comprende preferentemente 1,3-dioleoil-2-palmitoil glicérido (OPO).

45 La grasa con al menos 20-40 % en peso de ácidos grasos saturados C12-C22 en la posición 2 basado en ácidos grasos C12 a C22 totales en la posición 2 tiene preferentemente al menos 50 % de ácido palmítico en la posición 2 basado en los ácidos grasos totales en la posición 2. Se apreciará que el ácido palmítico presente en la grasa se una a glicéridos, incluyendo triglicéridos. Una grasa preferente que tiene al menos 20-40 % en peso de ácidos grasos saturados C12-C22 en la posición 2 basado en ácidos grasos C12 a C22 totales en la posición 2 es estearina de aceite de palma.

El método que comprende la reacción de acidólisis enzimática entre la grasa y la segunda composición de ácidos grasos puede llevarse a cabo como se describe en el documento WO 2007/029015. De este modo, el método puede llevarse a cabo en presencia de una enzima, preferentemente una lipasa 1,3 específica. Bajo la influencia de la lipasa 1,3, los residuos de oleoil se introducen en las posiciones 1 y 3 del triglicérido por intercambio con los residuos de ácidos grasos del triglicérido. Los triglicéridos 2-palmitoil modificados de esta manera se pueden separar de la mezcla de reacción. La reacción en el proceso de la presente invención intercambia selectivamente ácido palmítico con ácido oleico en la posición 1,3 en lugar de la posición 2. La reacción de transesterificación se realiza para alcanzar o acercarse a un equilibrio en una tasa de conversión a 1,3-dioleoil 2-palmitoil glicérido de un mínimo de 50 %, preferentemente al menos 60 %, más preferentemente al menos 70 % en moles basado en el triglicérido de partida. Preferentemente, la estearina de aceite de palma está, por ejemplo, mezclada con la segunda composición de ácidos grasos en una relación en peso de estearina de aceite de palma a ácido oleico de preferentemente de 0,1:1 a 2:1, más preferentemente de 0,4:1 a 1,2:1, incluso más preferentemente de 0,4:1 a 1:1, lo más preferentemente de 1:1,1 a 1:2 en una base en peso. La reacción se lleva a cabo preferentemente a una temperatura de 30 °C a 90 °C, preferentemente de 50 °C a 80 °C, tal como aproximadamente 60 °C a 70 °C, y puede

llevarse a cabo de manera discontinua o de manera continua, con o sin un disolvente orgánico inmiscible en agua. Antes de la reacción, la humedad se controla preferentemente con una actividad de agua comprendida entre 0,05 y 0,55, preferentemente entre 0,1 y 0,5, dependiendo del tipo de sistema enzimático del biocatalizador utilizado. La reacción se puede realizar, por ejemplo, a 60 °C en un depósito de agitación o en un reactor de lecho relleno sobre biocatalizadores, basado en concentrados de Lipasa D (*Rhizopus oryzae*, previamente clasificada como *Rhizopus delemar*, de Amano Enzyme Inc., Japón) o concentrados de *Rhizomucor miehei* inmovilizada (Lipozyme RM IM de Novozymes, Dinamarca). El producto obtenido se somete preferentemente a una etapa adicional en la que se purifica. Con el fin de separar los ácidos grasos y ésteres a partir de la fracción de triglicéridos del producto, la composición (opcionalmente después de un tratamiento adicional, tal como aislamiento de la fase grasa) se puede destilar a baja presión (<10 mbar) y a temperaturas elevadas (> 200 °C).

Después de la destilación de la composición, la fracción de triglicéridos es preferentemente fraccionada para recuperar el glicérido que contiene OPO. Esto se puede efectuar utilizando un fraccionamiento con disolventes o fraccionamiento en seco, utilizando una técnica de fraccionamiento de etapa única, en dos etapas o en múltiples etapas, pero preferentemente se lleva a cabo utilizando el fraccionamiento en seco de única etapa. El fraccionamiento elimina preferentemente las tripalmitinas no convertidas a un nivel de menos de 15 % en peso, más preferentemente menos de 10 % en peso, más preferentemente menos de 8 % en peso. El producto es normalmente refinado por completo para eliminar todos los ácidos grasos restantes y contaminantes para producir una fracción refinada de OPO. El fraccionamiento comprende preferentemente una temperatura de mantenimiento en el intervalo de 37 a 47 °C. La estearina formada durante el fraccionamiento se separa preferentemente de la oleína por filtración, por ejemplo, filtro de presión. El rendimiento de la oleína deseada se encuentra preferentemente en el intervalo de 70 a 95 % en peso.

El método puede comprender una o más etapas adicionales de purificación adicional del producto con respecto a 1,3-dioleoil 2-palmitoil glicérido.

El segundo triglicérido que se produce por el proceso de la presente invención puede comprender glicéridos OPO preferentemente en una cantidad de al menos 10 % en peso o al menos 20 % en peso. El resto comprende normalmente otros triglicéridos que no contienen OPO.

El segundo triglicérido puede ser utilizado, por ejemplo, como un componente graso en una fórmula infantil.

El listado o discusión de un documento aparentemente publicado anterior en la presente memoria descriptiva no debe tomarse necesariamente como un reconocimiento de que el documento forma parte del estado de la técnica o es de conocimiento general común.

Las preferencias y opciones para un determinado aspecto, realización, característica o parámetro de la invención deben, a menos que el contexto indique lo contrario, ser consideradas por haber sido desveladas en combinación con cualquiera y todas las preferencias y opciones para todos los tipos de aspectos, realizaciones, características y parámetros de la invención. Por ejemplo, las características preferentes de la primera y segunda composiciones de ácidos grasos se pueden aplicar al proceso de la invención y a los métodos de la invención para producir el primer y segundo triglicéridos.

Los siguientes ejemplos no limitantes ilustran la invención y no limitan su alcance de ninguna manera. En los ejemplos y a lo largo de la presente memoria descriptiva, todos los porcentajes, partes y relaciones son en peso a menos que se indique lo contrario. Por ejemplo, los porcentajes en peso de los ácidos grasos en la primera y segunda composiciones de ácidos grasos se basan en el porcentaje del ácido graso libre respectivo en el peso total de la composición.

50 Ejemplos

Ejemplo 1

La oleína de karité fue hidrolizada enzimáticamente por completo. La reacción se catalizó por una mezcla de lipasas, Lipasa Amano G y Lipasa Amano AY.

Aproximadamente se mezclaron 4 kg de oleína de karité con 1,2 kg de agua desmineralizada (30 % en peso) y la mezcla se agitó a 40 °C hasta que se obtuvo una emulsión homogénea. A esta emulsión se le añadieron 2 gramos de Lipasa Amano AY y 1,6 gramos de Lipasa Amano G y la mezcla se agitó durante 24 horas adicionales a 40 °C. Después de esto, se detuvo la reacción calentando la mezcla de reacción a 80 °C y agitando a esta temperatura durante al menos 30 min. Posteriormente, se detuvo la agitación, se asentó y se separó la fase acuosa. El producto que contiene ácidos grasos libres se lavó con 1,0 kg de agua desmineralizada caliente y se secó al vacío. El producto que contiene ácidos grasos secos se destiló con el fin de separar los ácidos grasos libres a partir de los glicéridos sin hidrolizar por medio de una destilación de corto recorrido a una temperatura de aproximadamente 195 °C y a una presión de aproximadamente 4×10^{-3} mbar. Los ácidos grasos libres se recogieron como un destilado. La composición de ácidos grasos de los productos se da en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición de ácidos grasos de oleína de karité y fracciones de oleína de karité tras la hidrólisis enzimática y la destilación

	Hidrólisis enzimática de oleína de karité		Destilación de corto recorrido del producto que contiene ácidos grasos	
	Antes de la hidrólisis	Después de la hidrólisis	Residuo	Destilado
Contenido de AGL	0,03	79	2,48	95
Análisis EMAG				
C12:0	0,2	0,2	0,2	0,2
C14:0	0,1	0,1	0,1	0,1
C16:0	5,5	5,5	5,4	5,7
C18:0	29,6	29,4	34,8	28,7
C18:1	53,4	53,3	46,8	54,4
C18:2	8,7	8,6	7,4	8,9
C18:3	0,2	0,2	0,1	0,1
C20:0	1,3	1,2	2,6	1,1
C20:1c	0,4	0,4	0,8	0,4
C22:0	0,2	0,1	0,3	0,1
trans	0,4	0,3	0,3	0,3
AGS	36,9	36,8	43,8	36,1
AGMI	53,9	53,9	47,7	54,8
AGPI	8,9	8,8	7,5	9

En esta y otras tablas, Cx:y se refiere a ácidos grasos que tienen x átomos de carbono y y dobles enlaces; c se refiere a ácidos grasos cis; niveles determinados de EMAG por CG

Ejemplo 2

- 5 El destilado obtenido en el Ejemplo 1 fue el fraccionado en seco que utiliza un cristizador a escala de laboratorio. Para lograr una cantidad viable, se produjeron varios lotes. La fracción se realizó a tres temperaturas diferentes en el intervalo de 30 °C a 45 °C.
- 10 Aproximadamente se pusieron 500 gramos del destilado en el cristizador y se calentó a 70 °C con el fin de borrar cualquier memoria de cristal. Después de esto, el aceite se enfrió a 40-35 °C a una velocidad de enfriamiento de aproximadamente 4,3-5 °C/hora. Después de esto, se estabilizó la suspensión obtenida a la temperatura final durante aproximadamente 7 horas y los cristales formados se separaron de la fracción de oleína mediante el uso de un filtro de prensa a escala de laboratorio. El programa de presión utilizado fue el siguiente: aumento de la presión de 0 a 24 bar en 6 horas y posteriormente compresión a 24 bar durante 6 horas.
- 15 Se obtuvieron altas fracciones de estearina de ácido esteárico (productos 1a, 1b, 1c de la invención) y se obtuvieron altas fracciones de oleína de ácido oleico (productos 2a, 2b, 2c). Véase la Tabla 2.

Tabla 2. Fraccionamiento en seco de los ácidos grasos de karité obtenidos a través de hidrólisis enzimática de oleína de karité y destilación. El fraccionamiento se realizó a diferentes temperaturas.

Fracción	Destilado del ejemplo 1	Producto 1a de estearina	Producto 1b de estearina	Producto 1c de estearina	Comparativo	Producto 2a de oleína	Producto 2b de oleína	Producto 2c de oleína	Comparativo
Análisis EMAG									
C12:0	0,2	0,1	0,1	0,1	*	0,2	0,2	0,2	0,1
C14:0	0,1	0,1	0,1	0,1	*	0,2	0,2	0,1	0,1
C16:0	5,7	5	4,7	4,5	0,5	5,9	6	6	1,4
C18:0	28,7	63,6	69,8	70,4	98,3	10,3	12	14	1,8
C18:1	54,4	25,1	20	19,8	0,1	69,5	68,3	66,7	82,6
C18:2	8,9	4	3,2	3,1	*	11,2	11,1	10,8	13
C18:3	0,1	0,1	0,1	0,1	*	0,6	0,3	0,3	0,1
trans	0,3	0,3	0,2	0,2	*	0,8	0,6	0,6	1,1
C20:0	1,1	1,5	1,5	1,5	0,8	0,9	0,9	1	0,2
C20:1cis	0,4	0,2	0,2	0,2	*	0,5	0,5	0,5	0,4
C22:0	0,1	0,1	0,1	0,1	*	0,1	0,1	0,1	*
AGS	36,1	70,5	76,6	76,8	99,8	17,7	19,6	21,6	3,5
AGMI	54,8	25,3	20,2	19,9	0,1	70,1	69	67,3	78,8
AGPI	9	4,1	3,2	3,2	0	11,8	11,4	11,1	13,1

Ejemplo 3

La acidolisis de media fracción de palma se llevó a cabo con el concentrado de ácido esteárico de karité del Ejemplo 2. La reacción de acidolisis se realizó utilizando un reactor de lecho relleno a escala de laboratorio (RLR).

5 Aproximadamente se combinaron 1.200 gramos de media fracción de palma dura con 1.200 gramos de concentrado de ácido esteárico del Ejemplo 2 (Producto 1c). A esta combinación, se añadieron 0,15 % (en peso) de agua desmineralizada y la mezcla se transfirió al recipiente de alimentación del equipo de RLR. La columna de RLR se llenó con 5 gramos de lipasa de *Rhizopus oryzae* inmovilizada sobre un soporte Accurel y la temperatura se ajustó a 70 °C. El suministro se hace pasar a través de la columna a un caudal medio de aproximadamente 12,7 g/horas y la
 10 reacción de acidolisis se controló midiendo el nivel de 1,3-dipalmitoil-2-oleoil glicérido (POP) en el producto. El exceso de ácidos grasos en el producto interesterificado se separó por destilación por medio de una destilación de corto recorrido.

15 Aproximadamente se disolvieron 400 gramos de aceite interesterificado en 2 kg de acetona a 50 °C y se enfriaron a 8-12 °C y se mantuvieron a esta temperatura durante 30 min. Después de esto, los cristales formados se separaron por filtración y el sobrenadante se calentó hasta 50 °C y posteriormente se enfrió a 20-24 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 30 min. Los cristales formados se separaron por filtración y el disolvente a partir del sobrenadante se evaporó dando como resultado el producto principal. El rendimiento global fue de aproximadamente 57 %, mientras que la estearina de la parte superior fue de aproximadamente 10 % y la fracción
 20 de oleína de aproximadamente 33 %. Los datos analíticos para los productos están contenidos en la Tabla 3.

Tabla 3. Análogo de la manteca de cacao enzimática (AMCE) obtenido a través de acidolisis de la media fracción de palma con concentrado de ácido esteárico de oleína de karité seguido de destilación y fraccionamiento.

	Media fracción de palma interesterificada	Fraccionamiento del disolvente		
		Oleína	Media fracción de AMCE	Estearina
C12:0	0,1	0,2	0,1	0
C14:0	0,5	0,8	0,4	0,5
C16:0	29,2	27,9	28,6	42,4
C18:0	29,3	18,3	32,8	44,3
C18:1	35,7	43,9	34,4	11
C18:2	4,1	7,8	2,5	0,3
C18:3	0,1	0,2	0	0
C20:0	0,7	0,5	0,8	1
C20:1cis	0,1	0,1	0	0
C22:0	0,1	0	0,1	0,1
AGS	60,1	47,8	63	88,7
AGMI	35,8	44,1	34,5	11
AGPI S	4,1	8	2,5	0,3
Trans total	0,2	0,3	0,1	0,1
Datos de la fase plateada por HPLC*				
SOS	*	*	79,8	*
SOO	*	*	9,4	*
OSO	*	*	0,24	*
SSS	*	*	1,5	*
SLS	*	*	3,9	*
SSL	*	*	0,3	*
SOL	*	*	1,9	*
OOO	*	*	0,7	*
SSO	*	*	1,7	*
3 dobles enlaces más en el triglicérido	*	*	0,6	*
Composición triglicéridica CG**				
MPP	0,2	0,2	0,2	0,4
MOM	0,1	0,2	0	0
PPP	2	0,5	1,1	11,2
MOP	0,7	1,5	0,4	0,1
MLP	0,1	0,3	0	0,2
PPSt	3,7	0,3	1	30,6
POP	16,9	19,7	17,8	2,9
PLP	2	4,1	0,9	0,1
PStSt	2,4	0,3	0,7	22,4

POSt	29,5	13,2	41,1	12,4
POO	9,2	20,7	4,2	0,2
PLSt	2,2	4,6	1,6	0,1
PLO	2	4,3	0,7	0
PLL	0,1	0,5	0	0
StStSt	0,4	0,1	0,3	3,7
StOSt	15,4	2,4	22,6	14,1
StOO	7,8	17,8	3,9	0,1
StLSt	1,1	1,6	1	0,3
OOO	1	2,4	0,4	0
StLO	1,8	3,8	0,7	0
OLO	0,3	0,7	0,1	0
StLL	0	0,2	0	0
AOSt	0,5	0	0,8	0,4
S26N20 RMN	41	*	72	*
S26N25 RMN	30	*	66	*
S26N30 RMN	17	*	38	*
S26N35 RMN	8	*	1	*

*S = ácido graso saturado; O = ácido oleico; L = ácido linoleico;
 *Composición de triglicéridos MPP, etc., se determinó por CG (norma ISO 23275) e incluye triglicéridos que tienen los mismos ácidos grasos en diferentes posiciones, p. ej., MPP incluye MPP y PMP; M, O, P, St, L y A se refieren a ácidos mirístico, oleico, palmítico, esteárico, linoleico y araquídico, respectivamente
 S26Nx se refiere a un contenido de grasa sólida determinado de acuerdo con la norma ISO 8291-1 (beta estabilizado a 26 °C) en x °C

La Figura 1 es un gráfico del % de sólidos a temperaturas de 20, 25, 30 y 35 °C para combinaciones de grasas que comprenden 0-100 % de manteca de cacao (MC) y 100-0 % de AMCE ("manteca de cacao enzimática") del Ejemplo 3 que muestra la compatibilidad del análogo de la manteca de cacao enzimática con manteca de cacao (MC).

5

Ejemplo 4

La acidolisis de estearina de palma se llevó a cabo con el concentrado de ácido oleico de karité del Ejemplo 2. La reacción de acidolisis se realizó utilizando un reactor de lecho relleno a escala de laboratorio (RLR).

10

Aproximadamente se combinaron 1.290 gramos de estearina de palma dura con un número de valor de yodo (VY) de aproximadamente 14 con aproximadamente 1.810 gramos de concentrado de ácido oleico del Ejemplo 2 (Producto 2a). A esta combinación, se añadieron aproximadamente 0,15 % (en peso) de agua desmineralizada y la mezcla se transfirió al recipiente de alimentación del equipo de RLR. La columna de RLR se llenó con 5 gramos de lipasa de *Rhizopus oryzae* inmovilizada sobre Accurel y la temperatura se ajustó a 60 °C. El suministro se hace pasar a través de la columna a un caudal medio de aproximadamente 12,7 g/horas y la reacción de acidolisis se controló midiendo el nivel del número de carbonos C48 en el producto. El exceso de ácidos grasos en el producto interesterificado se separó por destilación por medio de destilación de corto recorrido. La estearina de palma dura interesterificada (el residuo del producto obtenido tras la destilación) se fraccionó en seco como se indica con el fin de obtener la fracción de oleína deseada que cumple con las características requeridas.

15

20

Aproximadamente 1.000 gramos del aceite interesterificado se fraccionaron en seco. El aceite se calentó en primer lugar a 70 °C y después se enfrió a 37-42 °C según se indica:

25

de 70 °C a 42-47 °C en aproximadamente 2-5 horas, mantenido durante 2-6 horas a 42-47 °C y luego se enfría adicionalmente a 37-42 °C en 5-10 horas y mantenido a esta temperatura durante aproximadamente 5-10 horas.

Los cristales formados se separaron mediante el uso de un filtro de prensa a escala de laboratorio. La suspensión se presionó utilizando el siguiente programa: aumento de la presión de 0-24 bar en 60 min y compresión a 24 bar durante 30 min.

30

De esta manera, se obtuvo aproximadamente un 87 % del producto de oleína. Los resultados analíticos se muestran en la tabla 4.

35

Tabla 4. Estearina de palma interesterificada enzimática obtenida a través de acidolisis que contiene tipo de triglicéridos OSO y SSO.

	Estearina de palma	Estearina de palma interesterificada	Fracción de oleína = producto	Fracción de estearina
Temp. de fraccionamiento (°C)			37-42	
Rendimiento en %			88,0	12,0
Composición EMAG				

ES 2 663 516 T3

C12:0	0,1	0,1	0,2	0,1
C14:0	1,3	0,7	0,7	0,8
C16:0	81,1	42,2	41,8	79,4
C18:0	4,9	4,0	3,7	5,8
C18:1cis	9,8	41,6	46,8	12,9
C18:2cis	2,1	4,4	5,0	1,1
C18:3cis	0	0,0	0,0	0,0
C120:0	0,3	0,3	0,3	0,4
C20:1cis	0	0,2	0,2	0,1
C22:0	0	0,0	0,0	0,1
C24:0	0	0,0	0,0	0,0
AGS	88	52,7	47,1	86,8
AGMI	9,8	41,9	46,7	12,1
AGPI	2,2	4,5	5,0	1,1
Trans total	0,1	0,5	0,6	0,2
Fase plateada por HPLC				
SOS	12,4	*	2,7	*
SOO	4	*	9,7	*
OSO	0,1	*	24,3	*
SSS	77,2	*	6,9	*
SLS	1,6	*	0,5	*
SSL	0,2	*	3,2	*
SOL	1,1	*	7,6	*
OOO	0,4	*	9,4	*
SSO	2,1	*	31,0	*
3 dobles enlaces más en el triglicérido	0,9	*	4,1	*
Número de carbonos CG				
C46	3,3	0,9	0,7	2,3
C48	61,9	15,0	6,0	58,8
C50	24,2	35,0	36,2	27,2
C52	8,6	36,3	41,7	9,0
C54	2	11,8	14,0	2,5
C56	0	1,0	1,2	0,1

REIVINDICACIONES

1. Una composición de ácidos grasos que comprende:
- 5 (i) del 60 % al 80 % en peso de ácido esteárico;
(ii) del 3 al 30 % en peso de ácido oleico; y
(iii) menos del 10 % en peso de ácido palmítico.
- 10 2. Composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que los ácidos grasos en la composición son no hidrogenados.
3. Composición de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende del 10 al 30 % en peso de ácido oleico.
- 15 4. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende del 2 al 7 % en peso de ácido palmítico.
5. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende del 1 al 5 % en peso de ácido linoleico.
- 20 6. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende del 1 al 3 % en peso de ácido araquídico.
7. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que se puede obtener a partir de oleína de karité.
- 25 8. Un proceso de producción de la composición de ácidos grasos de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende la hidrólisis enzimática de un triglicérido.
- 30 9. Proceso de acuerdo con la reivindicación 8, que también produce una segunda composición de ácidos grasos que comprende más del 63 % en peso de ácido oleico, más del 4 % en peso de ácido linoleico y más del 2 % en peso de ácido esteárico.
10. Proceso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la segunda composición de ácidos grasos comprende del 63 al 80 % en peso de ácido oleico, del 5 al 20 % en peso de ácido linoleico y del 5 al 20 % en peso de ácido esteárico.
- 35 11. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, que comprende:
- 40 a) la hidrolización de una grasa que comprende al menos el 20 % de ácido esteárico basado en el peso de los ácidos grasos presentes en la grasa;
b) la destilación del producto de la etapa a); y
c) el fraccionamiento del producto de la etapa b).
- 45 12. Proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que la grasa de la etapa a) es manteca de karité y/o una fracción de la misma.
13. Uso de una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en la preparación de un triglicérido.
- 50 14. Método de preparación de un triglicérido que comprende una reacción de acidolisis enzimática entre: una grasa con al menos el 30 % en peso de ácido oleico en la posición 2 basado en ácidos grasos C12 a C22 totales en la posición 2; y la composición de ácidos grasos de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
- 55 15. Método de preparación de un triglicérido que comprende una reacción de acidolisis enzimática entre: una grasa con al menos el 20-40 % en peso de ácidos grasos saturados C12-C22 en la posición 2 basado en ácidos grasos C12 a C22 totales en la posición 2; y la segunda composición de ácidos grasos de acuerdo con la reivindicación 9 o la reivindicación 10.

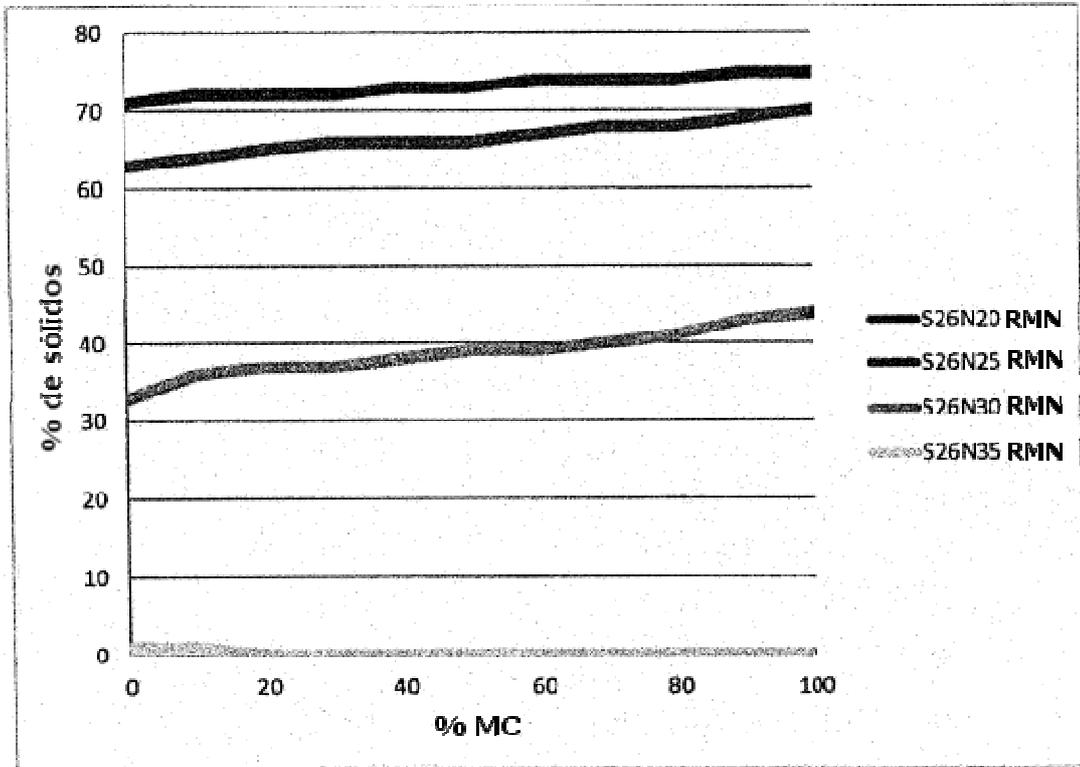


Fig 1