

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 671 172**

51 Int. Cl.:

A23L 33/15 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.02.2008 PCT/EP2008/001543**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.09.2008 WO08104381**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.02.2008 E 08716077 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.04.2018 EP 2115107**

54 Título: **Proceso para producir una composición de glicérido**

30 Prioridad:

28.02.2007 EP 07250834

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

05.06.2018

73 Titular/es:

**LODERS CROKLAAN B.V. (100.0%)
HOGEWEG 1
1521 AZ WORMERVEER, NL**

72 Inventor/es:

**SCHWEITZER, ERIK;
BOUWER, SIETZE y
BHAGGAN, KRISHNADATH**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 671 172 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

Proceso para producir una composición de glicérido

5 La presente invención se refiere a un proceso para producir una composición de glicérido.

La invención se define según las reivindicaciones. Las grasas y aceites triglicéridos son importantes productos comerciales y su uso está muy extendido, por ejemplo, en la industria alimentaria. Algunos triglicéridos son importantes nutricionalmente y se sabe que el triglicérido 1,3-dioleoil-2-palmitoil glicérido es un importante
10 componente de la grasa láctea humana.

Es posible obtener composiciones de grasa que contienen los ácidos grasos principales que se encuentran en la grasa láctea humana en cantidades similares a las encontradas en la grasa láctea humana a partir de aceites y grasas de origen vegetal. Sin embargo, surge una significativa diferencia en la composición ya que la mayoría de los
15 glicéridos de origen vegetal son insaturados en la posición 2-. En cambio, una cantidad sustancial de ácido palmítico ocupa la posición 2- de glicéridos en la grasa láctea humana.

Se cree que la diferencia en la distribución de ácidos a lo largo de las posiciones del glicérido tiene unas consecuencias en la dieta importantes. Freeman et al, (J. Dairy Sci., 1965, p.853) han estudiado la distribución de los ácido grasos en los triglicéridos de algunas grasas lácteas de importancia nutricional y han notificado que la
20 grasa láctea humana contiene una mayor proporción de ácido palmítico en la posición 2- y una mayor proporción de ácido esteárico y ácido oleico en las posiciones 1,3- con respecto a la grasa láctea de los rumiantes. Filer et al (J. Nutrition, 99, pp. 293-298) han notificado una mayor absorción de los lactantes de ácido palmítico en la posición 2- de los triglicéridos y han señalado que la absorción relativamente escasa de los lactantes de grasa de mantequilla en
25 comparación con la grasa láctea humana puede atribuirse a su distribución sustancialmente uniforme de ácido palmítico entre las posiciones glicérido de la grasa.

Para ajustar con mayor precisión las propiedades químicas y/o físicas de las grasas o aceites triglicéridos obtenidos de fuentes naturales a las de la grasa láctea humana, por tanto, es necesario controlar la distribución de los restos
30 de ácido graso en las posiciones glicérido. Se conocen procesos para producir selectivamente el triglicérido 1,3-dioleoil-2-palmitoil glicérido (OPO) para su uso como sustitutivo para la grasa láctea humana.

En la patente europea EP-A-0209327, se divulgan composiciones de grasa sustitutivas de la leche que comprenden el triglicérido 1,3-dioleoil-2-palmitoil glicérido (OPO). Dichas composiciones de grasa pueden obtenerse sometiendo
35 las mezclas de grasa de 2-palmitoil glicérido a reacción con ácido oleico en presencia de un catalizador, como lipasa, que es regioespecífico de la actividad en las posiciones 1- y 3- de los glicéridos. En la patente británica GB-A-1577933, se describen también procesos enzimáticos de este tipo. En virtud de la influencia del catalizador, es posible introducir restos de ácido graso insaturado en las posiciones 1- y 3- de los 2-pamitoil glicéridos por
40 intercambio con los ácidos grasos libres insaturados o sus ésteres alquílicos.

En la patente internacional WO 2005/036987 se divulga un proceso para producir una base de grasa por reacción de un ácido rico en palmítico con ácidos grasos insaturados, como por ejemplo ácido oleico. El contenido total de restos
45 de ácido palmítico de la base de grasa es como máximo 38 % y al menos un 60 % de las fracciones de ácido graso están en la posición 2- de la cadena principal del glicérido. Se puede encontrar una divulgación relacionada en la patente internacional WO 2005/037373, registrada en la misma fecha.

En la patente internacional WO 2006/114791 se divulgan sustitutos de la grasa láctea humana. Las únicas estearinas de aceite de palma que se mencionan de manera específica tienen valores de yodo (VI) de 34 y 15 y estos se interesterifican con los aceites triglicéridos o se aleatorizan químicamente antes de su uso posterior.
50

En la patente europea EP-A-1477070 y la patente estadounidense US 2004/126475 se describen composiciones de grasa que comprenden cristales de la forma β que tienen una estructura de longitud de cadena doble. Las composiciones son para su uso en repostería.

55 En la patente europea EP-A-0417823 se describe un proceso que implica la transesterificación de triglicéridos.

En la patente japonesa JP-H06-70786 se divulga un método para producir triglicéridos que tienen un alto contenido de ácido palmítico en la posición 2-.

60 Los procesos comerciales para producir triglicéridos emplean por lo general materiales de partida fácilmente asequibles a un coste razonable y en grandes cantidades. Un material de partida adecuado relativamente rico en triglicéridos que tiene ácido palmítico en la posición 2- es el aceite de palma. Normalmente, el aceite de palma se fracciona antes de emplearlo en este tipo de procesos.

65 La solicitud internacional relacionada de los autores de la presente invención No. PCT/GB2006/003343 describe un proceso para la producción de una composición que comprende 1,3-dioleoil-2-palmitoil glicérido (OPO) en la que se

somete a transesterificación enzimática estearina de aceite de palma, con un valor de yodo (VI) comprendido entre aproximadamente 2 y aproximadamente 12, con ácido oleico o un éster no glicérido de ácido oleico.

5 Sigue pendiente la necesidad de proporcionar un proceso más eficiente para la producción de 1,3-dioleoil-2-palmitoil glicérido (OPO). Por ejemplo, existe la necesidad de aumentar el rendimiento del proceso y/o hacer más eficiente el proceso.

De acuerdo con la invención, se proporciona un proceso para la producción de una composición que comprende 1,3- dioleoil-2-palmitoil glicérido (OPO), en el que dicho proceso comprende:

- 10 (i) proporcionar una o más fracciones de estearina de aceite de palma que comprenden tripalmitoil glicérido y que tienen un valor de yodo entre 18 y 40;
- (ii) interesterificar enzimáticamente la una o más fracciones estearina de aceite de palma para formar una estearina de aceite de palma interesterificada aleatoriamente.
- 15 (iii) someter la estearina de aceite de palma interesterificada aleatoriamente a transesterificación enzimática con ácido oleico o un éster no glicérido del mismo utilizando una enzima que tiene selectividad para las posiciones 1- y 3- de un glicérido; y
- (iv) separar el ácido palmítico o los ésteres no glicéridos palmíticos del producto obtenido en (iii) para formar una composición que comprende OPO glicérido.

20 En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un producto de aceite de palma interesterificado aleatoriamente (como por ejemplo estearina de aceite de palma) en un proceso para la producción de una composición que comprende 1,3-dioleoil-2-palmitoil glicérido (OPO).

25 La invención permite la producción de OPO glicérido de forma más rentable a partir de materiales de partida disponibles en el mercado. La invención se basa al menos en parte en el hallazgo de que es posible aumentar el rendimiento del proceso llevando a cabo una etapa de interesterificación de una o más fracciones estearina de aceite de palma para formar una estearina de aceite de palma interesterificada aleatoriamente antes de la reacción 1-, 3- selectiva con el ácido oleico (o un éster oleílico) en presencia de una enzima. Se ha observado que esta 30 formación de una estearina de aceite de palma interesterificada aleatoriamente aumenta la cantidad de 2-palmitoil glicérido que está presente en el producto final y, por tanto, aumenta el rendimiento del proceso.

35 El proceso de la invención emplea una o más fracciones de estearina de aceite de palma en la parte (i). Las fracciones de estearina de aceite de palma pueden consistir en una sola estearina de aceite de palma o en una mezcla de estearinas de aceite de palma, por ejemplo obtenidas en diferentes procesos de fraccionamiento y/o con diferentes propiedades físicas y/o químicas, como por ejemplo diferentes temperaturas de fusión o diferentes valores de yodo (VI). Preferentemente, se someten a un proceso de blanqueo y desodorización la una o más fracciones de estearina de aceite de palma antes de la etapa (ii). El blanqueo y la desodorización pueden llevarse a cabo empleando técnicas perfectamente conocidas en la especialidad.

40 El término "estearina", tal como se utiliza en la presente memoria descriptiva incluye una mezcla de triglicéridos o una mezcla de grasas de la que se ha extraído al menos un 10 % en peso de los constituyentes con el punto de fusión más bajo a través de algún tipo de fraccionamiento, p.ej., fraccionamiento en seco o fraccionamiento con disolvente.

45 El blanqueo opcional de la estearina de aceite de palma se lleva a cabo normalmente por encima de 95 °C, más preferentemente por encima de 100 °C (por ejemplo entre 105 °C y 120 °C). En la etapa de desodorización, se eliminan las impurezas volátiles de la estearina de aceite de palma para producir estearina de aceite de palma desodorizada, normalmente, a temperaturas por encima de 200 °C. Por lo general, las impurezas extraídas de la 50 etapa de desodorización incluyen ácidos grasos libres, aldehídos, cetonas, alcoholes y otras impurezas de hidrocarburos. El blanqueo y la desodorización pueden llevarse a cabo en una sola etapa de proceso o en dos o más etapas de proceso. Por ejemplo, es posible llevar a cabo las etapas a presión reducida (p.ej., 10 mm Hg o menos), en las que se pone en contacto la estearina de aceite de palma con vapor para favorecer la vaporización de las impurezas. El blanqueo y la desodorización de la estearina de aceite de palma pueden ayudar a mejorar el 55 rendimiento del proceso.

60 Preferentemente, la una o más estearinas de aceite de palma se proporciona o proporcionan por fraccionamiento de aceite de palma o un derivado del mismo. Aunque es posible llevar a cabo el fraccionamiento con o sin disolvente, preferentemente, el fraccionamiento del aceite de palma comprende fraccionamiento en seco. Por tanto, el proceso de fraccionamiento se lleva a cabo preferentemente en ausencia de un disolvente.

65 La estearina de aceite de palma tiene valor de yodo de 18 a 40, preferentemente de 18 a 35. Podrá apreciarse que, cuando se emplea una mezcla de dos o más estearinas de aceite de palma, el valor de yodo se refiere al valor de yodo de la mezcla.

Se ha observado de manera sorprendente, de acuerdo con la invención, que es posible utilizar como materiales de

partida estearinas de aceite de palma con valores de yodo relativamente altos y conseguir no obstante altos niveles de C16:0 en la posición Sn-2 en la composición que comprende OPO es decir, después de (iv).

En una realización preferente, el proceso de la invención puede utilizar una estearina de aceite de palma que comprende una mezcla de al menos dos estearinas de aceite de palma que tienen diferentes valores de yodo. Por ejemplo, la estearina de aceite de palma puede comprender una mezcla de una primera estearina de aceite de palma que tiene un valor de yodo de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 y una segunda estearina de aceite de palma que tiene un valor de yodo de aproximadamente 25 a 50. Esto da cabida al uso de estearinas de aceite de palma que tienen valores de yodo incluso más altos en los procesos de preparación de OPO.

La etapa (ii) en el proceso de la invención se lleva a cabo enzimáticamente para llevar a efecto la interesterificación aleatoria de los triglicéridos en la una o más estearinas de aceite de palma. La enzima empleada es normalmente una lipasa. La lipasa será sustancialmente no selectiva para las posiciones en la cadena principal del glicérido, en las condiciones de reacción, a fin de conseguir una interesterificación aleatoria óptima. Es posible usar lipasas selectivas, siempre y cuando las condiciones de reacción sean las adecuadas para que no se observe una selectividad significativa, por ejemplo, llevando a cabo la reacción durante período de tiempo prolongados. Entre las lipasas adecuadas se incluyen lipasas de *Thermomyces lanuginosa*, *Rhizomucor miehei*, *Rhizopus delemar* y *Candida rugosa*. Preferentemente, la lipasa es adecuada para su uso con productos alimentarios. Debe apreciarse que la estearina de aceite de palma interesterificada aleatoriamente producida en (ii) se deriva de la estearina de aceite de palma solamente y no de ningún otro triglicérido añadido, como por ejemplo aceites vegetales.

En la etapa (ii), los triglicéridos de aceite de palma que tienen normalmente más restos de ácido palmítico en las posiciones 1- y 3- que en la posición 2- se convierten en composiciones de glicérido que tienen una mayor cantidad de ácido palmítico en la posición 2- del glicérido. La interesterificación puede no ser completamente aleatoria, sino preferentemente aleatoria en gran medida, por ejemplo, más de 75 %, más preferentemente más de 85 %, por ejemplo más de 95 % de los restos de ácido graso pueden cambiar durante la reacción, es decir, menos de 25 %, más preferentemente menos de 15 %, por ejemplo menos de 5 % de los ácidos grasos retienen su posición original en el triglicérido de partida. Los porcentajes se basan en el número de grupos acilo grasos presentes. El grado de aleatorización puede determinarse midiendo el valor Sn-2 de los ácidos grasos C16:0 en el producto. El valor Sn-2 es el número de moles (o peso) de restos palmitoilo presentes en la posición 2- del glicérido dividido por el número de moles (peso) total de restos de palmitoilo presentes en el glicérido. Así pues, por ejemplo, OPO puro tendrá un valor Sn-2 para C16:0 de 1 y POO puro tendrá un valor Sn-2 de 0, mientras que una forma totalmente aleatorizada de OPO (es decir, con contenido de POO y OPO) tendrá un valor Sn-2 de 0,33. Preferentemente, en la presente invención, se lleva a cabo la aleatorización en la etapa (ii) para dar un valor Sn-2 para C16:0 comprendido entre 0,300 y 0,333, más preferentemente entre 0,310 y 0,333, incluso más preferentemente entre 0,315 y 0,333, por ejemplo, entre 0,320 y 0,333 o entre 0,325 y 0,333.

Preferentemente en la etapa (ii), el contenido de tripalmitoíl glicérido (C48) desciende a entre aproximadamente 60 y 20 %, por ejemplo entre 60 y 40 % o entre 60 y 50 % (p.ej., entre 58 y 54 %) y el contenido de dioleil-monopalmitoíl glicérido (C50) aumenta a entre aproximadamente 28 y 40% o entre 28 y 38% (p.ej., entre 30 y 36 %).

En la etapa (iii) del proceso, la estearina de aceite de palma interesterificada aleatoriamente se transesterifica selectivamente con ácido oleico o un éster oleílico. Dicha reacción reemplaza preferentemente los restos en las posiciones 1- y 3- del glicérido en relación con los que están en la posición 2-. Por tanto, el producto tiene una mayor cantidad de restos oleílicos en las posiciones 1- y 3- que en la posición 2-. En la transesterificación enzimática de la etapa (iii), los ácidos grasos en la posición 2- de los triglicéridos, normalmente, no cambian (por ejemplo, cambia menos de 40 % en moles (o en peso) de grupos acilo grasos en la posición 2-, más preferentemente, menos de 20 %, por ejemplo, menos de 5 % o menos de 1 % durante el proceso). Las condiciones del proceso se seleccionan para proporcionar el grado de selectividad deseado de la enzima. Las enzimas preferentes para su uso en la etapa (iii) son lipasas de *Rhizopus delemar* y *Rhizomucor miehei*. La reacción de transesterificación se lleva a cabo normalmente para alcanzar o aproximarse al equilibrio en una relación de conversión de un mínimo de al menos 50 %, preferentemente al menos 60 %, siendo sobre todo preferente al menos 70 %.

Preferentemente, en la reacción de transesterificación de la etapa (iii), se mezcla la estearina de aceite de palma interesterificada aleatoriamente con un concentrado de ácido oleico (que comprende ácido oleico libre a una concentración de más de 65 % en peso, preferentemente más de 70 % en peso, siendo sobre todo preferente más de 75 % en peso). Alternativamente, se puede proporcionar el ácido oleico como una mezcla que comprende ácido oleico (preferentemente, en una cantidad de más de 65 % en peso), ácido linoleico y, opcionalmente, otro u otros ácidos grasos. La relación entre la estearina de aceite de palma interesterificada aleatoriamente y el concentrado de ácido oleico es 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, siendo sobre todo preferente de 1:1,1 a 1:2 sobre la base del peso. La reacción se lleva a cabo preferentemente a una temperatura comprendida entre 30 °C y 90 °C, preferentemente entre 50 °C y 80 °C, como por ejemplo entre aproximadamente 60 °C y 70 °C, y puede llevarse a cabo de forma continua o discontinua, con o sin un disolvente orgánico no miscible en agua.

Antes de la reacción de transesterificación con enzima de la etapa (iii), se controla preferentemente la humedad a

una actividad de agua comprendida entre 0,05 y 0,55, preferentemente entre 0,1 y 0,5, dependiendo del tipo de sistema de enzimas biocatalizadora utilizado. Se puede llevar a cabo la reacción, por ejemplo a 60 °C en un tanque en agitación o un reactor de lecho compacto sobre biocatalizadores, basado en concentrados de lipasa D (*Rhizopus oryzae*, clasificado previamente como *Rhizopus delemar*, de Amano Enzyme Inc., Japón) o concentrados inmovilizados de *Rhizomucor miehei* (Lipozyme RM IM de Novozymes A/S, Dinamarca).

Opcionalmente, se utilizan en la invención ésteres de ácido oleico no glicérido, además de, o de forma alternativa al ácido oleico y, preferentemente, ésteres alquílicos. El término "alquilo", tal como se utiliza en el presente documento, incluye hidrocarburos saturados, de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 12, más preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono.

En la etapa (iv) del proceso, se separan el ácido palmítico o los ésteres no glicérido palmíticos del producto OPO glicérido deseado. Debe apreciarse que la separación no suele ser completa y que tanto los materiales separados como el producto que queda serán mezclas. Asimismo, la separación del ácido palmítico o los ésteres no glicéridos palmíticos separará también normalmente otros ácidos grasos o ésteres no glicéridos de ácido graso del producto. El término "ácido graso", tal como se utiliza en el presente documento se refiere a ácidos carboxílicos saturados o insaturados, de cadena lineal, que tienen de 12 a 24 átomos de carbono.

Para separar el ácido palmítico y otros ácidos grasos o ésteres no glicéridos palmíticos y otros glicéridos de OPO en la etapa (iv), se destila preferentemente la mezcla transesterificada (opcionalmente, tras posterior tratamiento, como pueda ser aislamiento de la fase de grasa). La destilación se lleva a cabo preferentemente a baja presión (p.ej., menos de 10 mbar) y temperaturas elevadas (p.ej., más de 200 °C) para eliminar los ácidos grasos de la fracción triglicérido producto.

El proceso de la invención puede comprender además la etapa (v) de fraccionamiento en seco del producto obtenido en (iv) para formar una fracción que comprende una mayor cantidad de OPO. Sin embargo, es posible que no sea necesaria dicha etapa dependiendo de la pureza del producto final y el uso final deseado del producto.

La composición o fracción producida de acuerdo con la invención comprende preferentemente no más de 45 % en peso, más preferentemente no más de 42 % en peso de ácido palmítico, sobre la base del contenido de ácido graso total, y/o al menos 53 % en peso, más preferentemente al menos 55 % en peso, por ejemplo al menos 58 % en peso, de los restos de ácido palmítico está presente en la posición 2- del glicérido.

Una composición o fracción preferente de la invención comprende preferentemente no más de 42 % en peso de ácido palmítico, sobre la base del contenido de ácido graso, y al menos 56 % en peso, más preferentemente está presente al menos 58 % en peso de restos de ácido palmítico en la posición 2- del glicérido.

Preferentemente, el contenido de tripalmitoilglicérido (PPP) de la composición o fracción producida de acuerdo con la invención es menos de 9 % (más preferentemente menos de 8 %) en peso de la composición.

Preferentemente, se mezcla la composición de (iv) o la fracción (v) con al menos un aceite vegetal para formar una composición grasa para su uso como grasa en un producto sustitutivo de grasa láctea humana. Normalmente, la cantidad de aceite vegetal varía entre 1 % y 75 %, más preferentemente, entre 5 y 60 %, por ejemplo entre 10 y 50 %, en peso de la mezcla de grasa. Entre los ejemplos de aceites vegetales adecuados se incluyen aceite de girasol, aceite de girasol con alto contenido de oleico, aceite de almendra de palma, aceite de colza y aceite de soja y mezclas de los mismos. Las mezclas de grasa resultantes tienen preferentemente un índice de contenido de sólidos medido por pulsos-RMN o grasas no estabilizadas dentro de los siguientes intervalos: NO = 35-55; N10 = 25-50 y N30 \leq 10. Estos valores se obtuvieron preferentemente fundiendo la mezcla de grasas a 80 °C, manteniéndola a 60 °C o más durante al menos 10 minutos, enfriándola a 0 °C y manteniéndola a 0 °C durante 16 horas, calentando N a la temperatura de medición y manteniendo esa temperatura durante 30 minutos antes de medir el valor N.

Alternativamente, es posible mezclar la composición de (iv) o la fracción de (v) con una fuente de ácido docosahexanoico (DHA) o ácido eicosapentanoico (EPA), como por ejemplo aceite de pescado o aceite microbiano, más preferentemente, en una relación en peso de 10:1 a 1:10.

Las composiciones de grasa o las mezclas de grasa producida a través del proceso de la invención pueden ser adecuadas para sustituir al menos una parte de la grasa en las formulaciones alimentarias para lactantes. Las formulaciones alimentarias para lactantes pueden comprender la composición de grasa o la mezcla de grasa de la invención junto con uno o más entre proteínas, hidratos de carbono, minerales y vitaminas. Por lo tanto, la presente invención contempla asimismo un método para producir composiciones alimentarias para lactantes que comprenden componentes de grasa, proteínas e hidratos de carbono, por ejemplo, en las proporciones de peso relativas aproximadas de 2,5:1:5 en las que se sustituye al menos una parte de la grasa utilizada normalmente en dichas formulaciones por la composición de grasa o la mezcla de grasa de acuerdo con la presente invención. Pueden dispersarse las formulaciones deshidratadas que contienen esta mezcla, junto con componentes adicionales habituales en dicha formulaciones, como proteínas, hidratos de carbono, minerales y vitaminas, en suficiente agua para producir una emulsión de aproximadamente 2 a 5 gramos de grasa por cada 100 ml de dispersión. Por lo tanto,

una formulación alimentaria para lactantes puede prepararse envasando y etiquetando una composición que comprende OPO triglicérido.

5 Los siguientes ejemplos no exhaustivos ilustran la invención y no limitan su alcance en absoluto. En los ejemplos, y a lo largo de la presente memoria descriptiva, todos los porcentajes, partes y relaciones son en peso a no ser que se indique de otro modo.

Ejemplos

10 Ejemplo 1 (Referencia)

Aleatorización de fracción de estearina de aceite de palma a través de medios químicos

15 Se llevó a cabo la aleatorización química para tener una referencia para la aleatorización catalizada con enzima. Se calentó 1 kg de fracción de estearina de aceite de palma con un valor de yodo de 14 (PO14) al vacío a 110 °C durante 15 minutos para eliminar todo el agua. Se interrumpió el vacío para añadir 0,15 % de etanolato sódico y se continuó la reacción al vacío durante 30 minutos a 110°C. Se detuvo la reacción por lavado del aceite varias veces con agua desmineralizada a 95°C.

20 Finalmente, se secó la grasa al vacío. A continuación, en el Ejemplo 2, se dan los resultados del análisis.

Ejemplo 2 (Referencia)

Aleatorización de fracción de estearina de aceite de palma enzimáticamente en una reacción discontinua

25 Para la aleatorización de la fracción de estearina de aceite de palma y para la fabricación de un lípido estructurado que comprende OPO (1,3-dioleoil-2-palmitoil glicérido) se aplican los siguientes tres parámetros en general.

- 30 • Composición de ácido graso total: FAME
- Número de carbonos de triglicérido:

35 C48 tripalmitoil glicérido,
C50 mono-oleoil-dipalmitoil glicérido,
C52 dioleoil-monopalmitoil glicérido,
C54 trioleoil glicérido

- posición relativa de ácido palmítico: Sn-2 C16:0.

40 Sn-2 es como se ha definido anteriormente y se refiere al número de moles (o peso) de restos de palmitoil presentes en la posición 2- del glicérido dividido por el número de moles (o peso) total de restos de palmitoil presentes en el glicérido.

45 Se aleatorizaron PO14 (fracción de estearina de aceite de palma con un valor de yodo de 14) en una reacción discontinua utilizando lipasa TL-IM inmovilizada (*Thermomyces lanuginosus*, Novozymes) como catalizador.

Se fundieron 170 g de PO14 en un matraz de fondo redondo de 250 ml a 70 °C bajo nitrógeno. Se añadió 0,5 % g/g o 0,85 g de enzima y se cerró el matraz. El tiempo de reacción fue seis días, mientras se agitaba con un agitador magnético. A intervalos, se tomaron muestras para su análisis.

50 Se produce un acusado descenso de la concentración de tripalmitina (C48) y un aumento de la concentración de mono-oleína-dipalmitina (C50).

En la Tabla 1 se muestran los resultados de los análisis. Aparentemente, la aleatorización enzimática aumenta realmente el valor Sn-2 C16:0 a aproximadamente el valor aleatorio máximo de 0,33.

55 El contenido de tripalmitoil glicérido (C48) desciende de 62 % a 56 % y el contenido de dioleoil-monopalmitoil glicérido (C50) aumenta de 24,5 % a 33-34 %.

60 La comparación con el análisis obtenido de la aleatorización química demuestra que la reacción enzimática se había completado prácticamente.

Tabla 1. Datos del análisis de aleatorización de PO14 con lipasa TL-IM.

	PO14 regulares	PO14 aleatorizados	
		Químico	Enzimático
C14:0	1,2	1,2	-
C16: 0	80,3	79,8	-
C18: 0	5,2	5,4	-
C18: 1	10,4	10,6	-
C18: 2	2,1	2,3	-
C46 (PPM)	3	2,8	3,2
C48 (PPP)	62,3	55,8	55,8
C50 (PPO&POP)	24,5	33,4	33,6
C52 (OPO&OOP)	8,5	6,7	6,8
C54 (OOO)	1,7	0,6	0,8

Ejemplo 3 (Referencia)

5 Fabricación de lípido estructural que contiene 1,3-dioleoil-2-palmitoil glicérido (OPO) con fracción de estearina de aceite de palma regular y aleatorizada (PO14)

Se fabricó el lípido estructural que comprendía OPO por acidólisis específica de 1,3- enzimática entre ácido oleico y PO14. Se utilizó un reactor de lecho compacto continuo que contenía enzima. La enzima fue lipasa D (*Rhizopus delemar*, Amano) inmovilizada sobre perlas de polipropileno microporosas (Accurel).

10 El aceite fuente consistió en una mezcla de PO14 y ácido graso oleico con una relación 1:1,4 g/g. Se bombeó la mezcla lentamente a través de una columna que contenía la enzima inmovilizada. Durante el paso de la mezcla de aceite/ácido graso, tiene lugar la reacción de acidólisis, en virtud de la cual, el nivel de conversión es proporcional al tiempo de residencia en la columna. El tiempo de residencia es el volumen vacío en el lecho de enzima dividido por el caudal. El tiempo de residencia utilizado en este ejemplo fue 53 minutos.

Se añadió agua para mantener la enzima activa. Se mantuvo el contenido de agua en la mezcla PO14/ácido oleico en 0,15 % g/g. La temperatura de reacción fue 60 °C. La duración de cada experimento fue tres días.

20 Se analizó a intervalos el producto que emergió de la columna en cuanto a su valor Sn-2 y el contenido de glicéridos según el número de carbonos.

En la Tabla 2, se enumera el promedio de los resultados de cuatro experimentos, con PO14, dos regulares y dos aleatorizados. En las columnas 2 y 4 se incluye la composición de cada PO14.

25 Se puede deducir de estos datos lo siguiente:

1. La diferencia entre los PO14 regulares y aleatorizados, que fueron de otra reacción de aleatorización es esencialmente la misma que la que se presenta en el Ejemplo 2.
2. La gran diferencia en la composición del número de C entre ambas fuentes de PO14 no tiene mucho efecto en la composición del número de C correspondiente de las grasas resultantes, que son sorprendentemente iguales.
3. Hay un significativo aumento del valor Sn-en la grasa originada de PO14 aleatorizados.

Tabla 2. Promedios del análisis del producto graso de PO14 regulares y de PO14 aleatorios (2 x 2 experimentos)

	PO14 regulares	Producto graso estructurado	PO14 aleatorizados	Producto graso estructurado
C48	60,5	8,8	53,7	8,6
C50	24,3	34,3	32,5	34,7
C52	8,8	43,5	7,2	44,6
C54	2,4	11,6	3,0	10,4
Sn-2	0,297	0,555 ± 0,005	0,319	0,584 ± 0,002

35 **Ejemplo 4**

POVI35 aleatorizado enzimáticamente (AE(POVI35)) como material de alimentación

40 Se aleatorizaron enzimáticamente aproximadamente 9,0 kg de POVI35 agitando el aceite a 70 °C durante 48 horas en presencia de 3 %(peso) de la lipasa Lipozyme TL IM (*Thermomyces lanuginosa*, Novozymes). A continuación, se eliminó por filtración la enzima y se refinó físicamente el aceite. El refinado físico incluyó el blanqueado del aceite aleatorizado con 0,5 % (peso) de tierra de blanqueado a 90 °C y la desodorización tras la filtración a 215 °C durante 3 horas. Se sometió la muestra de aceite refinado a análisis. En la Tabla 3 se muestran los resultados.

45 Se interesterificaron POVI35 aleatorizadas con ácido oleico en un proceso continuo. Se llevó a cabo esta reacción a 60 °C y se catalizó con Lipasa D (de *Rhizopus delemar*). Después de la reacción de acidólisis, se eliminó el exceso

de ácidos grasos por destilación de camino corto. Se sometió a análisis una muestra. En la Tabla 3 se muestran los resultados.

Ejemplo 5

5

POVI35 como material de alimentación

Se interesterificaron POVI35 directamente con ácido oleico en un proceso continuo. Se llevó a cabo esta reacción a 60 °C y se catalizó con lipasa D (de *Rhizopus delemar*). Después de la reacción de acidólisis, se eliminó el exceso de ácidos grasos por destilación de camino corto. Se sometió una muestra a análisis. En la Tabla 2 se muestran los resultados.

10

Tabla 3. Análisis de muestras extraídas durante la producción de grasa base a partir de ER(POVI35) y POVI35

	POVI35	AE(POVI35) refinado	AE(POVI35) base grasa	POVI35 base grasa
sn-2 C16	19,3	34	56,5	37,2
Número de carbonos				
C46	2	1,9	0,7	0,1
C48	24,7	24,1	4,8	4,9
C50	41,9	41,8	24,4	21,3
C52	25,2	25,8	46,4	42,2
C54	5,9	6,2	22,9	30,6
C56	0,3	0,3	0,8	0,9
Composición de ácido graso				
C12:0	0,14	0,19	0,21	0,17
C15:0	0,1	0,1	0	0
C14:0	1,2	1,3	0,7	0,6
C16:0	58,3	57,2	31,6	29,4
C18:0	4,7	4,9	3,8	3,1
C18:1T	0,1	0	0,1	0,2
C18:1C	28,1	28,8	56,6	58,5
C18:2T	0,2	0,2	0,2	0,2
C18:2C	6,2	6,4	5,5	6,6
Total Trans	0,3	0,2	0,4	0,4
C20:0	0,4	0,4	0,3	0,3
C20:1C	0,1	0,1	0,2	0,2
C22:0	0,1	0,1	0,3	0,3
C24:0	0,1	0	0,1	0,1
SAFA	65,1	64,2	37,1	34
MUFA	28,4	29,1	57	59
PUFA	6,5	6,7	5,9	7

Ejemplo 6

Aleatorización de fracción de estearina de aceite de palma PO20 en un reactor de lecho compacto de enzima.

Se prepararon fracciones de estearina de aceite de palma PO20 que tenían un valor yodo VI de 20-mezclando PO14 y PO35 en una relación 2:1. Se bombeó la mezcla en modo flujo de pistón a través de un reactor de lecho compacto que contenía lipasa inmovilizada TL-IM (*Thermomyces lanuginosus*, Novozymes). La velocidad de la bomba fue aproximadamente 2 masas de lecho de aceite por hora a una temperatura de 70 °C. Se recogieron muestras a varios intervalos para determinar la composición de glicérido con análisis del número de carbonos y la cantidad relativa de ácido palmítico en la posición 2- del glicerol, Sn-2 C16:0.

25

En la Tabla 4 se muestran los análisis de PO20 regulares y aleatorizados, columnas 2 y 4. El Sn-2 C 16:0 aumenta de 0,267 a 0,316.

Ejemplo 7

30

Fabricación del lípido estructural con contenido de 1,3-dioleil-2-palmitoil glicérido (OPO) con fracción de estearina de aceite de palma regular y aleatorizada PO VI20

Se fabricó el lípido estructural que comprendía OPO por acidólisis específica de 1,3- enzimática entre ácido graso oleico y PO20 regulares y aleatorizadas. Como en el Ejemplo 4, se utilizó un reactor de lecho compacto continuo que contenía lipasa D inmovilizada (*Rhizopus delemar*, Amano) y la relación entre PO20 y ácido oleico fue 1:1,4 g/g al igual que con PO20 regulares y aleatorizadas.

35

ES 2 671 172 T3

Se recogieron muestras a varios intervalos para determinar la composición de glicérido con análisis del número de carbonos y la cantidad relativa de ácido palmítico en la posición 2- de glicerol, Sn-2 C16:0.

5 En la Tabla 4, se enumera el promedio de los resultados de dos experimentos, uno con PO20 regulares y otro aleatorizadas. Se exponen la composición de cada fuente de PO20 y el producto de grasa estructurada resultante.

Tabla 4. Análisis de PO20 no aleatorizados y PO20 aleatorizados y de los productos de grasa estructurados de los mismos.

	PO20 no aleatorizadas	producto de grasa estructurada	PO20 aleatorizadas	Producto de grasa estructurado
C48	50,0	7,7	43,6	7,1
C50	29,2	31,4	39,0	32,2
C52	14,0	43,1	12,4	45,9
C54	3,4	16,5	1,6	13,5
Sn-2 C16:0	0,267	0,489	0,316	0,551

10

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la producción de una composición que comprende 1,3-dioleoil-2-palmitoil glicérido (OPO), en donde el proceso comprende:
- 5 (i) proporcionar una o más fracciones de estearina de aceite de palma que comprenden tripalmitoil glicérido y que tienen un valor de yodo de entre 18 y 40;
- (ii) interesterificar enzimáticamente la una o más fracciones de estearina de aceite de palma para formar una estearina de aceite de palma interesterificada aleatoriamente.
- 10 (iii) someter la estearina de aceite de palma interesterificada aleatoriamente a transesterificación enzimática con ácido oleico o un éster no glicérido del mismo utilizando una enzima que tiene selectividad para las posiciones 1- y 3- de un glicérido; y
- (iv) separar el ácido palmítico o los ésteres no glicéridos palmíticos del producto obtenido en (iii) para formar una composición que comprende OPO glicérido.
- 15 2. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se blanquea(n) o desodoriza(n) una o más fracciones de estearina de aceite de palma antes de la etapa (ii).
3. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 que comprende además la etapa (v) de fraccionamiento en seco del producto obtenido en (iv) para formar una fracción que comprende una mayor cantidad de OPO.
- 20 4. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la una o más estearinas de aceite de palma se proporciona o proporcionan por fraccionamiento del aceite de palma o un derivado del mismo.
- 25 5. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el fraccionamiento del aceite de palma comprende fraccionamiento en seco.
6. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la estearina de aceite de palma tiene un valor de yodo de entre 18 y 35.
- 30 7. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la estearina de aceite de palma comprende una mezcla de al menos dos estearinas de aceite de palma que tienen diferentes valores de yodo.
- 35 8. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la estearina de aceite de palma comprende una mezcla de una primera estearina de aceite de palma que tiene un valor de yodo de entre 10 y 20 y una segunda estearina de aceite de palma que tiene un valor de yodo de entre 25 y 50.
- 40 9. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende además la etapa de mezclar la composición de (iv) o la fracción de (v) con al menos un aceite vegetal, preferentemente seleccionado entre aceite de girasol, aceite de girasol con alto contenido de oleico, aceite de almendra de palma, aceite de colza y aceite de soja y mezclas de los mismos.
- 45 10. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende además la etapa de mezclar la composición de (iv) o la fracción de (v) con una fuente de ácido docosahexaenoico (DHA) o de ácido eicosapentaenoico (EPA).
- 50 11. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que la composición o la fracción comprenden no más del 45 % en peso de ácido palmítico, sobre la base del contenido de ácido graso total, y en el que al menos el 53 % en peso de los restos de ácido palmítico están presentes en la posición 2- del glicérido, preferentemente al menos el 55 % en peso de los restos de ácido palmítico están presentes en la posición 2- del glicérido.
- 55 12. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que la composición o la fracción comprenden no más del 42 % en peso de ácido palmítico, sobre la base del contenido de ácido graso total, y en el que están presentes al menos un 56 % en peso de los restos de ácido palmítico en la posición 2- del glicérido.
- 60 13. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que al menos el 58 % en peso de los restos de ácido palmítico están presentes en la posición 2- del glicérido.
14. Un proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, en el que el contenido de tripalmitoilglicérido (PPP) de la composición o de la fracción es menos del 9 % en peso de la composición.