



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETA' INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101990900156146
Data Deposito	17/12/1990
Data Pubblicazione	17/06/1992

Priorità	455.551
Nazione Priorità	US
Data Deposito Priorità	

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	23	D		

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	11	B		

Titolo

OLII DI MARGARINA A BASSO CONTENUTO DI ACIDI TRANS E DI ACIDI GRASSI SATURI A CATENA INTERMEDIA, NONCHE' PROCEDIMENTO DI TRANSESTERIFICAZIONE ENZIMATICA PER LA LORO PREPARAZIONE.

DESCRIZIONE

48 587 197
 a corredo di una domanda di Brevetto d'Invenzione,
 avente per titolo:

"Olii di margarina a basso contenuto di acidi trans
 e di acidi grassi saturi a catena intermedia, nonchè
 procedimento di transesterificazione enzimatica per
 la loro preparazione"

a nome: KRAFT GENERAL FOODS, INC.

La presente invenzione si riferisce agli olii
 di margarina e più particolarmente concerne gli olii
 di margarina aventi solo un basso contenuto di
 acidi trans ma anche un basso contenuto di acidi
 grassi saturi a catena intermedia, insieme con carat-
 teristiche di fusione termica dello stesso tipo del-
 la margarina e/o una uniforme o liscia consistenza
 organolettica.

Gli oli di margarina sono predominantemente
 miscugli di trigliceridi che presentano una consi-
 stenza classica alla temperatura di refrigerazione
 e/o a temperatura ambiente, ma presentano la carat-
 teristica essenziale di fondersi prontamente e con
 sostanziale completezza nella bocca del consumatore.
 Una tale caratteristica di fusione richiede un indi-
 ce di grassi solidi che abbia un esteso gradiente

Eng. Baccano & Zanardi
Roma spaa

attraverso un ampio intervallo di temperature. In aggiunta, gli olii di margarina debbono avere una forma ed una dimensione dei cristalli che forniscano una consistenza organolettica uniforme o liscia senza granulosità oppure simili difetti di omogeneità che si risentono nella bocca. Gli olii della margarina si distinguono dai grassi di pasticceria plastici che tipicamente presentano un elevato contenuto di acido stearico ed un punto di fusione superiore alla temperatura del corpo, che è caratterizzato dalla presenza di un sostanziale contenuto di grasso solido alla temperatura corporea. L'elevato contenuto di grasso solido alla temperatura corporea è desiderabile nei grassi da pasticceria plastici per l'impiego in vari piatti caldi oppure in forma dispersa in prodotti come i pasticcini ed i prodotti infornati, in cui un elevato contenuto di grasso solido non è dannoso. Tuttavia, un residuo di grasso solido come quello presente nei convenzionali grassi plastici da pasticceria che non riesce a fondere alla temperatura del corpo impartisce ad un olio di margarina una sensazione inaccettabilmente cerosa nella bocca. Nel senso usato nella presente esposizione, il termine di "olio di margarina" e "grasso di margarina" sono usati in modo intercambiabile.

Eng. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

L'olio di noce di cocco e gli altri oli del tipo dell'acido laurico presentano un profilo di fusione relativamente basso come risultato della loro concentrazione relativamente elevata di acidi grassi saturi a catena intermedia e possono convenzionalmente essere utilizzati come un componente degli oli di margarina. Con il termine di "acido grasso saturo a catena intermedia" si intende un acido grasso saturo commestibile avente da 8 a 16 atomi di carbonio, comprendenti particolarmente gli acidi palmitico, miristico e laurico oppure i loro miscugli. Poichè i punti di fusione degli acidi grassi saturi presentano un incremento progressivo con il prolungarsi della catena carbonica, i grassi del tipo dell'olio di noce di cocco che contengono proporzioni relativamente grandi di frazioni di acidi grassi saturi da C_8 a C_{16} presentano punti di fusione inferiori ai grassi con un equivalente grado di insaturazione, i quali comprendono una elevata proporzione di gliceridi di acidi grassi C_{18} . Tuttavia, gli acidi grassi dietetici a catena intermedia, in particolare gli acidi laurico, miristico e palmitico, comunemente agli oli di acido laurico ed a molti prodotti alimentari naturali e trattati, sono stati riportati nella letteratura medica come un fattore nella pro-

Eng. Romano's Leonardo
Roma 1942

duzione del colesterolo di plasma in popolazioni a rischio per malattie cardiache alle coronarie. Tuttavia, l'acido stearico, sebbene sia un acido grasso saturo, è stato riportato come avente un effetto minimo oppure anche un effetto di riduzione sul livello del colesterolo ("Effect of Dietary Stearic Acid on Plasma Cholesterol and Lipoprotein Levels", Bonanome, et al., New England Journal of Medicine, Volume 318, 1244-1271 (1988)). In accordo con ciò, anche se gli olii a base di acido laurico presentano desiderabili proprietà degli olii di margarina, gli olii di margarina che presentano un basso contenuto di acidi grassi a catena intermedia sarebbero desiderabili.

Gli olii vegetali, come gli olii di semi di cotone, di arachidi, di sesamo, di mai e di girasole ed altri olii liquidi basati su acido oleico-linoleico, come anche l'olio di soia, possono essere parzialmente idrogenati per la produzione di olii di margarina aventi le richieste caratteristiche di fusione e di consistenza costituite da un ampio intervallo di temperature di fusione termica, una fusione sostanzialmente completa alla temperatura del corpo ed uniformi caratteristiche organolettiche. La desiderata consistenza è tipicamente ottenuta me

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

scolando due o più olii vegetali parzialmente idrogenati oppure mescolando un olio vegetale liquido (non idrogenato) con un olio vegetale parzialmente idrogenato. Tuttavia, la convenzionale idrogenazione parziale degli oli vegetali contenenti acidi insaturi, in dipendenza dalla selettività del catalizzatore, dal grado di idrogenazione e da altre variabili di trattamento, può produrre sostanziali quantità di acidi grassi insaturi aventi una configurazione trans piuttosto che una configurazione cis.

Gli olii di margarina che contengono minime quantità di tali frazioni di acidi trans, insieme con il richiesto profilo termico dell'indice di grassi solidi, una uniforme consistenza organolettica e basso contenuto di acidi grassi a catena intermedia sarebbero desiderabili.

I componenti principali degli olii di margarina sono i triacilgliceroli (trigliceridi) che sono triesteri di glicerolo e di vari acidi grassi saturi ed insaturi. Le proprietà fisiche dei grassi e degli olii, in larga misura, sono determinate dalle caratteristiche delle singole frazioni di acidi grassi e dalla loro distribuzione nella molecola del trigliceride. La interesterificazione è una tecnica che può essere sfruttata per modificare la distribuzio-

Ingeg. Romano's Sarnando
Roma 1948

ne e la composizione degli acidi grassi e pertanto le proprietà fisiche dei miscugli di trigliceridi. In tali procedimenti, la catalisi chimica per mezzo di sodio metallico oppure di un alcossido di sodio viene utilizzata per promuovere la migrazione dei gruppi acilici grassi fra ed all'interno delle molecole del glicerolo, per cui il prodotto consiste di miscugli di acil gliceroli in cui i gruppi acilici grassi sono distribuiti casualmente fra le molecole del gliceride. L'impiego di catalizzatori enzimatici, per esempio le lipasi sito-specifiche, permette la formazione di originali grassi funzionali che non possono essere ottenuti con procedimenti chimici convenzionali.

Sono note una ampia varietà di procedure di transesterificazione e di interesterificazione che utilizzano catalizzatori inorganici o enzimatici per ottenere una ridistribuzione delle frazioni di acidi grassi esterificati degli olii di trigliceridi. Tali procedure non sono state applicate alla produzione di olii di margarina aventi un minimo contenuto di acidi grassi saturi con intermedia lunghezza della catena carbonica, insieme con minimi componenti di acidi trans, il richiesto profilo termico dello indice dei grassi solidi ed una uniforme consistenza

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

organolettica.

I prodotti a base di olii di margarina che presentano il richiesto ampio intervallo di parametri di consistenza, insieme con minimo contenuto di acidi trans e di acidi grassi saturi a catena intermedia possono essere desiderabili ed uno scopo della presente invenzione è proprio quello di realizzare vari olii di margarina. Questi ed altri scopi dell'invenzione appariranno più evidenti dalla seguente descrizione dettagliata e dai disegni allegati.

Descrizione dei disegni

La Figura 1 rappresenta un diagramma di flusso del procedimento per una forma di realizzazione di un metodo di reazione continua in concordanza di corrente oppure discontinua a singolo stadio per produrre un olio di margarina in conformità con la presente invenzione avente un minimo contenuto di acidi grassi insaturi nella configurazione trans di acidi grassi saturi a catena intermedia;

la Figura 2 rappresenta un diagramma di flusso del procedimento per un metodo di reazione in controcorrente continua per produrre un olio di margarina avente un minimo contenuto di acidi grassi saturi in configurazione trans ed anche di acidi grassi a catena intermedia;

Ingeg. Romano's Amadeo
Roma 1954

la Figura 3 rappresenta un grafico di eluizione cromatografica in liquido ad alta pressione che rappresenta la composizione in trigliceridi dell'olio di soia iniziale usato nella preparazione di un olio di margarina in conformità con la presente invenzione; e

la Figura 4 rappresenta un grafico di eluizione cromatografica in liquido ad alta pressione che rappresenta la composizione dei trigliceridi di un olio di margarina in conformità con la presente invenzione, preparato dall'olio di soia della Figura 3.

Descrizione dell'invenzione

La presente invenzione concerne olii di margarina aventi non solo un basso contenuto di acidi grassi a catena intermedia ma anche un basso contenuto di acidi trans, insieme con un ampio profilo di fusione dell'indice ovvero del contenuto di grassi solidi del tipo della margarina ed una uniforme consistenza organolettica. La presente invenzione concerne anche i procedimenti per la produzione di tali olii di margarina.

Come indicato, gli olii di margarina sono forniti in conformità con la presente invenzione e presentano un basso contenuto di acidi trans. Con il termine di "acido trans" si intende un acido grasso in

Ing. Barriano & Zanardo
Roma s.p.a.

saturo avente una lunghezza della catena carbonica fra 16 e 24 atomi di carbonio ed avente almeno un legame carbonio-carbonio insaturo che si trova nella configurazione trans. Nei convenzionali prodotti di olii di margarina preparati da olio vegetale parzialmente idrogenato, il contenuto di acidi trans può superare il 25% in peso o più della composizione dell'olio di margarina, come risultato delle condizioni di idrogenazione parziale adatte a fornire un indice di grassi solidi del tipo dell'olio di margarina. A questo riguardo, gli olii di margarina in conformità con la presente invenzione comprendono meno del 6 e preferibilmente meno del 3% in peso di frazioni di acidi grassi insaturi trans esterificati, sulla base del peso totale dell'olio di margarina. Tali olii possono essere forniti in modo da avere meno del 2 ed anche meno dell'1% in peso di frazioni di acidi grassi insaturi trans, sulla base del peso totale dell'olio di margarina. Come usata nella presente invenzione, la percentuale in peso di acidi grassi insaturi trans è determinata in conformità con il saggio ufficiale Cd 14-61 (1984) del sistema AOCS. Come anche usata nella presente invenzione, la percentuale in peso di frazioni di acidi grassi saturi o insaturi in un olio di

Ingeg. Romano & Suardi
Roma s.p.a.

margarina oppure in una composizione di gliceridi di oli vegetali è calcolata sulla base del peso totale degli acidi grassi contenuti nell'olio di margarina. Come usato nella presente invenzione, quando viene fatto riferimento alla percentuale in peso di una o più frazioni di acidi grassi di un olio di margarina, la percentuale in peso è calcolata sulla base di tutte le frazioni di acidi grassi dell'olio di margarina che vengono idrolizzate in acido grasso libero. La percentuale in peso di una o più specie di frazioni di acidi grassi viene quindi calcolata come percentuale in peso di tali una o più specie sulla base del peso totale di acidi grassi liberi. La procedura ufficiale Ce 1-62 (81) del sistema AOCS può essere usata per determinare la percentuale in peso delle rispettive frazioni di acidi grassi di un olio di margarina.

Come anche indicato, il prodotto di olio di margarina presenta una minima quantità di frazioni di acidi grassi saturi a catena intermedia. A questo riguardo, il prodotto di olio di margarina comprende meno di circa 6% in peso e preferibilmente meno di circa 3% in peso di acidi grassi saturi a catena intermedia, sulla base del peso totale del prodotto. Specificamente, il contenuto totale di acido palmi-

Ing. Barzano & Barano
Roma s.p.a.

tico, acido miristico o acido laurico o loro miscugli, in forma libera o esterificata, è inferiore al 6% del peso totale del contenuto di acidi grassi del prodotto di olio di margarina e preferibilmente meno di una metà di questa quantità ovvero meno del 3% in peso.

Inoltre, in conformità con la presente invenzione, sono forniti olii di margarina che presentano un ampio profilo di trigliceridi di acidi grassi C₁₈ insaturi in forma esterificata, che producono una ampia varietà di componenti gliceridi dell'olio. A questo riguardo, l'olio di margarina presenta un contenuto di frazione di acido linoleico esterificato compreso fra circa 25 e circa 45% in peso e preferibilmente fra circa 30 e circa 40% in peso e fra circa 0 e circa 11% in peso di frazioni di acido linolenico esterificate e preferibilmente da circa 3 a circa 5% di frazioni di acido linolenico. L'acido linolenico può generalmente essere fornito come un componente dell'olio di soia oppure altri olii contenenti acido linolenico, usati come materiale di partenza. Inoltre, in conformità con la presente invenzione, l'olio di margarina presenta un contenuto di acido oleico compreso fra circa 5 e circa 25% in peso e preferibilmente fra circa 10 e circa 20% in

Ingeg. Giovanni Sarnardo
Roma spa

peso. Inoltre, l'olio di margarina comprende fra circa 84 e circa 95% in peso di trigliceridi e preferibilmente fra circa 88 e circa 92% in peso di trigliceridi. L'olio di margarina della presente invenzione ha un contenuto relativamente elevato di digliceridi, che si ritiene contribuiscano alle uniformi proprietà organolettiche ed alle caratteristiche di profilo dell'indice di fusione dei grassi solidi del prodotto. A questo riguardo, il contenuto di digliceridi dell'olio generalmente sarà compreso nell'intervallo fra circa 5 e circa 16% in peso e preferibilmente fra circa 8 e circa 12% in peso. Il contenuto di monogliceridi è generalmente inferiore a circa 1% in peso e preferibilmente inferiore a circa 0,5% in peso, in base al peso totale del prodotto di olio di margarina. La percentuale in peso di monogliceridi e di digliceridi è determinata sulla base del peso effettivo del componente monogliceride e/o digliceride, come una percentuale del peso totale di monogliceridi, digliceridi e trigliceridi della composizione dell'olio di margarina.

Un aspetto importante della presente invenzione consiste nel fatto che la distribuzione degli acidi grassi dell'olio di margarina secondo la presente invenzione non è casuale ed è distribuita di-

Ing. Barzani & Zanardo
Roma s.p.a.

versamente fra le posizioni 1- e 3- del componente di glicerina e la posizione 2- del componente di glicerina. A questo riguardo, l'acido stearico esterificato è predominantemente distribuito nelle posizioni 1-, 3-, mentre le frazioni di acidi grassi insaturi esterificati si trovano in concentrazione superiore nella posizione 2- centrale delle molecole dei gliceridi. Questa distribuzione selettiva non casuale impedisce che si formino elevate concentrazioni di tristearina nell'olio di margarina. Ciò colloca le frazioni di acido stearico all'esterno della molecola e concentra il contenuto di acidi grassi insaturi nella posizione 2- centrale schemata e maggiormente impedita sotto l'aspetto sterico. In aggiunta, i gruppi ossidrilici sono distribuiti in maniera non casuale a favore delle stesse posizioni 1- e 3- in cui sono concentrate le frazioni di acidi stearici ad alto punto di fusione, riducendo così la potenziale concentrazione del distearato. La percentuale in peso dei componenti di acidi grassi principali degli olii di margarina della presente invenzione, in ciascuna delle rispettive posizioni 1-, 3- e 2-, è la seguente:

Ingeg. Romano's & Leonardo
Roma spa

	<u>Posizioni 1-, 3- dei gliceridi, per cento in peso</u>	<u>Posizione 2- del gliceride, per cento in peso</u>
Acido palmitico	5-10	0-2,0
Acido stearico	50-70	0-5,0
Acido oleico	5-15	20-30
Acido linoleico	10-30	60-80
Acido linolenico	0-10	3-12

Come indicato, un aspetto importante della presente invenzione consiste nel fornire caratteristiche di ampio intervallo di fusione e di uniformi proprietà organolettiche. L'olio di margarina dovrebbe avere un indice di grassi solidi che diminuisce da un valore compreso nell'intervallo fra circa 7 e circa 31% alla temperatura di 10°C, una tipica temperatura di refrigerazione, fino ad un valore inferiore al 3% alla temperatura di 38,7°C, un valore leggermente superiore alla temperatura corporea. Gli oli di margarina in conformità con la presente invenzione sono caratterizzati da margarine con profilo degli indici di grassi solidi come segue:

<u>Temperatura</u>	<u>Percentuale dilatometrica degli indici di grassi solidi</u>
10°C	7-31
21,1°C	3-25
26,7°C	0,75-10
33,3°C	0,5 - 4
38,7°C	meno di 3

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

Gli indici di grassi solidi specificati alle temperature specificate sono misurati con metodologia dilatometrica in conformità con la procedura Cd 10-57 del sistema AOCS. La procedura dilatometrica misura le variazioni di volume dell'olio di margarina come funzione della temperatura, le quali variazioni sono una funzione della proporzione relativa dei grassi solidi e dei grassi liquidi. L'indice di grassi solidi è un indice dilatometrico su una scala percentuale che si estende da 0 (per l'assenza di grasso solido) fino a 100 (per un contenuto totale di grasso solido).

Diversi tipi di olio di margarina particolarmente desiderabili aventi rispettivamente una consistenza con corpo massiccio o solido (ovvero "stick") ed una consistenza con corpo morbido (ovvero "tub") a temperatura di refrigerazione possono essere forniti in conformità con la presente invenzione. Un olio di margarina particolarmente preferito è un olio di margarina con corpo solido avente un indice di grassi solidi caratterizzato dal fatto di avere un intervallo di dilatazione di fusione da circa 23 a circa 31 alla temperatura di 10°C (50°F) e preferibilmente da circa 26 a circa 27,6 alla temperatura di 10°C. Alla temperatura di 21,1°C (70°F), la composi

Eng. Romano's Toronto
Roma 1948

zione dell'olio di margarina con corpo solido presenta un intervallo di dilatazione di fusione da circa 15 a circa 25 e preferibilmente da circa 21 a circa 22,6. Alla temperatura di 26,7°C (80°F), la composizione dell'olio di margarina con corpo solido presenta un intervallo di dilatazione di fusione da circa 6 a circa 10 e preferibilmente da circa 8 a circa 9. Alla temperatura di 33,3°C (92°F), la composizione dell'olio di margarina con corpo solido presenta un intervallo di dilatazione di fusione da circa 0,5 a circa 4 e preferibilmente da circa 1,9 a circa 2,9 ed alla temperatura di 38,7°C (100°F), la composizione dell'olio di margarina presenta un intervallo di dilatazione di fusione da circa 0 a circa 3 e preferibilmente meno di 2.

Un prodotto di olio di margarina con corpo morbido ovvero "tub", cioè da tubetto, può anche essere fornito in conformità con la presente invenzione. Un olio di margarina con corpo morbido in conformità con la presente invenzione avrà un intervallo di dilatazione di fusione da circa 7 a circa 12 e preferibilmente da circa 9,5 a circa 10,5 alla temperatura di 10°C. Alla temperatura di 21,1°C (70°F), la composizione dell'olio di margarina con corpo morbido presenta un intervallo di dilatazione di fusione

Eng. Barzani & Zanardo
Roma s.p.a.

ne da circa 3 a circa 10 e preferibilmente da circa 5 a circa 8. Alla temperatura di 26,7°C (80°F), la composizione dell'olio di margarina con corpo morbido presenta un intervallo di dilatazione di fusione da circa 0,75 a circa 8 e tipicamente da circa 1 a circa 7, preferibilmente da circa 2 a circa 4. Alla temperatura di 33,3°C (92°F), la composizione dello olio di margarina con corpo morbido presenta un intervallo di dilatazione di fusione da circa 0,5 a circa 3 e preferibilmente da circa 0,7 a circa 1,2. Alla temperatura di 38,7°C (100°F), la composizione dell'olio di margarina presenta un intervallo di dilatazione di fusione da circa 0 a circa 1,5 e preferibilmente meno di circa 0,8.

Gli olii di margarina con basso contenuto di acidi trans e con basso contenuto di acidi saturi a catena intermedia secondo la presente invenzione possono essere forniti usando sistemi enzimatici immobilizzati ed una economica sorgente di olio, per esempio olio di soia, in una precisa sequenza di transesterificazione, separazione, completa idrogenazione degli acidi grassi liberati durante le operazioni di transesterificazione e di riciclo. Con il termine di "transesterificazione" si intende uno scambio di frazioni di acido grasso o radicale acilico con

Ingeg. Romano's Leonardo
Roma 4/1968

corrispondenza di un gruppo ossidrilico o di ossigeno di gliceride, che include la interesterificazione e la intraesterificazione.

In generale, in conformità con la presente invenzione, l'olio di margarina può essere fornito mediante transesterificazione enzimatica di un olio vegetale liquido commestibile comprendente almeno circa 73 e preferibilmente 80% in peso di frazioni di acidi grassi con 18 atomi di carbonio (acidi grassi saturi ed insaturi C_{18}) e con maggiore preferenza almeno circa l'85% in peso di frazioni di acidi grassi C_{18} , sulla base del peso totale dell'olio vegetale liquido commestibile, quale l'olio di soia. Tali frazioni di acidi grassi C_{18} comprendono acido stearico, acido oleico, acido linoleico ed acido linolenico. In aggiunta, l'olio vegetale liquido commestibile dovrebbe comprendere meno di 5 e preferibilmente meno di 1% in peso di acido palmitico esterificato nella posizione 2- del gliceride e meno di 2,5 e preferibilmente meno di 0,5% in peso di acido stearico esterificato nella posizione 2- del gliceride.

L'olio vegetale liquido può convenientemente inoltre comprendere almeno 15 e con maggiore preferenza almeno circa il 22% in peso di acido oleico

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

esterificato nell'olio vegetale liquido. In aggiunta, l'olio vegetale liquido preferibilmente comprenderà almeno circa 20% in peso di acido linoleico esterificato ed almeno circa lo 0,25 e preferibilmente almeno il 5% di acido linolenico esterificato. In aggiunta, l'olio liquido dovrebbe contenere meno del 2% in peso e preferibilmente meno dell'1% in peso di acido stearico esterificato nella posizione 2-. Come verrà discusso, il limitato contenuto di acido stearico nella posizione 2- limita la possibile formazione di tristearina ad alto punto di fusione. Si possono usare olii di girasole, di soia, di cartamo, di granturco, soy e canola (ravizzone a basso contenuto di acido erucico) o loro miscugli in qualità di materiale di partenza per la preparazione di olii di margarina in conformità con la presente invenzione. L'olio di soia è un materiale di partenza particolarmente preferito. Gli olii ad alto contenuto di acido oleico, come l'acido oleico per se stesso (per esempio avente un contenuto di acidi oleici superiore all'80%), l'olio di girasole, di cartamo, di oliva non forniscono per se stessi olii di margarina in conformità con la presente invenzione poichè la distribuzione dell'indice di grassi solidi non produce le caratteristiche finite

Ingeg. Giovanni Sarnardo
Roma 1944

dell'olio. Il basso contenuto di acido linoleico di tali oli produce un punto di fusione più netto che è indesiderabile. Questi oli debbono pertanto essere interesterificati in combinazione con oli linoleici, per esempio il classico olio di girasole, di cartamo, di mais, di semi di cotone o loro miscugli.

La reazione di transesterificazione viene eseguita mediante transesterificazione enzimatica diretta del materiale di partenza di olio vegetale liquido con una proporzione relativamente elevata di acido stearico, impiegando un enzima di lipasi extracellulare dotato di specificità per le posizioni 1- e 3-. Le lipasi microbiche extracellulari sono generalmente di tre tipi, in dipendenza dalla loro specificità. Alcune lipasi sono generalmente non specifiche, sia per quanto riguarda la posizione sulla molecola del glicerolo che è idrolizzata o esterificata sia per quanto riguarda la natura dell'acido grasso rilasciato o esterificato. In dipendenza dalle condizioni di reazione, le lipasi in questione catalizzano la idrolisi non selettiva, la alcoolisi e/o la esterificazione (inclusa la transesterificazione) dei trigliceridi di acidi grassi. Le lipasi prodotte da Candida Cylindraceae, nota an-

Eng. Barzani & Zanardo
Roma s.p.a.

che come C. rugosa (Benzonana, G. e S. Esposito, Biochim. Biophys. Acta. 231:15 (1971)), Corynebacterium acnes, (Hassing, G.S., Ibid. 242:381 (1971)) e Staphylococcus aureus, (Vadehra, D.V., Lipids 9:158 (1974)) sono esempi di tali lipasi non specifiche. Tali lipasi non vengono utilizzate nei presenti procedimenti, poichè non forniscono la distribuzione non casuale richiesta dagli oli di margarina della presente invenzione.

Le lipasi specifiche per le posizioni 1- e 3- utilizzate nella presente invenzione costituiscono un secondo tipo di lipasi che agiscono sulle posizioni esterne 1- e 3- della molecola del glicerolo o del trigliceride. Quando una lipasi specifica per le posizioni 1- e 3- viene usata per catalizzare la interesterificazione di un miscuglio di trigliceridi oppure di un miscuglio di trigliceride più acido grasso libero o monoestere, l'azione dell'enzima è sostanzialmente limitata alle posizioni 1- e 3- del glicerolo. Le lipasi di Rhizopus delemar e di Mucor miehei sono esempi di lipasi aventi specificità per le posizioni 1- e 3-.

Un enzima particolarmente preferito è una lipasi di Mucor miehei immobilizzata (NOVO Lipozyme 3A), come descritto nella domanda di brevetto euro-

Ingeg. Romano's Romano
Romano's

peo 0140542, che viene citata a titolo di riferimento. Un terzo gruppo di lipasi presenta una sostanza le selettività per certi acidi grassi insaturi a catena lunga aventi un doppio legame cis nella posizione 9- dell'acido grasso (dal gruppo del carbossilato) e non sono anche usati nei presenti procedimenti.

I procedimenti di preparazione per produrre gli olii di margarina con basso contenuto di acidi grassi trans, basso contenuto di acidi grassi saturi a catena intermedia, possono essere eseguiti in un modo intermittente o discontinuo oppure in un modo continuo in concordanza di corrente o in contro-corrente. I procedimenti discontinui possono essere eseguiti in una singola operazione di transesterificazione oppure in una molteplicità di operazioni. L'impiego di una molteplicità di operazioni permette l'uso di più bassi rapporti fra acido stearico ed olio vegetale liquido in ciascuna operazione, però richiede una molteplicità di operazioni di separazione. I procedimenti continui in concordanza di corrente oppure discontinui con una singola operazione richiedono rapporti relativamente elevati fra acido stearico ed olio vegetale liquido nel miscuglio iniziale di reazione, ma sono generalmente più economici dei procedimenti consistenti di una molteplicità

Ing. Barzani & Zanardo
Roma s.p.a.

di operazioni.

In conformità con tali metodi di fabbricazione, l'olio vegetale liquido ad alto contenuto di C_{18} viene combinato con un materiale operante come sorgente di acido stearico comprendente almeno circa lo 84% in peso di acido stearico, sulla base del peso totale degli acidi grassi nella sorgente di acido stearico. Il materiale che opera come sorgente di acido stearico è preferibilmente lo stesso acido stearico che consiste almeno per l'84% in peso di acido stearico e comprende meno del 6% in peso di acido palmitico. Tuttavia, si possono anche utilizzare gli esteri dell'acido stearico con alcool monovalenti a basso peso molecolare, per esempio lo stearato metilico e lo stearato etilico. Il materiale con funzione di sorgente di acido stearico può includere minori quantità (per esempio da 0 a 10% in peso) di esteri oppure acidi grassi insaturi C_{18} e/o di esteri oppure acidi grassi saturi o insaturi $C_{20}-C_{22}$. Per le reazioni discontinue o in concordanza di corrente, l'acido stearico componente viene combinato con l'olio vegetale in uno o più stadi di reazione per fornire un miscuglio di transesterificazione che può avere una composizione variabile in dipendenza dal desiderato prodotto finale, dal numero di stadi

Eng. Giovanni Sarnando
Roma 1954

di transesterificazione che debbono essere utilizzati e dal grado di equilibrio da raggiungere nel miscuglio di transesterificazione. In generale, per ambedue le reazioni, il rapporto in peso fra acido stearico e trigliceride nel miscuglio iniziale di transesterificazione dovrebbe essere di almeno circa 1:3 e preferibilmente almeno circa 1:1. Per miscugli di transesterificazione in una singola operazione, il rapporto in peso fra acido stearico e trigliceride nel miscuglio iniziale di transesterificazione dovrebbe essere di almeno circa 1:2 e preferibilmente nell'intervallo fra circa 1:1 e circa 3:2. Un rapporto in peso di 1,15 parti di acido stearico per una parte di olio di soia in un solvente come esano è particolarmente preferito in un procedimento con una singola operazione. L'acido stearico ed il trigliceride sono convenientemente disciolti in esano oppure altro conveniente solvente, in un rapporto in peso compreso nell'intervallo fra circa 0,5 e circa 2,0, fra solvente e combinazione di acido stearico più olio vegetale di trigliceridi, come lo olio di soia.

Il miscuglio di transesterificazione viene messo in contatto con l'enzima immobilizzato in condizioni di tempo e di temperatura idonee ad equili-

Ing. Barzani & Zanardo
Roma s.p.a.

brare sostanzialmente i gruppi di esteri nelle posizioni 1- e 3- del gliceride componente, con i componenti di acidi grassi diversi dai gliceridi del miscuglio di reazione. Il tempo di reazione può essere compreso fra circa 0,5 ore e circa 100 ore, in dipendenza dalla concentrazione e dalla attività della lipasi nonché dalla temperatura del miscuglio di reazione. La temperatura di reazione può convenientemente essere compresa nell'intervallo fra circa 35°C e circa 60°C. Con il termine di "equilibrare sostanzialmente" si intende che la reazione di transesterificazione è completa almeno per il 50% e preferibilmente completa almeno per il 90%. Più basse condizioni di transesterificazione di equilibrio (per esempio un equilibrio fra il 50 ed il 90%) possono essere utilizzate per aumentare la velocità di reazione e/o per ridurre la quantità di enzima usata, però ciò comporta un aumento della necessaria quantità di acido stearico ed aumenta le esigenze di trattamento nell'operazione di separazione.

Vi è generalmente un incremento nel contenuto di digliceridi del miscuglio di transesterificazione come risultato di un eccesso di acqua nel miscuglio di reazione. I componenti di acidi grassi liberi o di monoesteri di acidi grassi, i quali com

Ingeg. Giovanni S. Leonardo
Roma 4/1948

prendono un miscuglio di acidi grassi insaturi insieme con acido stearico, vengono quindi separati dai componenti gliceridi. Gli acidi grassi componenti vengono successivamente completamente idrogenati per fornire un materiale con funzione di sorgente di acido stearico per il mescolamento con l'olio vegetale liquido per la successiva utilizzazione a riciclo nella reazione di transesterificazione.

Nella Figura 1 è illustrato un diagramma di flusso che mostra una forma di realizzazione di un procedimento di fabbricazione discontinuo oppure continuo in concordanza di corrente per la preparazione di un olio di margarina con corpo solido in conformità con la presente invenzione. Nella illustrata forma di realizzazione, un olio vegetale liquido 102, il quale è un olio di soia sbiancato e deodorato, viene combinato con acido stearico 104 il quale è un acido stearico almeno al 94% in peso, e con esano 106, in un rapporto in peso di 1:1,15:4 per formare un miscuglio di transesterificazione. Il miscuglio di transesterificazione può convenientemente essere mescolato prima della introduzione nel reattore 10 per mezzo di un dosaggio con pompa proporzionale.

L'acqua 105 può essere introdotta nell'olio

Ing. Barzani & Ranardo
Roma s.p.a.

di soia 102 al livello desiderato per mantenere la attività dell'enzima ad un livello desiderato (per esempio in condizione satura oppure leggermente supersatura con acqua) e per permettere e controllare la formazione dei digliceridi nella reazione di transesterificazione. L'acqua 105 può convenientemente essere introdotta conducendo il miscuglio di transesterificazione di olio di soia, esano ed acido stearico attraverso una colonna oppure uno strato di resina anionica in cui la resina di scambio anionico è saturata di acqua ad una temperatura fra 40 e 55°C. L'olio di soia, l'acido stearico, l'esano e l'acqua vengono introdotti nel reattore di transesterificazione enzimatica 110 ad una temperatura compresa nell'intervallo fra 35 e 75°C e preferibilmente circa fra 40 e 50°C. Il reattore di transesterificazione 110 contiene una lipasi di transesterificazione specifica per le posizioni 1- e 3- immobilizzata, per esempio la lipasi specifica per le posizioni 1- e 3- derivante da Mucor miehei su un conveniente substrato (per esempio Novo 3A Lipase, come descritto nell'Esempio 1).

E' importante eseguire la reazione di transesterificazione sotto un gas inerte in un ambiente sostanzialmente privo di ossigeno allo scopo di pre

Ing. Giovanni S. Sarnardo
Roma 1974

venire la ossidazione o la ridisposizione dei componenti acido linoleico ed acido linolenico che sono più vulnerabili nei confronti di tale ossidazione in condizione non limitata. L'olio può essere degassato sotto vuoto prima della reazione e mantenuto sotto azoto in assenza di ossigeno, se desiderato.

Tali reazioni di transesterificazione sono convenzionalmente reazioni discontinue oppure reazioni continue con flusso in concordanza di corrente, le quali raggiungono o si approssimano all'equilibrio come funzione della concentrazione dei componenti nel miscuglio. La separazione dei componenti acidi grassi dal miscuglio di transesterificazione è tipicamente una operazione necessaria di tali procedure di transesterificazione.

A questo riguardo, come rappresentato nella Figura 1, il miscuglio di reazione di transesterificazione che è stato transesterificato nel reattore 110 viene condotto al separatore di cristallizzazione 112. Una porzione dell'esano può essere rimossa mediante evaporazione prima della introduzione nel separatore 112, se desiderato. Nel separatore, i componenti acidi grassi saturi vengono fatti precipitare dalla soluzione riducendo la temperatura e raccogliendo il precipitato. Gli acidi grassi satu-

Ing. Barrano & Barardo
Roma s.p.a.

ri componenti, principalmente acido stearico non esterificato ed una piccola quantità di acido palmico in larga misura derivato dall'olio di soia 102, vengono selettivamente fatti precipitare a temperature comprese nell'intervallo fra -20°C e circa 25°C .

Il miscuglio di reazione può essere inseminato con cristalli di acido stearico e di acido palmico per facilitare la precipitazione nel separatore 112. Gli acidi grassi saturi precipitati 120 possono essere separati dal restante miscuglio di reazione di gliceridi transesterificati in maniera appropriata, per esempio per filtrazione o per centrifugazione. I cristalli di acidi grassi separati possono essere lavati con un solvente freddo per i trigliceridi, per esempio esano, per eliminare eventuali componenti gliceridi liquidi imprigionati insieme con gli acidi grassi saturi 120. La corrente 122 dei gliceridi dal separatore 112 comprende il componente gliceride transesterificato, gli acidi grassi insaturi spostati dall'olio di soia 102 a seguito della transesterificazione, i quali non vengono fatti precipitare nel separatore di cristallizzazione 112, nonché i restanti acidi grassi saturi che non erano stati precedentemente fatti cristallizzare insieme con almeno una porzione del solvente esano. Il solvente può

Eng. Baccaro & Zanardi
Roma s.p.a.

essere rimosso mediante evaporazione e riportato al recipiente di immagazzinamento del solvente per essere regolarmente usato. La corrente 122 dei gliceridi viene condotta ad un apparecchio di distillazione sotto vuoto 124 per la rimozione dei restanti acidi grassi e dell'eventuale esano presente nel miscuglio. La distillazione può essere un procedimento di distillazione effettuato in un convenzionale apparecchio di distillazione con dispositivo di eliminazione degli odori a vapor d'acqua, ad una temperatura fra 204 e 274°C con un vuoto o depressione fra 1,0 e 25 mm di mercurio. La distillazione sotto vuoto verrà eseguita in conformità con la convenzionale pratica di separazione a mezzo di vapor d'acqua per ridurre il contenuto di acidi grassi a meno del 0,10% in peso e preferibilmente meno di 0,05% in peso, in modo da fornire una corrente di prodotto 126 comprendente olio di margarina, ed una corrente 128 comprendente il distillato di acidi grassi. La corrente 128 degli acidi grassi è costituita da acidi insaturi C₁₈ in misura predominante, derivati dall'originale olio di soia 102. L'acido stearico e l'acido palmitico possono essere presenti in questa corrente. Gli acidi palmitoleici ed altri acidi grassi insaturi a catena intermedia costituiscono meno

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

dello 0,2% in peso della corrente 128 degli acidi grassi insaturi. La corrente 128 degli acidi grassi insaturi viene introdotta nell'idrogenatore 130 (che può essere di progettazione convenzionale), in cui gli acidi grassi insaturi vengono completamente idrogenati per fornire una corrente di acido stearico 132. Le correnti di acido stearico 120 e 132 possono essere sottoposte a distillazione frazionata nell'apparecchio di distillazione 134 per separare gli acidi grassi a catena intermedia 138 aventi meno di 18 atomi di carbonio e per fornire le correnti di acidi stearici purificati 136 per la introduzione nel recipiente 104 con funzione di sorgente di acido stearico. Gli acidi grassi saturi con più basso peso molecolare possono essere facilmente separati per distillazione in condizioni sotto vuoto senza danneggiamento dell'acido stearico saturo. Può essere fornito un olio di margarina 126 che presenta un conveniente indice di grassi solidi a vasto spettro, un gusto uniforme, un contenuto di acidi trans inferiore al 6% in peso ed un contenuto di acidi grassi saturi a catena intermedia al disotto del 6% in peso.

Mentre le tecniche di cristallizzazione e di distillazione sono descritte nella forma di realiz-

Ingeg. Giovanni Sarnando
Roma 1941

zazione della Figura 1 per la separazione dei componenti, dei fluidi inerti supercritici o subcritici, come l'anidride carbonica supercritica, gli idrocarburi supercritici come il propano, oppure i fluorocarburi oppure liquidi pressurizzati subcritici in prossimità della temperatura critica possono essere usati per disciogliere, precipitare o altrimenti separare selettivamente gli acidi grassi, i trigliceridi e gli altri componenti di olii e grassi commestibili per fornire olii di margarina a basso contenuto di acidi trans, basso contenuto di acidi grassi a catena intermedia.

Mentre il sistema della Figura 1 è un sistema di reazione discontinuo oppure in concordanza di corrente, possono anche essere usati procedimenti di transesterificazione in controcorrente per fornire olii di margarina enzimaticamente transesterificati. I sistemi di reazione in controcorrente possono fornire una maggiore efficienza ed una efficace separazione dei componenti.

Grazie alla mutua solubilità dei componenti della reazione costituiti da trigliceridi ed acidi grassi oppure monoesteri di acidi grassi, i procedimenti in controcorrente che utilizzano fluidi supercritici in controcorrente che selettivamente

Ing. Baranò & Baranò
Roma s.p.a.

estraggono e trasportano l'acido grasso possono convenientemente essere utilizzati per fornire una efficiente transesterificazione dei componenti di acidi stearici riciclati. Le procedure di transesterificazione in controcorrente possono non soltanto fornire le efficienze di reazione della esecuzione in controcorrente, ma possono anche facilitare la separazione dei prodotti di reazione.

Nei fluidi supercritici, come l'anidride carbonica supercritica, la solubilità degli esteri di acidi grassi, come gli esteri metilici ed etilici di acidi grassi, è tipicamente una funzione inversa del peso molecolare del monoestere di acido grasso in varie condizioni. Similmente, la solubilità degli acidi grassi è inversamente proporzionale al peso molecolare dell'acido grasso, anche se gli acidi grassi sono tipicamente meno solubili in anidride carbonica supercritica che non i corrispondenti monoesteri alchilici inferiori di acidi grassi di corrispondente peso molecolare, a causa delle caratteristiche associative o di fissaggio dell'idrogeno degli acidi grassi.

Le rispettive solubilità degli acidi grassi, degli esteri di acidi grassi e dei trigliceridi nell'anidride carbonica sono anche una funzione della

Ing. Giovanni S. Tamando
Roma 1974

temperatura e della pressione parziale di CO_2 alle pressioni relativamente basse supercritiche, al di sopra della pressione critica per CO_2 di circa 72,8 atmosfere (alla temperatura critica di 31,1°C).

Una forma di realizzazione di un procedimento di transesterificazione continua che muove un acido grasso oppure un monoestere di acido grasso in qualità di componente in controcorrente nei confronti del flusso dei trigliceridi e che rimuove anche tali componenti di reazione di transesterificazione di acidi grassi dal gliceride transesterificato, è illustrata nella Figura 2.

L'olio vegetale ad alto contenuto di C_{18} che deve essere transesterificato, che, nella illustrata forma di realizzazione, è olio di soia 212, viene saturato con acqua ed introdotto nella colonna ad alta pressione 214 in un punto 224 fra l'uscita superiore 216 e l'entrata inferiore 222 del materiale con funzione di sorgente di acido stearico. L'olio di soia può essere condotto attraverso una colonna contenente una resina di scambio anionico saturata di acqua per rimuovere le impurezze diverse dai trigliceridi che potrebbero inquinare l'enzima e condizionare l'olio per la reazione. La velocità di introduzione dell'olio di soia 212 corrisponde alla

Ing. Bassano & Zanardo
Roma s.p.a.

velocità della reazione di transesterificazione per messa dalla attività dell'enzima immobilizzato nella colonna 214. A questo riguardo, la colonna viene riempita con un enzima costituito da lipasi immobilizzato, il quale è immobilizzato su supporti organici o inorganici, ad estesa area superficiale, come perline o anelli ceramici porosi, supporti organici come le resine fenoliche o di scambio ionico reticolate, le quali sono insolubili nel fluido supercritico oppure farina fossile (per esempio Celite). La area superficiale del riempimento della colonna è molto grande allo scopo di promuovere la reazione di interesterificazione (per esempio più di 750 metri quadrati di area superficiale per metro cubico) e per promuovere lo scioglimento di equilibrio dei componenti di basso peso molecolare nel fluido supercritico.

L'acido stearico o preferibilmente un monoestere 220 di acido stearico alchilico inferiore, per esempio l'estere metilico o etilico di acido stearico (per esempio lo stearato di etile), che si desidera venga transesterificato con il trigliceride 212, che può essere saturato con acqua, viene introdotto nella colonna 214 in un punto 222 fra il punto 224 di introduzione del trigliceride e l'uscita

Ing. Romano S. Leonardo
Romano S. Leonardo

inferiore 218, in una quantità che aumenta al massimo la desiderata reazione di transesterificazione. Poichè questa reazione di transesterificazione viene eseguita in controcorrente, si può applicare un più basso rapporto fra i componenti dei materiali operanti come sorgente di acido stearico e l'olio di soia. I monoesteri alchilici inferiori del materiale con funzione di sorgente di acido stearico sono preferiti poichè essi presentano una maggiore solubilità nel gas supercritico.

Durante il funzionamento, anidride carbonica supercritica (oppure altro fluido supercritico, quale un miscuglio di etano-propano oppure un gas fluorocarburico avente una temperatura critica per esempio nell'intervallo fra circa 30°C e circa 80°C) viene introdotta nel fondo della colonna 214 in condizioni di pressione e di temperatura alle quali gli acidi grassi con peso molecolare relativamente basso oppure gli esteri di acidi grassi, come lo stearato di etile e l'acido stearico vengono significativamente disciolti, ma in cui i trigliceridi ad elevato peso molecolare sono relativamente non sostanzialmente disciolti. Per esempio, pressioni dell'anidride carbonica nell'intervallo fra circa 1.100 libbre per pollice quadrato (psi) e circa 4.500 psi, pa

Ing. Barzani & Zanardo
Roma s.p.a.

ri a 77 e 315 Kg/cm^q (per esempio fra 2.000 e 3.000 psia, pari a 140 e 210 Kg/cm^q, per l'uso dello stearato di etile), ad una temperatura di reazione per esempio nell'intervallo fra circa 30°C e circa 40°C, sono particolarmente preferite per fornire una solubilità relativamente elevata dell'acido grasso e/o del monoestere dell'acido grasso, mentre nello stesso tempo forniscono una solubilità relativamente bassa del trigliceride nella corrente di anidride carbonica supercritica che si muove verso l'alto. Tali condizioni di pressione e di temperatura possono essere fornite in modo che la densità del gas supercritico sia inferiore a quella dei trigliceridi componenti, per cui il flusso in controcorrente viene prontamente realizzato. Il fluido supercritico può contenere una piccola quantità di vapor d'acqua per mantenere il catalizzatore e per facilitare la solubilità degli acidi grassi nella fase gassosa supercritica. La temperatura, naturalmente, non può superare la temperatura di funzionamento dell'enzima, il quale verrà danneggiato ad elevate temperature. A questo riguardo, a più basse pressioni supercritiche, la solubilità degli esteri grassi e dei trigliceridi è superiore alle temperature inferiori e si dovrebbe scegliere una temperatura (per esempio fra

Ing. Romano S. Leonardo
Roma 1968

35 e 55°C) che aumenti al massimo la produzione per il trasporto in controcorrente del monoestere grasso e la velocità della reazione di transesterificazione che è necessaria per realizzare la transesterificazione del trigliceride e dell'acido grasso o del monoestere dell'acido grasso. I monoesteri di acido grasso, come lo stearato di metile e di etile ed i monoesteri del prodotto di reazione transesterificato sono sostanzialmente più solubili nel fluido supercritico di quanto non siano i corrispondenti acidi e perciò sono reagenti preferibili. Il gas supercritico serve anche come diluente della fase dei trigliceridi per aumentare la velocità di reazione.

La fase gassosa di anidride carbonica supercritica è meno densa della corrente di olio di soia liquido che si muove verso il basso alle pressioni applicate nel sistema della Figura 2 (per esempio fra 1.500 e 3.500 libbre per pollice quadrato assolute (psia), pari a 105 e 245 Kg/cm²) e la differenza di densità fornisce il flusso in controcorrente nel sistema. La pressione, la temperatura, le distanze sulla colonna e le portate dei flussi dell'acido grasso o del monoestere di acido grasso e dell'anidride carbonica vengono scelte in modo tale che, nella zo

Ing. Barriano & Zanardo
Roma s.p.a.

na 228 fra il punto di introduzione dell'anidride carbonica ed il punto 222 di introduzione dell'acido stearico o del monoestere, l'acido grasso o il monoestere di acido grasso venga progressivamente disciolto dal trigliceride nella corrente di CO_2 su percritica che si muove verso l'alto. La zona 224 è principalmente una zona di separazione o di estrazione in cui i componenti di acido grasso e/o di monoestere di acido grasso vengono rimossi dal prodotto costituito da olio transesterificato. I componenti costituiti da acido grasso o da monoestere di acido grasso (inclusi i componenti transesterificati) possono essere rimossi in modo sostanzialmente completo dalla corrente 226 dei trigliceridi prima che essa venga scaricata dalla colonna attraverso l'uscita 218. A questo riguardo, il rapporto in peso fra la portata del flusso dell'anidride carbonica e la portata del flusso dell'acido stearico componente 220 introdotto nella colonna 214 può convenientemente essere scelto in modo da rientrare nell'intervallo fra circa 5:1 e circa 50:1, in condizioni tali da aumentare al massimo la solubilità dell'acido grasso o preferibilmente del monoestere di acido grasso in qualità di componente, pur riducendo al minimo la solubilità della fase del componente triglicel

Ingeg. Giovanni S. Tomando
Roma 1954

ride. Nella zona 224, durante il tempo di transito dell'olio di soia (per esempio 0,25-6 ore), il monoestere di acido grasso 220 subisce una transesterificazione con il componente trigliceride. Poichè il flusso del trigliceride e dell'acido stearico o del relativo monoestere viene effettivamente svolto in concordanza di corrente in misura decrescente in questa zona di separazione, la reazione di transesterificazione enzimatica tenderà ad approssimarsi alla condizione di equilibrio della miscela di monoestere di acido grasso e trigliceride nel punto 222 di introduzione del monoestere. In accordo con ciò, la composizione dell'acido grasso o del monoestere di acido grasso che entra nella zona di transesterificazione in controcorrente 226 dalla zona 224 di separazione del monoestere sarà diversa dalla composizione dell'acido grasso o del relativo monoestere 220 introdotta nella colonna 214 almeno in parte a causa della transesterificazione che si verifica nella zona di separazione 224. Il prodotto olio di margarina a base di trigliceridi transesterificati, che può avere sostanzialmente tutto l'acido grasso ed il monoestere di acido grasso come suoi componenti rimossi da esso, viene estratto dall'uscita 218.

Il rapporto in peso fra componenti triglice-

Ing. Barzani & Zanardo
Roma s.p.a.

ridi e componente acido stearico o relativo monoestere per ottenere un desiderato grado di transesterificazione del trigliceride è sostanzialmente maggiore nel sistema della Figura 2 di quanto non sia il rapporto fra trigliceride e monoestere grasso utilizzato per ottenere un equivalente grado di transesterificazione in una reazione discontinua ad una o due operazioni. A questo riguardo, l'acido stearico oppure il monoestere di acido stearico viene introdotto nel fondo della colonna in quantità confrontata con la quantità di introduzione dell'olio di soia che può per esempio essere circa una metà della proporzione usata in una reazione discontinua (per esempio un rapporto in peso fra 1:3 e 1:1 fra il componente acido stearico e l'olio di soia).

Il componente di acido grasso o di monoestere viene disciolto nella corrente di gas CO₂ che si muove verso l'alto e viene trasportato nella zona 226 di transesterificazione, dove tende al raggiungimento dell'equilibrio attraverso uno scambio con la composizione degli acidi grassi o dei relativi monoesteri nel flusso di olio in controcorrente, mentre questa composizione viene anche modificata, attraverso l'azione dell'enzima immobilizzato nella colonna. In accordo con ciò, il componente acido

Ing. Romano's Leonardo
Roma opera

grasso o monoestere disciolto nel gas supercritico viene effettivamente transesterificato in controcorrente con la corrente liquida del trigliceride a mano a mano che viene condotto dal suo punto di introduzione 224 al punto 220 di introduzione del monoestere di acido grasso.

Il miscuglio della fase del trigliceride subisce in modo continuo una reazione di transesterificazione a mano a mano che si muove verso il basso nella zona 226 contenente l'enzima lipasi in controcorrente con il flusso del gas supercritico, in modo tale che il miscuglio assume una crescente concentrazione dei desiderati trigliceridi componenti a mano a mano che si sposta verso il basso lungo la colonna. Si incontra anche una concentrazione crescente di acido grasso transesterificato o di monoestere avente i componenti di acidi grassi o di monoesteri derivati dai trigliceridi nella corrente di gas supercritico che si muove verso l'alto, nella direzione verso il punto di introduzione del trigliceride. Il vapor d'acqua può essere incluso nel flusso di anidride carbonica, nel flusso dell'estere di acido grasso e/o nel flusso del trigliceride per rendere possibile la reazione di transesterificazione, che può superare la solubilità dell'acqua

Ing. Barrano & Barardo
Roma s.p.a.

nel componente trigliceride e per produrre un desiderato livello di digliceridi, se desiderato. I componenti di acidi grassi prodotti dalle reazioni di idrolisi nella colonna 214 possono anche essere rimossi per mezzo del flusso di anidride carbonica supercritica.

Il monoestere grasso transesterificato disciolto nella corrente gassosa di CO_2 supercritica viene trasportato dalla colonna attraverso l'uscita 216, attraverso la valvola di abbassamento di pressione 230 nel serbatoio di separazione 232, dove il monoestere di acido grasso disciolto viene estratto dalla soluzione supercritica come risultato della riduzione di pressione. Il serbatoio 232 può alternativamente essere riscaldato per ridurre ulteriormente la solubilità del monoestere di acido grasso. La riduzione di solubilità può anche essere effettuata per mezzo di una combinazione di una limitata riduzione di pressione (per esempio in misura fra 500 e 1.000 psi, pari a 35 e 70 Kg/cm²) e con un incremento di temperatura (per esempio fino a 70-100°C) in modo tale che si possa ridurre il lavoro necessario per ricomprimere la CO_2 per l'impiego nel riciclo. Alternativamente e preferibilmente, il sistema di riduzione della pressione convenientemente sarà un

Ingeg. Romano S. Damato
Roma spa

sistema a recupero di energia, per esempio un motore a pistoni oppure a turbina in cui il lavoro di riduzione della pressione viene recuperato ed i componenti disciolti vengono raccolti nel sistema di recupero, in modo tale che l'energia di riduzione della pressione possa essere almeno parzialmente recuperata per la ricompressione dell'anidride carbonica a seguito dell'operazione di riciclo.

L'anidride carbonica che è separata dall'acido grasso o dal monoestere viene condotta al compressore/condizionatore termico 234 dove viene ricompresa e reintrodotta alla prestabilita temperatura di esecuzione del procedimento, come precedentemente discusso. Una pompa di calore 236 può essere usata per trasferire calore fra il compressore 234 ed il separatore 232 e/o la valvola di riduzione di pressione 230. Se viene usato un sistema di recupero di energia, il motore a pistoni oppure a turbina per l'abbassamento della pressione convenientemente sarà collegato sullo stesso albero del compressore oppure su un albero direttamente connesso ad esso. La portata del flusso dell'anidride carbonica supercritica (oppure altro solvente gassoso supercritico) attraverso la colonna 214 viene correlata alla portata del flusso dell'estere di acido

Ing. Barrani & Barardo
Roma s.p.a.

grasso 220, in modo tale da essere idonea a sciogliere sostanzialmente tutto il monoestere di acido grasso nelle condizioni di esecuzione, però scioglie una minima quantità dell'olio di soia iniziale e degli altri trigliceridi componenti. La solubilità dei componenti costituiti da acidi grassi o da monoesteri grassi convenientemente sarà superiore allo 1% in peso e preferibilmente superiore al 2% in peso, mentre la solubilità dei trigliceridi sarà inferiore allo 0,5% in peso e preferibilmente inferiore allo 0,25% in peso nella fase gassosa di anidride carbonica.

Se desiderato, l'estere grasso transesterificato raccolto nel serbatoio di separazione 232 viene condotto ad un reattore di idrogenazione 240 per idrogenare completamente i componenti di acidi grassi insaturi in modo da fornire un monoestere grasso di acido stearico in misura predominante per la reintroduzione nella colonna 214 nel punto 222, come rappresentato nella Figura 2. I componenti costituiti dagli acidi grassi idrogenati possono essere distillati in modo da estrarre gli acidi grassi $C_{12}-C_{16}$ e possono essere esterificati con un alcool monovalente alchilico inferiore, per esempio etanolo, prima oppure dopo tale distillazione. I componenti

Ingeg. Romano S. Romano
Roma 1954

costituiti da acidi grassi a catena intermedia possono essere selettivamente frazionati dal miscuglio di riciclo dopo la idrogenazione. Mentre il sistema della Figura 2 utilizza gas supercritico, per esempio un procedimento in controcorrente può anche utilizzare un gas liquefatto subcritico, come propano, miscele propano/etano e gas fluorocarburici liquefatti (sicuri ed inerti) aventi un punto critico per esempio fra 30°C e 90°C. Tali sistemi, a temperature prossime (per esempio entro 20°C) alla temperatura di controllo presentano una solubilità selettiva degli acidi grassi e dei monoesteri nei sistemi a due fasi e generalmente possono essere usati nel modo descritto in maniera simile a quella della Figura 2, a pressioni elevate sufficienti per mantenere i solventi subcritici allo stato liquido. Il sistema in controcorrente della Figura 2 può anche essere usato per una ampia varietà di reazioni di transesterificazione in aggiunta a quelle che producono gli oli di margarina della presente invenzione.

Avendo descritto nelle generalità vari aspetti della presente invenzione, l'invenzione verrà ora più specificamente descritta dai seguenti esempi specifici.

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

Esempio 1

Olio di soia (SBO) era convertito in un prodotto di olio di margarina a "stick" o con corpo so lido che presenta un profilo di indice di grassi so lidi/temperatura di fusione simile a quello di un convenzionale prodotto di olio di margarina con cor po solido ed una uniforme caratteristica organolettica. Questa operazione viene effettuata mediante interesterificazione di olio di soia con acido stearico, in un procedimento in due operazioni, usan do la Novo 3A Lipasi, una lipasi immobilizzata da Mucor miehei, che è specifica per le posizioni 1- e 3-, fornita dalla NOVO Laboratories, Inc., come quel la descritta nel brevetto europeo 0140542.

La distribuzione dei cinque acidi grassi mag giori dell'olio di soia di partenza era la seguente:

Tabella 1

	Percento in peso		
	<u>Acidi grassi in posizione</u>		
	<u>1, 2+3</u>	<u>2</u>	<u>1 + 3</u>
Palmitico (P)	10,4	0,73	15,24
Stearico (S)	4,2	0,30	6,15
Oleico (O)	22,01	23,03	21,50
Linoleico (L)	52,11	69,49	43,42
Linolenico (Ln)	6,0	6,45	5,78

Ing. Bonanno & Amadio
Roma spa

In una prima operazione, 73 grammi di un acido stearico prodotto commerciale che comprendeva il 94,0% di acido stearico ed il 4,2% in peso di acido palmitico (Aldrich) erano mescolati con 157,2 grammi del l'olio di soia liquido, calcolato in modo da fornire una concentrazione finale dell'acido stearico del 28,9% in peso, equivalente al 43,4% in peso di acido stearico nelle posizioni 1 + 3.

La reazione era eseguita in un sistema solvente a base di esano ed utilizzava 0,625 grammi di Novo lipasi (contenente dal 3,0 all'11,0% in peso di acqua) per ogni grammo di olio. Il miscuglio di reazione era incubato alla temperatura di 40°C in un recipiente di reazione munito di un sistema di agitazione alla velocità di 250 rotazioni per minuto (rpm) per 48 ore per assicurare un pieno equilibrio. Per arrestare la reazione, la lipasi era rimossa per filtrazione ed il solvente costituito da esano era separato per distillazione. Gli acidi grassi liberi erano rimossi per distillazione a meno di 1,0 mm di Hg ad una temperatura di 500°F. Una seconda reazione era successivamente eseguita nella stessa maniera impiegando l'olio distillato transesterificato proveniente dalla reazione della prima operazione, usando la stessa stechiometria, calcolata in modo da forma

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

nire un prodotto di reazione della seconda operazione avente una concentrazione finale teorica dell'acido stearico di circa 45% in peso.

La seguente tabella espone la distribuzione degli acidi grassi (FAD) in percentuale in peso dei rispettivi prodotti della prima e della seconda operazione e l'indice dei grassi solidi (SFI) del prodotto della seconda operazione dopo il frazionamento in esano, a confronto con un convenzionale olio di margarina con corpo solido:

Tabella 2

<u>FAD</u> <u>%</u>	<u>Prodotto della</u> <u>prima operazione</u>	<u>Prodotto della</u> <u>seconda operazione</u>
Acido palmitico (P)	7,6	5,7
Acido stearico (S)	27,1	43,1
Acido oleico (O)	16,7	12,7
Acido linoleico (L)	41,4	33,1
Acido linolenico (Ln)	5,7	4,2
<u>SFI</u> <u>°C</u>	<u>Prodotto della</u> <u>seconda operazione</u>	<u>Olio di margari</u> <u>na con corpo so</u> <u>lido convenzio-</u> <u>nale</u>
10,0	29,0	28,3
21,1	21,2	15,3
26,7	5,0	8,5
33,3	1,4	2,3
37,8	0,5	0,0

Ing. Giovanni Sarnardo
Roma 1944

Esempio 2

Ulteriori reazioni di interesterificazione enzimatica fra olio di soia ed acido stearico erano eseguite nel modo descritto nell'Esempio 1. I campioni erano estratti periodicamente ed analizzati mediante cromatografia in liquido ad alta pressione HPLC. Una analisi HPLC rapida per i trigliceridi era quindi eseguita. Le condizioni della HPLC sono riepilogate nel seguito:

Colonna: C-18 (Alltech) Adsorbosphere 4.6 x 250 mm,

5 micron

Fase mobile: 70:30 acetone-acetonitrile

Portata del flusso: 2 ml/minuto

Temperatura: 40°C

Rivelatore: Indice di rifrazione (Waters 401).

Un cromatogramma di un campione di olio di soia è illustrato nella Figura 3. I rispettivi picchi dei componenti sono identificati dai loro rispettivi tempi di ritenzione, in minuti. Le corrispondenti percentuali in peso dei componenti come rappresentate nella Figura 3 sono le seguenti:

(segue Tabella 3)

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

Tabella 3

<u>Composto di picco</u>	<u>Tempo di ritensione</u>	<u>Percento in peso</u>
LLLn	4,83	9,8
LLL	5,51	25,2
OLL	6,53	14,3
PLL	6,73	16,4
OOL	7,91	7,5
PLO	8,14	14,0
POO	9,93	10,3
SLS	12,20	2,6

I trigliceridi nell'olio di soia erano identificati, insieme con i TAG prodotti da una reazione di interesterificazione di olio di soia con acido stearico, attraverso l'uso di olii standard con nota composizione di TAG. Standard misti erano anche prodotti per mezzo della interesterificazione di TAG standard, per esempio LLL, con acidi stearici e palmitici. Quando la maggior parte dei TAG significativi erano identificati e si prendeva nota dei loro tempi di ritensione sulla colonna di HPLC, i dati sulla reazione enzimatica erano raccolti. La Figura 4 rappresenta un cromatogramma di HPLC di olio di soia che è stato transesterificato con acido stearico. Come nella Figura 3, i rispettivi picchi dei

Eng. Giovanni Sarnardo
Roma 1974

componenti sono identificati dai loro rispettivi tempi di ritenzione. Le corrispondenti percentuali in peso dei componenti, come rappresentato nella Figura 4, sono le seguenti:

Tabella 4

<u>Composto di picco</u>	<u>Tempo di ritenzione</u>	<u>Percento in peso</u>
Incognito	3,47	5,5
LLLn	4,84	2,3
LLL	5,59	6,8
OLL	6,63	3,3
PLL	6,89	6,6
SLL	8,05	21,4
SLO	9,78	11,5
SLP	10,22	9,5
Incognito	11,33	0,23
SLS	12,19	26,4
SOS	15,32	7,8
Incognito	18,84	0,48

Seguendo quantitativamente la scomparsa di certi TAG, per esempio LLL, dall'olio di soia iniziale, oppure la produzione di certi TAG, come SLL o SLS, si ottenevano e si utilizzavano dati classici cinetici per progettare una reazione in una singola operazione con l'uso di un maggiore livello di enzima

Ing. Barrano & Anardo
Roma s.p.a.

di transesterificazione e con una riduzione del tempo di reazione da 96 a 6 ore, come descritto nel seguente esempio.

Esempio 3

Una reazione costituita da una singola operazione con l'uso di maggiori livelli di enzima era eseguita con un tempo di reazione ridotto a 6 ore. Il trattamento di separazione a valle dell'olio interesterificato era agevolato dalla cristallizzazione frazionata degli acidi grassi liberi dal miscuglio di reazione. Anche ciò aumentava la resa del prodotto.

Per fornire la desiderata composizione, 180 grammi di acido stearico reagente erano aggiunti a 157,2 grammi di olio di soia.

La reazione era impostata in un sistema solvente basato su esano che comprendeva 2,5 ml di esano per grammo di reagente. Per questo esempio, si usavano 0,375 grammi del prodotto Novo 3A Lipase (una lipasi specifica per le posizioni 1- e 3- immobilizzata e derivata da Mucor miehei) per ogni grammo di olio.

La reazione era incubata per 6 ore alla temperatura di 40°C in un recipiente di reazione mantenuto sotto agitazione a 250 rpm.

Ing. Giovanni Amadio
Roma spa

Un notevole eccesso di acido stearico era utilizzato in questa reazione discontinua per ottenere il desiderato grado di sostituzione dell'acido stearico nel prodotto finale costituito dal trigliceride. Allo scopo di migliorare la economia del procedimento e prevenire la formazione di indesiderabili trisaturi durante la successiva procedura di distillazione o di deodorazione, l'eccesso di acido stearico dovrebbe essere rimosso e recuperato dal miscuglio di reazione, prima del trattamento ad alta temperatura. Ciò veniva effettuato mediante cristallizzazione selettiva dell'acido stearico dal miscuglio di reazione. Per effettuare ciò, il miscuglio era filtrato per rimuovere l'enzima, il quale veniva quindi lavato con esano per rimuovere un qualsiasi grasso assorbito. I prodotti di lavaggio ed il filtrato erano combinati e concentrati fino a circa 70% del volume di reazione originario. La soluzione concentrata era lasciata a riposo per 8 ore alla temperatura di 20°C, quindi alla temperatura di 4°C per 16 ore, cosa che produceva un precipitato cristallino di acido grasso saturo. La grande massa cristallina veniva suddivisa, portata in impasto liquido con esano freddo e quindi filtrata sotto vuoto. I cristalli erano lavati per un totale di quattro volte con

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

un uguale volume di esano freddo ogni volta, per rimuovere la parte grassa. I lavaggi combinati erano distillati per rimuovere l'esano ed il grasso veniva quindi sottoposto a deodorazione. I cristalli erano quindi essiccati sotto vuoto ed analizzati. Le analisi di FAD e di gliceridi dei cristalli sono rappresentate nelle Tabelle 5 e 6.

Tabella 5

Analisi FAD dei cristalli di acidi
grassi recuperati

	<u>Acido grasso</u>	<u>%</u>
	C12	< 0,1
	12:0	< 0,1
	12:1	< 0,1
	13:0	< 0,1
	13:1	< 0,1
	14:0	< 0,1
	14:1	< 0,1
	15:0	< 0,1
	15:1	< 0,1
P	16:0	3,7
	16:1	< 0,1
	17:0	0,9
	17:1	< 0,1
S	18:0	92,2
O	18:1	0,8
	18:1 trans	< 0,1
L	18:2	1,4
	20:0	0,2

Eng. Romano S. Romano
Roma spa

Ln+	18:3+20:1	0,2
	20:2	< 0,1
	20:3	< 0,1
	22:0	0,2
	22:1+20:4	< 0,1
	24:0	< 0,1
	24:1	< 0,1
	Incognito	0,1

Tabella 6

Analisi dei cristalli di acidi

grassi recuperati

Acido grasso	Monogli ceridi	Diglice ridi	Numero di atomi di carbonio (totali) dei trigliceridi					
			48	50	52	54	56	58
94,3	0,1	2,9	--	--	1,0	1,7	--	--

Il recupero complessivo dell'acido stearico nell'operazione di cristallizzazione, a cui è dovuto lo scambio, era l'88,7% del valore teorico.

Il prodotto di reazione era trattato in maniera simile a quella del procedimento a due operazioni dell'Esempio 1. La distribuzione degli acidi grassi e gli indici dei grassi solidi, rispettivamente, del prodotto di reazione in confronto con un convenzionale olio di margarina a "stick" erano come segue:

(segue Tabella 7)

Ing. Barzani & Zanardo
 Roma s.p.a.

Tabella 7

Distribuzione degli acidi grassi

<u>FAD</u> <u>%</u>	<u>Prodotto della</u> <u>prima operazione</u>	<u>Olio di margarina</u> <u>a stick convenzionale</u>
P 16:0	5,9	11,6
S 18:0	40,1	7,4
O 18:1	14,7	34,1
L 18:2	34,1	7,6
Ln 18:3	4,1	0,2
Totale trans	1,9	33,2

Tabella 8

Indice dei grassi solidi

<u>SFI</u> <u>°C</u>	<u>Prodotto della</u> <u>prima operazione</u>	<u>Olio di margarina a</u> <u>stick convenzionale</u>
10,0	28,7	28,3
21,1	21,8	15,3
26,7	8,5	8,5
33,3	2,4	2,3
37,8	1,9	0,0

Per analizzare la possibilità di riutilizzare l'acido stearico recuperato nelle successive reazioni, veniva effettuata una prova in cui l'acido stearico recuperato era usato per una reazione di transesterificazione costituita da un singolo stadio, nel modo precedentemente descritto. Le analisi di

Ingeg. Romano's Leonardo
Roma 1974

questa particolare carica di cristalli di acido stearico indicavano che il materiale comprendeva l'86,5% in peso di acidi grassi liberi, dei quali l'89,9% in peso era acido stearico ed approssimativamente il 10,1% in peso era di monogliceridi, digliceridi e trigliceridi. La quantità di acido stearico aggiunta al miscuglio di reazione veniva regolata in modo da spiegare la quantità di acido stearico presente nell'acido riciclato. Le analisi di SFI, FAD e gliceridi sul prodotto transesterificato indicano che esso è essenzialmente identico a quello delle cariche di controllo. Questi risultati possono essere osservati nelle Tabelle da 9 a 11.

Tabella 9

Analisi SFI di olio di soia transesterificato prodotto impiegando acido stearico recuperato

<u>Percento in peso di solidi</u>	<u>Temperatura</u>
29,9	10,0°C
29,7	10,0°C
21,2	21,1°C
21,0	21,1°C
6,3	26,7°C
6,4	26,7°C
2,5	33,3°C
2,4	33,3°C
*2,2	37,8°C
2,2	37,8°C

Ing. Barrano & Romano
Roma s.p.a.

* I valori sono leggermente elevati a causa di SSS
formato durante la deodorazione

Tabella 10

Analisi FAD di olio di soia transesterificato pro-
dotto usando acido stearico recuperato

<u>Acido grasso</u>	<u>%</u>
C12	< 0,1
12:0	< 0,1
12:1	< 0,1
13:0	< 0,1
13:1	< 0,1
14:0	0,1
14:1	< 0,1
15:0	< 0,1
15:1	< 0,1
P 16:0	5,0
16:1	0,1
17:0	0,2
17:1	< 0,1
S 18:0	41,9
O 18:1	13,9
18:1 trans	< 0,1
L 18:2	33,2
20:0 e	
Ln+ 18:3+ 20:1	4,5
20:2	< 0,1
20:3	< 0,1
22:0	0,3
22:1	< 0,1
24:0	0,1
24.1	0,3
Incognito	0,3

Inq. Romano & Romano
Roma s.p.a.

Tabella 11

Analisi dei gliceridi dell'olio di soia transesterifi-
ficato prodotto usando acido stearico recuperato

<u>Acido</u> <u>grasso</u>	<u>Monogli</u> <u>ceridi</u>	<u>Diglice</u> <u>ridi</u>	Numero di carbonio dei					
			trigliceridi					
			48	50	52	54	56	58
0,1	0,1	8,8	0,1	1,4	11,7	76,9	0,1	0,4

Esempio 4

Allo scopo di produrre margarina, un pallone di reazione da 10 litri ed un bagno di acqua a temperatura controllata erano usati per preparare una carica di olio di margarina transesterificato generalmente nel modo precedentemente descritto nell'Esem
pio 3. In conformità con tale reazione, 700 grammi di olio di soia, 800 grammi di acido stearico, 262 grammi di lipasi immobilizzata NOVO 3A prodotto enzimatico e 3,75 litri di esano erano fatti reagire sostanzialmente fino all'equilibrio nel pallone di reazione. Ciò forniva un olio transesterificato con incremento di 15 volte e sufficiente per due cariche di margarina. Le analisi indicavano che il grasso pro
dotto nella carica su larga scala era sostanzialmente identico ai preparati su piccola scala descritti nell'Esempio 3.

L'olio di soia transesterificato, che aveva un profilo di SFI sostanzialmente equivalente a quel

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

lo della convenzionale margarina a "stick" ovvero con corpo solido, era incorporato sia nella formula dell'olio di margarina a stick sia nella formula dell'olio di margarina a "tub". Questi erano preparati su piccola scala (350 grammi) in un miscelatore Waring raffreddato con intercapedine. L'olio di soia transesterificato, quando incorporato nella formula dell'olio di margarina da tubetto, dimostrava delle proprietà fisiche più dure in confronto con il campione di controllo. Quando l'olio di soia transesterificato era incorporato nella formula dell'olio di margarina con corpo solido, le proprietà fisiche erano simili a quelle del prodotto di controllo di olio di margarina con corpo solido.

La rimozione degli acidi grassi liberi dal miscuglio di reazione di interesterificazione era effettuata mediante distillazione a vapore sotto vuoto (deodorazione). Le condizioni della distillazione ed anche la concentrazione degli acidi grassi liberi nel miscuglio di reazione erano fattori che venivano investigati per determinare se producevano delle modificazioni nel prodotto finale, tanto sotto l'aspetto fisico quanto sotto l'aspetto chimico.

La Tabella 12 mostra l'effetto della concentrazione dell'acido stearico libero nel miscuglio

Ing. Giovanni S. Zanardi
Roma 1954

di transesterificazione ed anche l'effetto dei prolungati tempi di mantenimento a temperature elevate (480°F, pari a 249°C).

Tabella 12

Deodorazione 15'-350°F (177°C) 15'-350°F (177°C) 500°F (260°C)
60'-480°F (249°C) 60'-480°F (249°C) Nessun mantenimento

Condizioni	<0,1 mm Hg	<0,1 mm Hg	<0,1 mm Hg
Campione	Miscuglio di reazione di transesterificazione	Miscuglio di transesterificazione - post cristallizzazione	
<u>SFI</u>			
<u>0°C</u>			
10,0	32,2	28,1	27,2
21,2	21,7	17,3	21,6
26,7	17,0	12,3	9,0
33,3	11,1	7,4	0,0
37,8	9,5	5,8	0,0
% SSS	4,2	2,6	0,0
Acidi grassi liberi	0,3	0,02	0,3

Per più elevate concentrazioni di acido stearico, la tristearina (SSS) viene prodotta ed aumenta il contenuto dei solidi di fusione alla temperatura di 37,8°C. Questa tabella dimostra anche che, per prolungati tempi di mantenimento, si produce SSS. Questi risultati indicano che, in presenza di una elevata concentrazione di acido stearico (30%) oppu-

Ing. Barriani & Barriani
Roma s.p.a.

re quando la deodorazione viene mantenuta alla temperatura di 480°F, pari a 249°C, per 1 ora, può verificarsi una indesiderabile interesterificazione non enzimatica durante la deodorazione, producendo tristearina ad alto punto di fusione che influenza negativamente il gusto del prodotto. Pertanto, è necessario rimuovere, in maniera conveniente, ad esempio per via di cristallizzazione, la massa dell'acido stearico che rimane nel miscuglio di reazione prima della deodorazione per evitare la formazione di indesiderabile tristearina.

In accordo con ciò, in conformità con la presente invenzione, si potrà notare che sono stati fomiti olii di margarina perfezionati i quali presentano basso contenuto di acidi trans, insieme con uniformi o lisce caratteristiche di gusto organolettiche e convenienti caratteristiche di fusione. Sebbene l'invenzione sia stata descritta con riferimento a certe sue specifiche forme di realizzazione, si potrà notare che varie modificazioni ed adattamenti saranno evidenti dalla presente descrizione e sono da intendere inclusi nell'ambito delle seguenti rivendicazioni.

RIVENDICAZIONI

1. Olio di margarina avente sia basso conte-

Eng. Giovanni S. Zanardi
Roma 4/1954

re quando la deodorazione viene mantenuta alla temperatura di 480°F, pari a 249°C, per 1 ora, può verificarsi una indesiderabile interesterificazione non enzimatica durante la deodorazione, producendo tristearina ad alto punto di fusione che influenza negativamente il gusto del prodotto. Pertanto, è necessario rimuovere, in maniera conveniente, ad esempio per via di cristallizzazione, la massa dell'acido stearico che rimane nel miscuglio di reazione prima della deodorazione per evitare la formazione di indesiderabile tristearina.

In accordo con ciò, in conformità con la presente invenzione, si potrà notare che sono stati fomiti olii di margarina perfezionati i quali presentano basso contenuto di acidi trans, insieme con uniformi o lisce caratteristiche di gusto organolettiche e convenienti caratteristiche di fusione. Sebbene l'invenzione sia stata descritta con riferimento a certe sue specifiche forme di realizzazione, si potrà notare che varie modificazioni ed adattamenti saranno evidenti dalla presente descrizione e sono da intendere inclusi nell'ambito delle seguenti rivendicazioni.

RIVENDICAZIONI

1. Olio di margarina avente sia basso conte-

Eng. Giovanni S. Zanardi
Roma 4/1954

nuto di acidi trans sia basso contenuto di acidi gras
si a catena intermedia, insieme con un esteso profi
lo di fusione espresso come indice di grassi di ti
po solido e con uniforme consistenza organolettica,
comprendente un miscuglio contenente da circa 84 a
circa 95% in peso di trigliceridi di acidi grassi,
da circa 5 a circa 15% in peso di digliceridi di a
cidi grassi e meno di circa 1% in peso di monogliceridi
di acidi grassi, sulla base del peso totale di det
to miscuglio, detto olio di margarina comprendendo
meno del 3% in peso di acido grasso insaturo trans
esterificato e meno del 6% in peso di acidi grassi
saturi a catena intermedia, da circa 25 a circa 45%
in peso di acido linoleico esterificato, da circa 0
a circa 11% in peso di acido linolenico esterifica
to, da circa 5 a circa 25% in peso di acido oleico
esterificato, sulla base del peso totale degli aci
di grassi esterificati, detto olio di margarina aven
do una distribuzione di acidi grassi non casuale in
cui l'acido stearico esterificato è predominantemen
te distribuito nelle posizioni 1- e 3-, mentre le
frazioni di acidi grassi insaturi esterificati si
trovano in concentrazione maggiore nella posizione
2- di detti gliceridi nell'ambito dei seguenti in
tervalli:

Ing. Barzani & Zanardo
Roma s.p.a.

	<u>Posizioni 1- e 3- dei gliceridi, per cento in peso</u>	<u>Posizione 2- dei gliceridi, per cento in peso</u>
Acido palmitico	5-10	0-2,0
Acido stearico	50-70	0-5,0
Acido oleico	5-15	20-30
Acido linoleico	10-30	60-80
Acido linolenico	0-10	3-12

e detto olio di margarina presenta un profilo di contenuto di grassi solidi compreso nei seguenti intervalli:

<u>Temperatura</u>	<u>Indice dilatometrico di grassi solidi, per cento</u>
10°C	7-31
21,1°C	3-25
26,7°C	0,75-10
33,3°C	0,5-4
38,7°C	meno di 3

2. Olio di margarina secondo la rivendicazione 1, avente una consistenza con corpo solido alla temperatura di refrigerazione ed avente un indice di grassi solidi compreso fra circa 23 e circa 31% alla temperatura di 10°C, da circa 15 a circa 25% alla temperatura di 21,1°C, da circa 6 a circa 10% alla temperatura di 26,7°C, da circa 0,5 a circa 4% alla temperatura di 33,3°C e da circa 0 a circa 3% alla temperatura di 38,7°C.

Ing. Romano's Sarnardo
Roma s.p.a.

3. Olio di margarina secondo la rivendicazione 1, avente una consistenza con corpo morbido alla temperatura di refrigerazione ed avente un indice di grassi solidi compreso fra circa 7 e circa 12% alla temperatura di 10°C, fra circa 3 e circa 10% alla temperatura di 21,1°C, fra circa 0,75 e circa 8% alla temperatura di 26,7°C, fra circa 0,5 e circa 3% alla temperatura di 33,3°C e fra circa 0 e circa 1,5% alla temperatura di 38,7°C.

4. Procedimento di transesterificazione enzimatica per la preparazione di un olio di margarina secondo la rivendicazione 1, comprendente le operazioni di fornire un materiale con funzione di sorgente di acido stearico scelto dal gruppo comprendente acido stearico, monoesteri con acido stearico di alcoli monovalenti a basso peso molecolare e relativi miscugli, detto materiale con funzione di sorgente di acido stearico comprendendo almeno circa l'84% in peso di acido stearico, sulla base del peso totale degli acidi grassi contenuti in detto materiale con funzione di sorgente di acido stearico,

fornire un olio vegetale liquido commestibile comprendente almeno circa l'80% in peso di frazioni di acidi grassi esterificati con 18 atomi di carbonio, sulla base del peso totale dei trigliceridi dell'olio

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

vegetale liquido commestibile, detto olio vegetale comprendendo inoltre meno del 7% in peso di acido palmitico esterificato nella posizione 2- del gliceride e meno del 4% in peso di acido stearico esterificato nella posizione 2- del gliceride, almeno circa il 20% in peso di acido oleico esterificato in ciascuna delle posizioni 1-, 2- e 3- dei gliceridi, almeno circa il 20% in peso di acido linoleico esterificato, almeno circa il 5% in peso di acido linolenico esterificato e meno del 2% in peso di acido stearico esterificato nella posizione 2-,

transesterificare detto materiale con funzione di sorgente di acido stearico e detto trigliceride di olio vegetale per mezzo di un enzima di transesterificazione costituito da lipasi extracellulare dotata di specificità per le posizioni 1- e 3-, con un rapporto in peso fra materiale con funzione di sorgente di acido stearico ed olio di trigliceridi nell'intervallo fra circa 0,5:1 e circa 2:1 per equilibrare sostanzialmente i gruppi di estere nelle posizioni 1- e 3- del componente basato sul gliceride con i componenti di acidi grassi non gliceridi del miscuglio di reazione, separare i componenti di acidi grassi liberi transesterificati dai componenti di gliceridi del miscuglio di transesterificazio

Ingeg. Giovanni Sarnardo
Genova 1944

ne per fornire un prodotto di olio di margarina transesterificato ed un miscuglio di acidi grassi comprendente acidi grassi, monoesteri con acidi grassi o loro miscugli rilasciati da detto olio vegetale, e idrogenare il miscuglio di acidi grassi per fornire un materiale con funzione di sorgente di acido stearico per la reazione di riciclo con detto trigliceride di olio vegetale.

(5) Procedimento secondo la rivendicazione 4, in cui gli acidi grassi a catena intermedia sono almeno parzialmente rimossi da detta sorgente di acidi grassi idrogenati mediante distillazione per fornire un materiale con funzione di sorgente di acido stearico di riciclo avente meno del 6% in peso di acidi grassi saturi a catena intermedia.

(6) Procedimento in controcorrente per preparare un olio transesterificato comprendente le operazioni di fornire una zona di reazione di transesterificazione contenente un enzima di transesterificazione costituito da lipasi dotata di specificità per le posizioni 1- e 3-,

introdurre un olio vegetale nella zona di reazione di transesterificazione per fornire una corrente di reazione di trigliceridi attraverso la zona di reazione,

Ing. Barzani & Ranardo
Roma s.p.a.

introdurre un materiale con funzione di sorgente di acido grasso scelto dal gruppo comprendente acido grasso, monoesteri alchilici inferiori di acido grasso e loro miscugli nella zona di reazione di transesterificazione per fornire una corrente di reazione di acido grasso o di monoestere di acido grasso,

condurre un gas supercritico oppure un fluido in controcorrente gassoso liquefatto subcritico che preferenzialmente discioglie gli acidi grassi ed i monoesteri di acidi grassi sui trigliceridi in condizioni a due fasi attraverso detta zona in controcorrente con il flusso della corrente di reazione dei trigliceridi, con portata e sotto condizioni di pressione e di temperatura tali da mantenere una fase separata di detto fluido di controcorrente contenente acido grasso oppure un monoestere di acido grasso attraverso la zona di reazione in intimo contatto con la corrente di reazione dei trigliceridi,

eseguire la reazione di transesterificazione della corrente dei trigliceridi con la corrente di acido grasso o di monoestere di acido grasso nella zona di reazione,

estrarre una corrente di olio di margarina a base di trigliceridi transesterificati, la quale sia

Eng. Giovanni S. Zanardi
Roma 1954

stata transesterificata con il materiale con funzione di sorgente di acido stearico dalla zona di reazione,

estrarre una fase fluida di controcorrente da detta zona di reazione in controcorrente nei confronti della corrente di olio di margarina che contiene in essa disciolti gli acidi grassi liberi transesterificati oppure i monoesteri di acidi grassi prodotti dalla transesterificazione di detto materiale con funzione di sorgente di acido stearico con detto olio vegetale,

idrogenare detto acido grasso transesterificato oppure detto monoestere di acido grasso per fornire un materiale con funzione di sorgente di acido stearico di riciclo, e

introdurre detto materiale di sorgente di riciclo idrogenato in detta zona di reazione.

7. Procedimento secondo la rivendicazione 6, in cui detto olio transesterificato è un olio di margarina transesterificato, in cui detto olio vegetale è olio di soia in cui detto materiale con funzione di sorgente di acido grasso viene scelto dal gruppo comprendente acido stearico, monoesteri alchilici inferiori di acido stearico e loro miscugli, comprendente almeno il 94% in peso di acido stearico in for

Ing. Barzani & Zanardo
Roma s.p.a.

ma libera o monoesterificata.

8. Procedimento secondo la rivendicazione 7, in cui detto fluido di controcorrente è anidride carbonica gassosa supercritica ad una pressione compresa nell'intervallo fra 1.100 e 2.500 libbre per pollice quadrato, valore assoluto, (psia) pari a 77 e 175 Kg/cm², ad una temperatura della reazione di transesterificazione nell'intervallo fra circa 40 e circa 70°C.

9. Procedimento secondo la rivendicazione 7, in cui detto fluido di controcorrente è costituito da una forma liquefatta subcritica di etano, propano, gas al fluorocarbonio o loro miscugli, avente una temperatura critica inferiore a 100°C, che presenta una separazione delle fasi dei trigliceridi nelle condizioni di temperatura di reazione che si approssimano alla temperatura critica.

*Ing. Barzano & Zanardi
Roma s.p.a.*

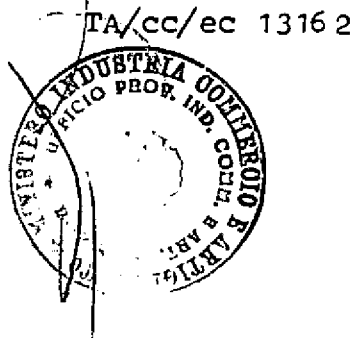
Roma, 17 DIC. 1990

P.P. KRAFT GENERAL FOODS, INC.

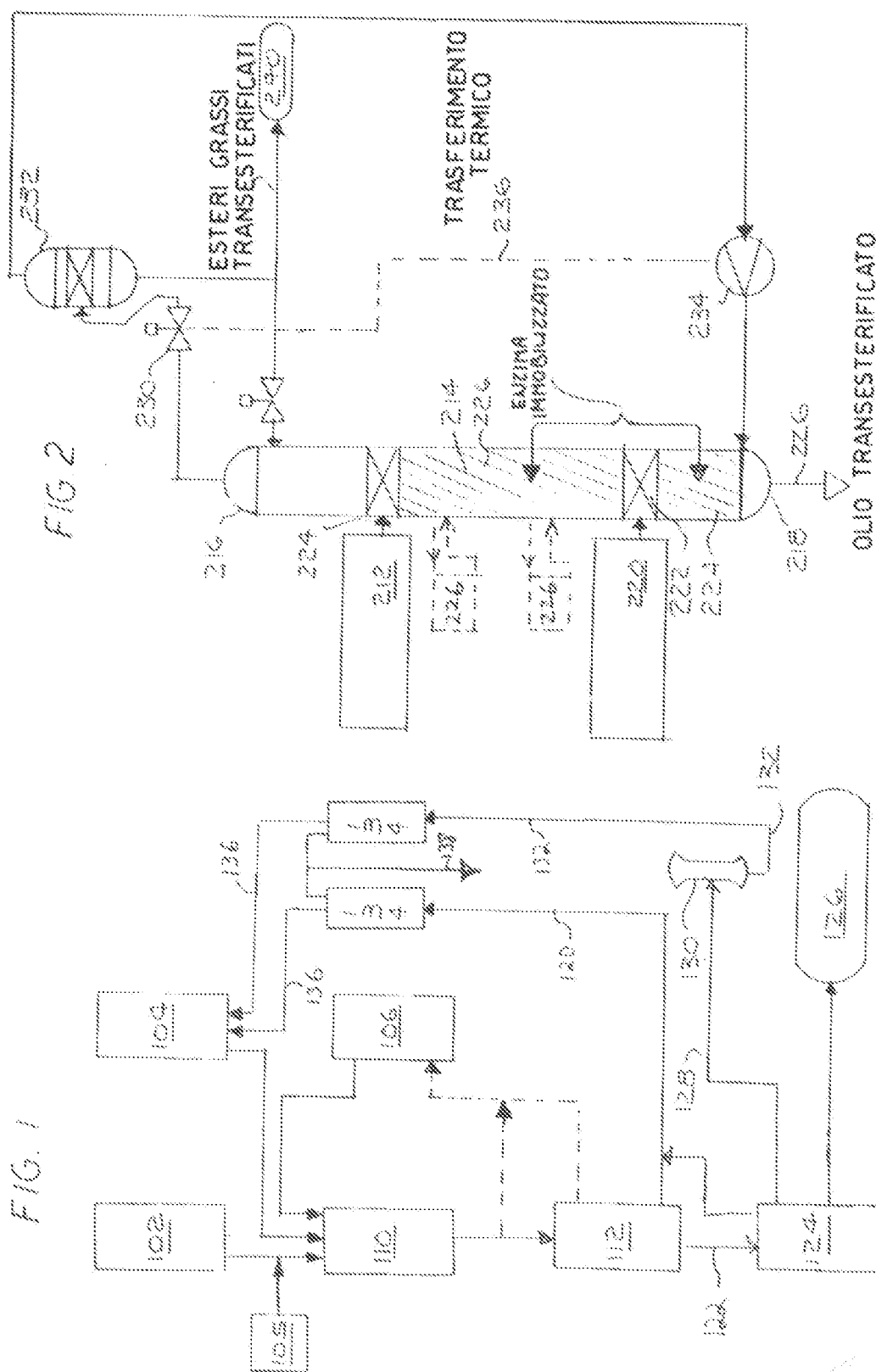
ING. BARZANO' & ZANARDI ROMA S.P.A.

UN MANDATARIO
per se e per gli altri
Antonio Talierno
(N° d'iscr. 171)

Talierno



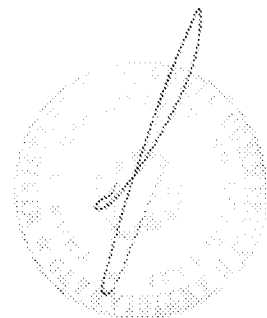
488871/90



P.D.: KRAFT GENERAL FOODS, INC.
ING. BARZANO' & ZANARDO ROMA S.p.A.

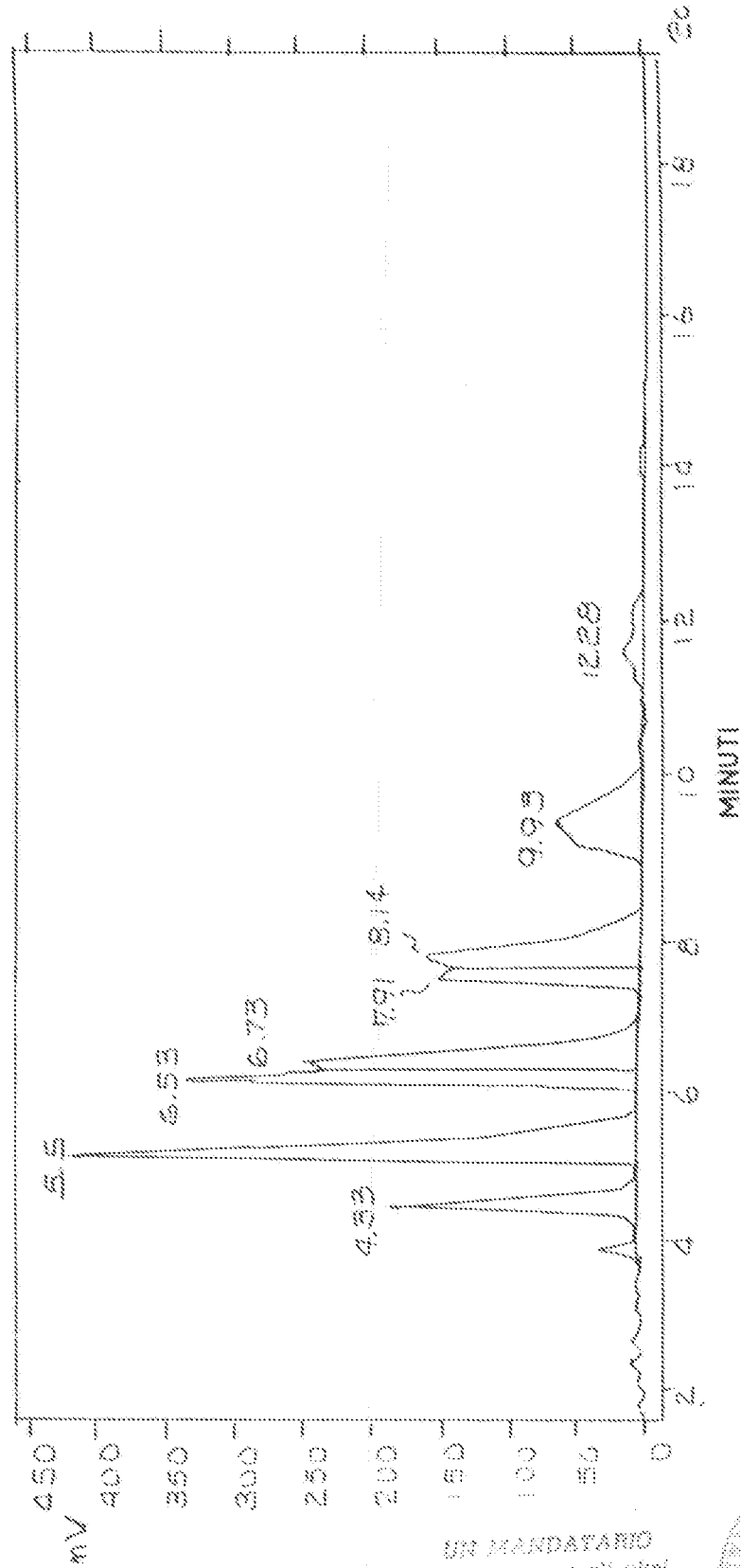
UN MANDATARIO
per me o per gli altri
Antonio Tallarico
N° d'iscr. 121

Tallarico



48587 A / 90

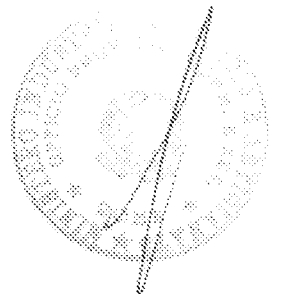
FIG. 3



P.D.: KRAFT GENERAL FOODS, INC.
 ING. BARZANDI & ZANARDO ROMA S.p.A.

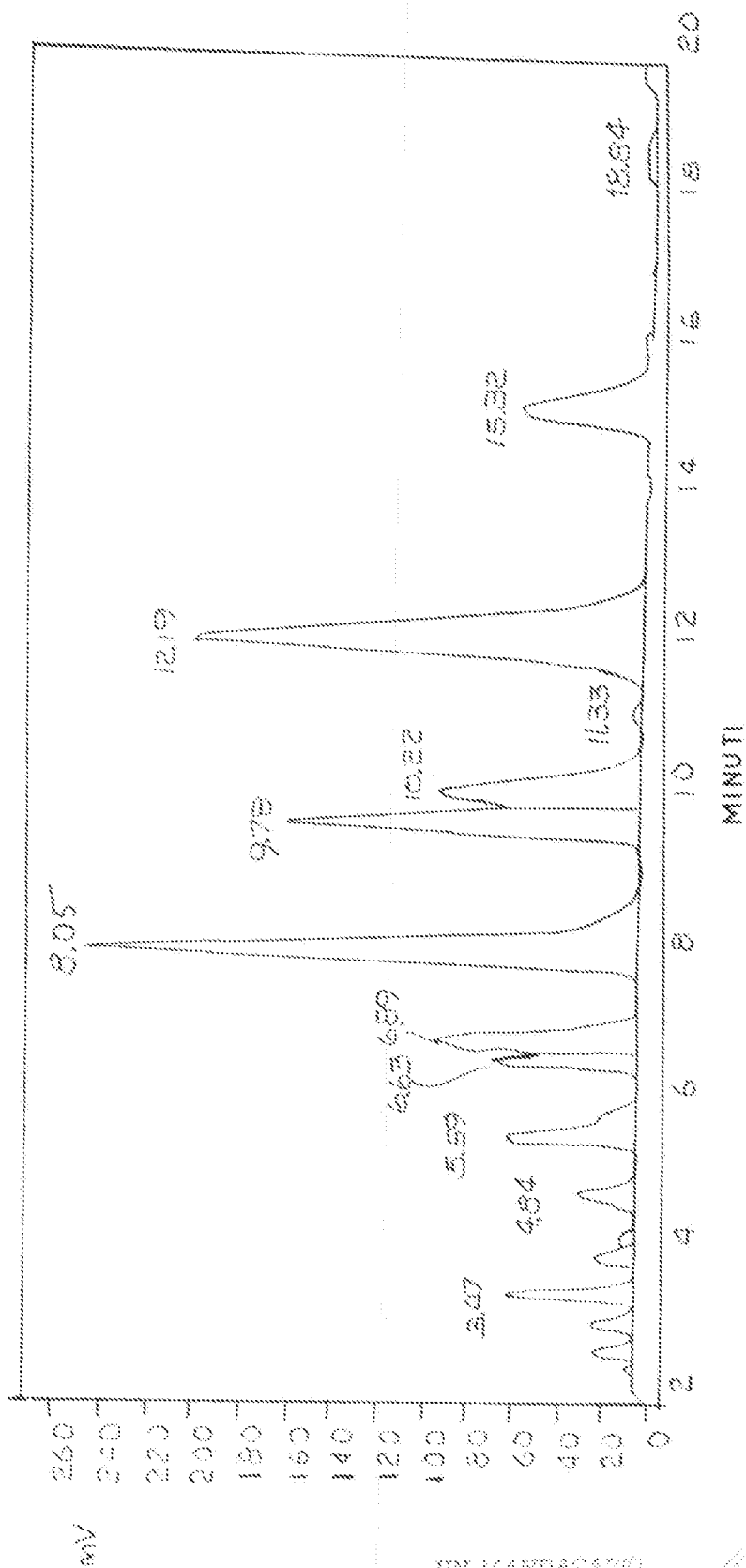
UN MANDATARIO
 per me e per gli altri
 Antonio Tollerio
 (N° d'iscri. 121)

Italiano



48587A/90

FIG. 4



D.P.: KRAFT GENERAL FOODS, INC.
 ING. BARZANO' & ZANARDO ROMA S.p.A.

IN MANDAATO
 per se e per gli altri
 Antonio Tolferio
 (P. d'lec. 11)

Italibus

