

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI 0714371-0 A2**

(22) Data de Depósito: 13/07/2007
(43) Data da Publicação: 26/03/2013
(RPI 2203)



(51) *Int.Cl.:*
C11B 7/00
A23D 7/02
A23D 9/02

(54) **Título:** FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, MÉTODO PARA A PREPARAÇÃO DE UMA FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, USO DE UMA FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, E MISTURA ÓLEO

(30) **Prioridade Unionista:** 14/07/2006 EP 06380201.1, 16/10/2006 ES 200602620

(73) **Titular(es):** Consejo Superior de Investigaciones Cientificas

(72) **Inventor(es):** Enrique Martinez-Force, Joaquim Jesus Salas Liñan, Rafael Garcés Mancheño

(74) **Procurador(es):** Walter de Almeida Martins

(86) **Pedido Internacional:** PCT EP2007006221 de 13/07/2007

(87) **Publicação Internacional:** WO 2008/006597 de 17/01/2008

(57) **Resumo:** FRAÇÃO OLEINA LÍQUIDA E ESTÁVEL, METODO PARA A PREPARAÇÃO DE UMA FRAÇÃO OLEINA LÍQUIDA E ESTÁVEL, USO DE UMA FRAÇÃO OLEINA LÍQUIDA E ESTÁVEL, E MISTURA ÓLEO. A presente invenção está relacionada a uma fração oleina líquida estável em que menos que 8,6% das espécies TAG da referida fração oleina possuem a fórmula geral SMS e pelo menos 26% of espécies TAG da referida fração oleina possuem a fórmula geral SMM, em que S representa um ácido graxo saturado e M representa a ácido graxo monoenoico, cuja fração oleina é possível de ser obtida mediante fracionamento de um óleo de girassol altamente saturado com alto teor oleico; e coleta da fração líquida. A invenção adicionalmente está relacionada a um método para a preparação de uma fração oleina líquida estável mediante o fracionamento em baixa temperatura de um óleo de girassol altamente saturado, de alto teor oleico.

FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, MÉTODO PARA A PREPARAÇÃO DE UMA FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, USO DE UMA FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, E MISTURA ÓLEO

Campo da Invenção

5 A presente invenção está relacionada a frações oleína, que são particularmente adequadas para aplicações nas quais o óleo necessita ser líquido e resistência a oxidação. A invenção adicionalmente está relacionada ao uso da fração oleína e a misturas óleo compreendendo essas
10 frações.

Fundamentos da Invenção

Óleos naturalmente ocorrentes são constituídos de triacilgliceróis (TAGs) que concorrem para mais de 98% do óleo total. Portanto, as propriedades químicas e físicas
15 dos óleos são determinadas pelas suas composições em triacilglicerídeo e a distribuição de ácido graxo nessas moléculas.

Óleos e gorduras vegetais usadas para alimentos e outras aplicações não alimentícias, onde a estabilidade a
20 alta oxidação é necessária, requerem uma especial composição do triacilglicerídeo, principalmente se tratamentos químicos tais como hidrogenação são para serem evitados. Óleos parcialmente hidrogenados contêm isômeros trans dos ácidos graxos que são considerados indesejáveis
25 sob o aspecto nutricional.

Alguns óleos de consumo satisfazem partes dessas exigências mas possuem desvantagens tecnológicas ou nutricionais. Por exemplo, o óleo de palma e oleína de palma possuem alta estabilidade porém são sólidos ou semi-sólidos na temperatura ambiente devido ao conteúdo de TAG di-saturado e tri-saturado, e não saudáveis sob o ponto de vista alimentício devido principalmente ao teor de ácido palmítico na posição *sn*-2 do TAG (Renaud et al., J. Nutr. 125:229-237 (1995)). Óleos vegetais de alto teor oléico são líquidos em temperaturas abaixo de 0 °C mas não são suficientemente estáveis. Portanto, usos onde seja necessário óleo líquido e estável não podem ser satisfeitos com esses óleos.

Óleos saudáveis com boa estabilidade oxidativa devem ter um baixo teor de ácidos graxos saturados, compreendendo preferivelmente estearato porque ele é neutro com respeito aos níveis séricos do colesterol (Pearson, Am. J. Clin. Nutr., 60(S):1071S-1072S, (1994); Kelly et al., Eur. J. of Clinical Nutr., 55:88-96, (2001)), e não devem conter ácidos graxos saturados na posição intermediária (*sn*-2) do triacilglicerídeo. Óleos com ácido graxo saturados na posição intermediária do triacilglicerídeo têm sido sugeridos serem responsáveis pelos efeitos aterogênicos desses óleos (Renaud et al., J. Nutr. 125:229-237 (1995)).

WO 0019832 orienta como um óleo de alto teor de

estearato e alto teor de oleato de *Brassica* pode ser obtido. Adicionalmente, ed. Adicionalmente, algumas frações de estearina e oleína foram obtidas.

WO99057990 orienta além disso como um óleo de alto
5 teor de estearato e alto teor de oleato proveniente de soja pode ser obtido e como, adicionalmente, algumas frações de estearina e oleína foram obtidas. Todos os óleos e frações apresentados nessas publicações de patente possuem mais que 0,5% de linolenato. Portanto, nenhum desses óleos
10 anteriores ou suas frações são um bom material para obter a fração oleína da presente invenção.

Algumas frações oleína tropicais misturadas com óleos de consumo padrões têm sido propostas serem usadas como gorduras de fritura. Como orientado em WO 2006/061100,
15 uma fração oleína proveniente de manteiga de shea tropical pode ser misturada com óleos de consumo resultando em uma gordura de fritura. Todavia, a manteiga de shea tem a desvantagem de ser um tanto rara, obtida a partir de árvores tropicais. Para a fabricação do óleo em escala
20 industrial a obtenção do óleo de partida pode se tornar um problema.

EP-1290119 descreve o uso de óleo de girassol de alto teor esteárico e alto teor oléico (HSHOSF) para a produção de estearina, que é misturado com um óleo vegetal
25 líquido para preparar uma fase gordura. O teor de sólidos da fração estearina é mais que 50 %p e it contém pelo menos

30 %p de ácidos graxos SUS. A fração estearina é pretendida para a estruturação do óleo vegetal para obter uma margarina ou pasta. A fração estearina desse não proporciona os sólidos nesses produtos e não é propriamente um líquido.

Óleos constituídos parcialmente de ácidos graxos saturados e monoinsaturados possuem muito boa estabilidade, porém, levando em conta a biossíntese do TAG em plantas, óleos com aumentado teor de ácidos graxos saturados irão possuir quantidades expressivas de TAGs com dois ou três ácidos graxos saturados. Esses TAGs irão precipitar, mesmo na temperatura ambiente, fazendo com que esses óleos se solidifiquem muito facilmente. Óleos que liquefazem em temperaturas tão baixas quanto 0 °C e sejam estáveis são de interesse industrial. Óleos de girassol com alto teor de estearato em base de alto teor de oleato possuem muito boa estabilidade oxidativa, porém, se solidificam facilmente. Frações desse óleo sem a maior parte dos TAGs di-saturados possuem boa estabilidade e serão líquidos numa temperatura em torno de 0 °C.

É portanto o objetivo da presente invenção proporcionar um novo óleo que seja tanto líquido em baixas temperaturas e resistente a oxidação.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A invenção desse modo está relacionada a uma fração oleína, em que:

- a. menos que 8,6% das espécies de TAG da referida fração oleína possuem a fórmula geral SMS e
- b. pelo menos 26% das espécies de TAG da referida fração oleína possuem a fórmula geral SMM

5 em que S representa um ácido graxo saturado e M representa a ácido graxo monoenólico, cuja fração é possível de ser obtida pelo óleo resultante do fracionamento de óleo de girassol de alto teor de oleato e de algo teor de saturação (HOHS) e coletar a fração líquida, chamada oleína. A fração
10 líquida é o sobrenadante do fracionamento. O óleo HOHS é preferivelmente um óleo de girassol de alto teor oléico e alto teor esteárico (HOHE).

A fração oleína da presente invenção tem superior estabilidade oxidativa, é líquida em temperatura próxima ou
15 abaixo de 0 °C e possui uma composição triacilglicerídeo que a torna saudável comparada a outros óleos estáveis altamente saturados do tipo óleo de palma ou oleína de palma.

Os métodos de fracionamento que são adequadamente
20 usados são o fracionamento a seco ou por solvente.

A invenção também fornece os diferentes usos do óleo. As aprimoradas características da fração oleína permitem que ela seja usada em diversos produtos para fins alimentícios e não alimentícios em situações onde óleos
25 líquidos com aumentada estabilidade oxidativa, estabilidade em fritura e estabilidade de vida de prateleira sejam

desejáveis, sendo ao mesmo tempo um produto saudável.

A estabilidade oxidativa dos óleos é definida pela composição em ácidos graxos dos TAGs. TAGs ricos em ácidos graxos poli-insaturados são mais instáveis que TAGs ricos em TAGs saturados e monoinsaturados. Os ácidos graxos insaturados encontrados nos óleos de consumo são oleato, linoleato e linolenato possuindo uma, duas e três duplas ligações, respectivamente. O linolenato é o ácido graxo mais instável e responsável pelos sabores a peixe, e portanto, devem ser o mais baixo possível nos óleos estáveis, preferivelmente como traços (abaixo de 0,5%). Óleos com linolenato acima desse valor não são bons materiais de partida para fracionar a oleína dessa invenção.

A fração oleína da invenção possui menos que 0.5% em peso de linoleato.

A fração oleína é líquida na temperatura ambiente e mais estável que outros óleos que são líquidos na temperatura ambiente, tal como o óleo padrão CAS-6 (Salas et al. JAOCS, 83:539-545 (2006)) e o óleo de alto teor oléico CAS-9 (Fernandez-Moya et al. J. Agric. Food Chem. 53:5326-5330 (2005)). Óleo de alto teor oléico e alto teor esteárico HOHS (W00074470) é muito is muito estável mas não líquido na temperatura ambiente. O óleo de alto teor oléico e alto teor palmítico IG-1297M (W09964546) é igualmente estável mas não líquido na temperatura ambiente e ele

compreende teores maiores de palmítico que é menos desejável a partir do ponto de vista nutricional.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A fração óleo da invenção tem um ponto de turvação
5 mais baixa que 5°C , preferivelmente mais baixa que 0°C ,
mais preferivelmente mais baixa que -6°C .

A fração óleo estável e líquida da invenção é
possível de ser obtida mediante o fracionamento em baixa
temperatura de um óleo de girassol altamente saturado, de
10 alto teor oléico.

Em uma primeira modalidade, o fracionamento em
baixa temperatura é um fracionamento a seco, que inclui as
seguintes etapas:

- reduzir a temperatura do óleo para 12°C , mais
15 preferivelmente $9,5^{\circ}\text{C}$, ainda mais preferivelmente 5°C ,
opcionalmente com agitação;

- separar a oleína da fração sólida; e

- opcionalmente fracionar a oleína resultante
novamente a $2,5^{\circ}\text{C}$, mais preferível 0°C para obter uma
20 fração oleína menos saturada.

Em uma outra modalidade o fracionamento em baixa
temperatura é um fracionamento por solvente, que inclui as
seguintes etapas:

- misturar o óleo com um solvente orgânico do tipo
25 acetona, hexano ou éter etílico;

- reduzir a temperatura da solução óleo para 0°C ,

preferivelmente -5°C ;

- separar a oleína da fração sólida; e
- opcionalmente recuperar a oleína mediante remover o solvente do sobrenadante.

5 Em uma modalidade particular, o solvente é removido do sobrenadante por destilação a vácuo.

A invenção está baseada no uso de a particular óleo as o óleo de partida para o fracionamento. O óleo de partida deve ter uma particular composição de TAG. A fração
10 oleína da invenção compreende entre 1,8 e 9,8% SUS, preferivelmente entre 2,4 e 8,8%, mais preferivelmente entre 3,8 e 7,9%, muito preferivelmente entre 4,2 e 7,6% e entre 54 e 64% SUU, preferivelmente entre 56 e 62%, mais preferivelmente entre 58 e 60%.

15 Óleos de girassol de altamente saturado e de alto teor de oleato para uso como um material de partida para a preparação de uma fração óleo da invenção pode ser extraída de sementes HOHS descritos em WO0074470 (os originais dos
quais são CAS-3 (ATCC75968) e um mutante de alto teor
20 tioesterase (ATCC PTA-628)). Essas sementes são também descritos em Fernandez-Moya et al. (J. Agric. Food Chem. 53: 5326-5330 (2005)) as CAS-15. outros óleos são os HOHP descritos em WO9964546, sementes de IG-1297M depositadas como ATCC n° 209591, que possuem a mesma composição de TAG
25 que CAS-12 from Alvarez-Ortega et al. (Lipids 32: 833-837 (1997)) ou óleos e sementes descritos em WO0074469, esses

últimos são também descritos em Serrano-Vega et al. (Lipids 40: 369-374 (2005)) as CAS-25.

As Tabelas 1 e 2 mostram as espécies moleculares de triacilglicerídeo e composição da classe triacilglicerídeo de óleo de alto teor de oleato e alto teor de estearato of CAS-15 em comparação com um óleo de alto teor de oleato (CAS-9).

Tabela 1 - Composição triacilglicerídeo of o óleo de girassol de alto teor de oleato e alto teor de estearato (CAS-15) comparada com um controle óleo de girassol de alto teor de oleato (CAS-9).

triacilglicerídeo	Teor de triacilglicerídeo (%mol)	
	CAS-9	CAS-15
POP	-	0,5
POE	0,4	4,5
POO	6,4	6,2
PLE	-	0,6
POL	-	1,4
PLL	-	-
EOE	0,5	10,4
EOO	11,7	37,7
ELE	-	-
OOO	70,9	14,3
EOL	-	7,7
OOL	6,6	4,0
ELL	-	1,2
OLL	-	0,8
EOA	-	1,5
OOA	0,9	2,8
OLA	-	0,5
EOB	-	1,4
OOB	2,5	3,7
OLB	-	0,7

P = ácido palmítico = 16:0; E = ácido esteárico = 18:0; O = ácido oléico 18:1 ; L = ácido linoléico = 18:2; A = ácido araquídico = 20:0; B = ácido beênico = 22:0

Tabela 2 - Composição da classe triacilglicerídeo of o óleo de girassol de alto teor de oleato e alto teor de estearato (CAS-15) comparado com um controle óleo de girassol de alto teor de oleato (CAS- 9). S = ácido graxo saturado, M = 5 ácido graxo monoenóico e D = ácido graxo dienóico, U = Ácido graxo insaturado.

	CAS-9	CAS-15
SMS	0,9	18,3
SDS	-	0,6
SMM	21,5	50,4
SDM	-	10,3
SDD	-	1,2
MMM	70,9	14,3
MDM	6,6	4,0
MDD	-	0,8
SUS	0,9	18,9
SUU	21,5	61,9
UUU	77,5	19,1

Em uma primeira modalidade, o óleo é um óleo de girassol de alto teor oléico e alto teor esteárico (HOHE) possível de ser obtido mediante extrair sementes da 10 linhagem de girassol CAS- 15 (Fernandez-Moya et al. J. Agric. Food Chem. 2005, 53, 5326-5330), que é uma linhagem do tipo HOHS como descrito em WO 0074470, ou a partir de uma outra linhagem HOHE possível de ser obtida através do cruzamento de CAS-3 (ATCC- 75968) com um mutante 15 tioesterase de alto teor oléico (ATCC PTA-628).

Numa segunda modalidade específica, o óleo de girassol altamente saturado com alto teor oléico is a óleo de girassol de alto teor oléico e alto teor palmítico (HOHP) possível de ser obtido mediante extrair sementes da

linhagem de girassol IG-1297M (correspondente com CAS-12), cujas sementes foram depositadas em 20 Janeiro de 1998 sob o número de acesso ATCC, ATCC-209591.

Em uma modalidade adicional o óleo de girassol de alto teor oléico e alto teor esteárico é possível de ser obtido mediante extrair sementes de CAS-25, produzindo um óleo de alto teor oléico e alto teor palmítico com baixo palmitoléico e baixo asclépico e possível de ser obtido pelo cruzamento de IG-1297M (ATCC-209591) com CAS-3 (ATCC-10 75968).

A fração oleína da invenção pode ser obtida a partir do óleo extraído a partir dessas sementes. A invenção todavia não está limitada a oleína fracionada a partir do óleo extraído a partir dessas sementes. Qualquer 15 óleo HOHS é um óleo de partida adequado para produzir o óleo da invenção. Tal óleo HOHS pode ser usado puro, isto é, extraído diretamente a partir das sementes, ou misturados para ter altos teores de ácido oléico e ácido graxo saturados. Tais óleos são denominados aqui "HOHS". 20 CAS-15, CAS-33 e outros óleos HOHS óleos possuem todos teores similares de oléico e de saturados mas podem diferir em outras características.

O fracionamento a seco ou por solvente de qualquer óleo altamente saturado de alto teor oléico, em particular, 25 óleos de proporcionar uma fração oleína de acordo com a invenção.

O fracionamento por solvente é feito com quantidades iguais de acetona, hexano ou éter etílico e resfriando a mistura a 0 °C. Após centrifugação a 10000x g em uma centrífuga preparativa Sorvall a 0°C um precipitado, a fração estearina, e um sobrenadante, a fração oleína pode ser separada. A fração líquida oleína tem um teor muito baixo de TAGs di-saturados e um aumentado teor de TAGs insaturados, as Tabelas 3 e 4 mostram uma composição de um exemplo do óleo original proveniente de uma linhagem de HOHS e a fração oleína. A fração oleína possui uma quantidade reduzida dos TAGs di-saturados POP, POS, SOS, SOA e SOB.

Tabela 3 - Composição do triacilglicerídeo de uma fração oleína de óleo de girassol altamente saturado de alto teor de oleato comparado com o óleo original (HOHS).

Triacilglicerídeo	Teor de Triacilglicerídeo (%)	
	HOHS	Oleína
POP	0,3	0,2
POE	2,3	1,1
POO	6,7	7,3
POL	0,7	0,7
EOE	4,2	0,9
EOO	34,4	36,7
OOO	31,7	35,0
EOL	2,7	2,7
OOL	4,2	4,7
OLL	0,4	0,4
EOA	0,9	0,4
OOA	3,4	3,6
OLA	0,3	0,0
EOB	1,1	0,0
OOB	6,6	6,2

P = ácido palmítico = 16:0; E = ácido esteárico = 18:0; O = ácido oléico = 18:1; L = ácido linoléico = 18:2; A = ácido

araquídico = 20:0; B = ácido beênico = 22:0

Tabela 4 - Composição da classe triacilglicerídeo de uma fração oleína de óleo de girassol altamente saturado de alto teor de oleato comparado com o óleo original (HOHS de 5). S = ácido graxo saturado, M = ácido graxo monoenólico e D = ácido graxo dienólico.

Classe de Triacilglicerídeo	Teor de triacilglicerídeo (%)	
	HOHS	Oleína
SMS	8,9	2,7
SDS	-	-
SMM	51,1	53,8
SDM	3,7	3,4
SDD	-	-
MMM	31,7	35,0
MDM	4,2	4,7
MDD	0,4	0,4
DDD	-	-

Foi surpreendentemente descoberto que óleos desse tipo possuem excelentes propriedades de estabilidade, em experimentos de estabilidade por oxidação acelerada, e são 10 líquidos em temperaturas próximas de 0 °C e abaixo.

A estabilidade do óleo da invenção pode ser expressa como a quantidade de TAGs alterados (monômeros de triacilglicerídeo oxidados e monômeros de triacilglicerídeo polimerizados) após um teste de oxidação acelerada. Para a 15 presente invenção, o teste foi realizado mediante introduzir 2 g dos óleos em um forno a 180 °C e realizando amostragens de 50 mg em intervalos de 2 h para determinar os TAGs alterados. Os óleos restantes após 10 h de tratamento foram retirados e adicionalmente analisados 20 quanto a compostos polares e distribuição em monômeros TAG

e polímeros TAG oxidados.

A partir disso segue que o óleo da invenção é líquido em temperaturas baixas em torno de 0 °C e significativamente estáveis. A composição triacilglicerídeo dos óleos da invenção é significativamente diferentes 5 daquelas dos óleos da técnica existente como será demonstrado nos Exemplos.

O óleo da invenção é um óleo natural que pode ser extraído a partir de sementes de girassol e obtidas pelo 10 fracionamento a seco ou por solvente em baixa temperatura. Essa fração oleína é termoestável sem métodos de modificação como hidrogenação das duplas ligações do ácido graxo, transesterificação de qualquer outra modificação química. O óleo da invenção é obtido sem realizar tais 15 processos artificiais de modificação.

Uma preferida fração oleína do óleo de girassol compreende entre 1,6% e 8,6% SMS, mais preferivelmente entre 2,1% e 8,4% e muito preferivelmente entre 3,4% e 8% e entre 26% e 62% SMM, preferivelmente 38% e 60%, mais 20 preferivelmente 40% e 58%, muito preferivelmente 42% e 56%. Adicionalmente, é preferido que as frações óleo da invenção possuam menos que 8% de ácidos graxos saturados na posição sn-2 dos TAGs que constituem o óleo, preferivelmente menos que 5%, mais preferivelmente menos que 3%.

25 Os ácidos graxos saturados são usualmente o ácido esteárico e ácido palmítico. É preferido que a fração óleo

da invenção tenha um teor relativamente alto de estearato, porque o óleo será então mais saudável. Para assegurar a máxima termoestabilidade é preferido que o SMM total da fração oleína deva ser de pelo menos 30%, mais preferivelmente pelo menos 35%, muito preferivelmente 45% ou mais.

É preferido adicionalmente que o óleo tenha um alto teor de ácido oléico e um correspondente baixo teor de ácido linoléico, porque o ácido oléico é mais estável que o ácido linoléico e possui propriedades nutricionais muito boas. É preferido que o óleo tenha adicionalmente menos que 15% de ácido linoléico, mais preferivelmente menos que 10%, muito preferivelmente 5% ou menor com base no peso total dos ácidos graxos.

It is também preferível que o teor de linolenato seja abaixo de 0,5%, porque o linolenato é o mais instável ácido graxo dos óleos de consumo e é responsável pelo sabor a peixe.

Em uma primeira modalidade preferida, a invenção está relacionada a uma fração oleína em que 1,6% a 8,6%, em particular 3,4% das espécies TAG possuem a fórmula geral SMS, 26% a 62%, em particular 48% das espécies TAG possuem a fórmula geral SMM, e a fração oleína possuindo

um ponto de turvação de 4°C a -6°C, em particular -1,2°C e

uma estabilidade térmica tal que após aquecimento a

180°C durante 10 h um máximo de 20,1% a 26,5%, em particular 22,3% se os TAGs são alterados.

Tal óleo é possível de ser obtido por fracionamento a úmido a partir das sementes de CAS-15.

5 Em uma segunda modalidade preferida, a invenção está relacionada a uma fração oleína em que 2,6% a 7,4%, em particular 4,2% das espécies TAG possuem a fórmula geral SMS, 39% a 59%, em particular 49% das espécies TAG possuem a fórmula geral SMM, e a fração oleína possuindo

10 um ponto de turvação de 3°C a -4°C, em particular -0,2°C e

uma estabilidade térmica tal que após aquecimento a 180°C durante 10 h um máximo de 19,8% a 24,2%, em particular 20,2% se os TAGs são alterados.

15 Tal óleo é possível de ser obtido através do fracionamento a seco de óleo proveniente de sementes de CAS-15.

A fração oleína da invenção é termoestável no sentido de que ela resiste a oxidação e polimerização dos
20 TAGs que constituem o óleo melhor do que o fazem os óleos de alto teor de oleato. Como uma consequência disso, a fração oleína da invenção é particularmente adequada para armazenamento de longo prazo e para fritura e cozimento em temperaturas de pelo menos 100°C, preferivelmente 160°C ou
25 180°C. A fritura é pretendida abranger fritura e fritura em agitação de produtos alimentícios, tais como carne, aves,

peixe, frutas, vegetais, etc., bem como fritura profunda de massas, batatas fritas, aperitivos. Além disso, o óleo da invenção é também adequado para cozeduras, assados, arte culinária, e a produção de maionese, maionese 'light',
5 maionese com reduzido teor de gordura, mostarda, ketchup, molho tártaro, alimentos para espalhar em sanduíche, molhos engarrafados para saladas, molhos de saladas, alimentos pré-cozidos, sopas pré-preparadas, molhos, cremes, etc.

Em um sentido mais geral a invenção está
10 relacionada ao uso de uma fração oleína, possuindo menos que 15% de ácidos graxos saturados e menos que 10%, preferivelmente menos que 5% de ácido linoléico após ter submetido o óleo a condições de altas temperaturas, que consiste em manter o óleo em um forno a 180 °C por 10 h. Na
15 prática, tais condições de alta temperatura são, por exemplo, encontradas em frituras e cozimentos.

A invenção não está limitada ao óleo como tal. A invenção está relacionada ao uso do óleo em misturas com outros óleos, nessas misturas as propriedades como um todo
20 podem diferir do óleo da invenção e também serem usadas em processos industrial do tipo enzimático ou interesterificação química para posterior fracionamento do óleo.

A fração oleína da invenção pode ser usada com
25 alguns antioxidantes ou outros aditivos para melhorar suas propriedades, principalmente em operações descontínuas de

fritura, como orientado em Marquez-Ruiz et al. (Eur. J. Lipid Sci. Technol. 106:752-758 (2004)). Nesse trabalho é mostrado que alguns silicones e particularmente dimetilpropilsiloxano (DMPS) acrescentado a óleos e gorduras em concentrações muito baixas melhoram suas propriedades principalmente em operações descontínuas de fritura. Esse aditivo tem sido amplamente usado em óleos de fritura de consumo como inibidor das reações termooxidantes em fritura profunda. A invenção adicionalmente está relacionada a um método para a preparação de uma fração óleo líquida e estável mediante o fracionamento em baixa temperatura de um óleo de girassol altamente saturado, de alto teor oléico. O método é um fracionamento em baixa temperatura e é preferivelmente ou um fracionamento a seco ou um fracionamento por solvente.

Com usado aqui, os termos "fração óleo", "fração oleína" e "óleo da invenção" são usados de modo intercambiável. Embora o produto da invenção seja uma fração proveniente de um óleo ela é propriamente ainda um óleo e desse modo será referida também como "óleo".

As espécies TAG da fórmula geral SUS, em que S é um ácido graxo saturado e U é um ácido graxo insaturado, são SMS e SDS. M é ácido graxo monoenólico com uma ligação insaturada. D é ácido graxo dienólico com duas ligações insaturadas. As espécies SMS são EOE, POP, POE, EOB, EOA. As espécies SDS são PLP, ELE, PLE.

As espécies TAG de fórmula geral SUU são SMM, SMD, e SDD. As espécies SMM são POO, EOO, OOA e OOB. As espécies SMD são POL, EOL, OLA e OLB. As espécies SDD são PLL e ELL

As espécies TAG de fórmula geral UUU são MMM, MMD,
5 MDD e DDD,

A espécie MMM é OOO. A espécie MMD é OOL. A espécie MDD é OLL e a espécie DDD é LLL.

A presente invenção será adicionalmente ilustrada nos Exemplos apresentados a seguir que não são de nenhum
10 modo pretendidos limitar a invenção. Nos Exemplos é feita referência à figura apresentada a seguir:

Figura. Gráficos de polimerização de diferentes óleos a 180 °C. Óleo de girassol comum (CAS-6), girassol de alto teor oléico (CAS-9), girassol de alto teor oléico e
15 alto teor palmítico (CAS- 12), óleos de alto teor oléico e alto teor esteárico (HOHS- 17%E e HOHS-20%E) e sobrenadantes do fracionamento de óleos de alto teor oleato e alto teor estearato a 0 °C (sobrenadante 1) e -5°C (sobrenadante 2) foram estudados.

20

EXEMPLOS

EXEMPLO 1

Preparação dos óleos para a preparação da fração oleína da invenção

1. Material Vegetal

25

A fração oleína da invenção pode ser preparada a partir de sementes da linhagem depositada IG-1297M ou a

partir de sementes que sejam obtidas de qualquer outro modo. Um outro modo de obter tal semente é ilustrado adiante.

Sementes maduras de girassol de alto teor oleato e alto teor esteárico a partir de HOHS como descrito em WO 0074470 e/ou sementes CAS-15 como descrito em Fernandez-Moya et al. (J. Agric. Food Chem. 53:5326-5330 (2005)), todos com alto teor de estearato em base de alto teor oleato foram usadas.

Óleos de alto teor oléico e alto teor esteárico (HOHS) são todos similares e independentemente das sementes usadas para extrair os óleos que foram usados nesses exemplos, os óleos podem ser extraídos a partir de qualquer outra semente e usados puros ou misturados para obter uma específica composição de TAG.

CAS-12 (depositada como IG-1297M (ATCC 209591)) ou CAS-25 (obtida através do cruzamento entre IG-1297M e CAS-3 como descrito em Serrano-Vega et al. Lipids 2005, 40, 369-374) com ou sem palmitoleato foram usados. Óleos de alto teor oléico e alto teor palmítico são todos similares e independentemente das sementes usadas para extrair os óleos que foram usados nesse exemplos, os óleos podem ser extraídos a partir de qualquer outra semente e usados puros ou misturados para obter uma específica composição TAG.

Como materiais de controle sementes maduras provenientes de uma linhagem normal de girassol (padrão,

DAS-6) e linhagem de alto teor oléico (CAS-9) foram usadas.

Alguns exemplos da composição de ácidos graxos dos óleos usados nesses exemplos podem ser encontrados na tabela 5.

- 5 Tabela 5 - Composição em ácidos graxos de alguns óleos usados nessa patente.

Óleo de girassol	Composição ácidos graxos (mol %)					
	16:0	18:0	18:1	18:2	20:0	22:0
Padrão (CAS-6)	4,96	7,8	28,39	57,24	0,43	1,17
Alto teor oléico (CAS-9)	3,71	7,28	85,48	1,18	0,7	1,64
HOHS 17%E	4,45	17,75	70,37	3,34	1,52	2,56
HOHS 20%E	4,55	20,2	67,49	2,87	1,74	3,16
HOHS 24E	5,12	24,0	61,63	4,14	2,18	2,93
HOHS 253	5,71	19,6	57,91	12,83	1,46	2,36

Óleos HOHS 17%, HOHS 24E e HOHS 253 foram extraídos de sementes CAS-33 e CAS-15 e usados puros. HOHS 20% é um óleo misturado.

10 2. *Extração do óleo*

numa escala de laboratório, os óleos usados para a preparação da fração oleína dessa invenção foram extraídos a partir de sementes utilizando um processo compreendendo o esmagamento das sementes até um pó fino que foi misturado com 1/5 p/p de sulfato de sódio anidro. Em seguida, a torta resultante foi embalada em cartuchos de papel de filtro contendo aproximadamente 25 g da mistura e extraída em Sohxlett por 16h usando heptano como solvente. A mistura enriquecida em óleo recuperada no reservatório do solvente foi destilada em vácuo a 80°C e os traços de solvente extraídos mês aplicação de um fluxo de nitrogênio.

Um método alternativo envolveu o esmagamento das sementes até um pó fino e a extração descontínua do óleo mediante mistura das sementes moídas com 2 fluxos em peso de heptano. A suspensão foi transferida para frascos de tampa de rosca e mantida a 80 °C por 2 horas. Em seguida um volume de NaCl 10g/L foi acrescentado e as fases deixadas a separar. O sobrenadante enriquecido em heptano foi extraído e destilado em vácuo a 80 °C. O óleo foi finalmente extraído com um fluxo de nitrogênio para remover traços do solvente. Para extração em escala maior, o óleo das sementes foi extraído usando uma prensagem contínua para extração do óleo com uma capacidade de 8 kg/h. Bateladas de 5 kg foram extraídas e em seguida refinadas. Uma vez que esses óleos apresentaram baixo teor de fosfato eles não foram refinados. A remoção do excesso de ácidos graxos livres foi realizada por neutralização com solução esterilizante 12° Baume (2,18 M) a 15°C por 40 minutos. Os saponificados foram removidos por centrifugação e o óleo foi em seguida lavado com água. A etapa seguinte foi o clareamento do óleo através do tratamento com argila ativada de clareamento (1% p/p) a 70 °C por 10 minutos. Finalmente, o óleo foi desodorizado mediante aplicar vapor 3% a 200 °C por 3 horas sob vácuo por 3 horas.

EXEMPLO 2

25 *Caracterização dos TAGs*

1. Distribuição do TAG nos óleos

TAG purificado proveniente de óleos de girassol usados para a preparação da fração oleína da invenção foram obtidas mediante passar 3 g de óleo dissolvido em 3 mL de éter de petróleo sobre alumina, que havia sido desativada a 5 200 °C ou 3 horas imediatamente antes do uso. A alumina (1,5 g. vezes 2) foi colocada dentro de duas pequenas colunas conectadas por uma peça de tubo de silicone e a solução lipídico colocada no topo e deixada filtrar através da alumina. As colunas foram lavadas adicionalmente com 6 10 mL de éter de petróleo. O solvente foi evaporado o TG purificado arrastado com nitrogênio e armazenado a -20°C.

Os TAG estavam desprovidos de tocoferóis como determinado por HPLC seguindo o Padrão IUPAC Método 2432 (IUPAC Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats e 15 Derivatives, Blackwell, Oxford, 7.sup.th ed. (1987)).

A composição das espécies moleculares de TAG foi realizada através de cromatografia gasosa do TAG purificado usando uma coluna capilar DB-17-HT (Agilent Technologies, USA) de 15 m. vezes 0,25 de diâmetro interno, 0,1 micron de 20 espessura de filme, hidrogênio como o gás veículo e detector FID, de acordo com J Agr Food Chem. 2000, 48, 764-769.

EXEMPLO 3

Preparação das frações oleína da invenção

25 1.- *Fracionamento dos óleos utilizando solventes*

Óleos extraídos das sementes mencionadas no exemplo

1 foram dissolvidos em 3 volumes de um solvente orgânico,
tal como hexano, acetona ou éter etílico. Outras relações
de óleo para solvente produzem os mesmos resultados, ver
"Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles e Modern
5 Practices", 1990, World Conference Proceedings, American
Oil Chemists' Society. Em seguida eles foram mantidos em
baixa temperatura por períodos de 24 h. Os sobrenadantes
foram separados dos precipitados por centrifugação a 5000 x
g e o solvente removido da fração oleína por arraste com
10 nitrogênio. As frações oleína foram armazenadas a -20°C
sob atmosfera de nitrogênio. Dois fracionamentos foram
realizados a 0°C e -5°C , produzindo oleínas de diferentes
composições e propriedades.

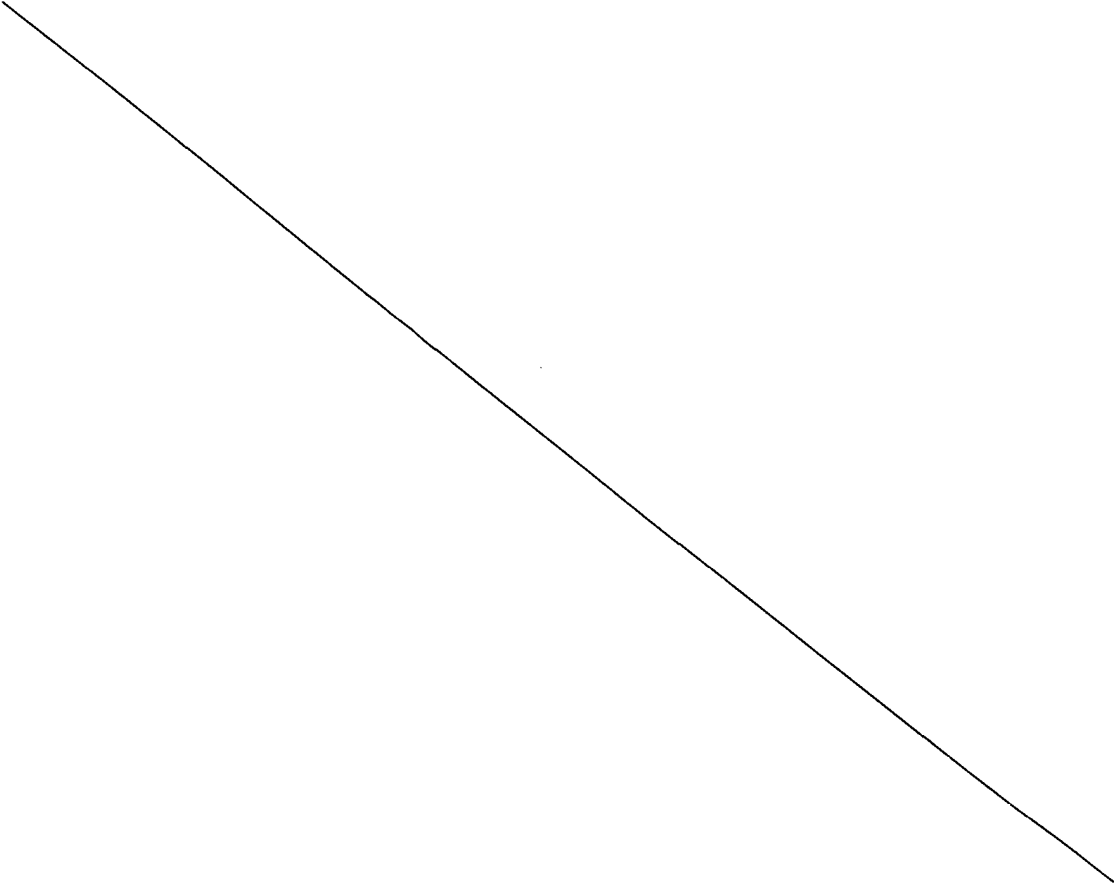


Tabela 6 - Composição triacilglicerol de óleos de alto teor esteárico e alto teor oléico e diferentes frações preparadas através do fracionamento com acetona a 0 °C (sup. 1) e -5°C (sup. 2).

Triacilglicerídeo	Composição do triacilglicerídeo (mol %)					
	HOHS 253	HOHS 24E	Sup. 1_253	Sup. 1_24E	Sup. 2_253	Sup. 2_24E
POP	0,82	0,83	0,62	0,57	0,69	0,72
PLP	0,23		0,2		0,22	
POE	4,03	5,72	1,95	1,54	1,67	1,3
POO	8,54	8,13	9,53	13,75	11,63	15,77
PLE	1,52	0,23	1,41	0,37	1,14	0,38
POL	1,83	1,06	2,13	1,86	2,31	2,24
PLL	1,18		1,16	0,21	1,18	
EOE	5,28	10,07	1,12	1,04	0,68	0,59
EOO	27,67	39,24	30,3	32,74	27,38	30,22
ELE	2,01	0,6	1,1			0,23
OOO	21,24	15,45	23,74	26,06	27,02	28,58
EOL	6,34	4,92	6,91	6,23	6,09	6,16
OOL	4,57	2,95	5,05	5,37	5,23	5,63
ELL	4,7		5,17		5,23	
OLL	1,57	0,35	2,14	0,8	2,34	0,35
LLL	1,06		1,23		0,92	
EOA	1,14	1,56		0,14	0,42	
OOA	1,91	3,22	2,16	4,65	2,05	4,27
OLA	0,24	0,23	0,3	0,55	0,65	0,49
EOB	0,61	1,37		0,19		
OOB	2,98	3,76	3,22	3,44	2,51	2,69
OLB	0,54	0,3	0,53	0,49	0,65	0,38

5 P = ácido palmítico = 16:0; E = ácido esteárico = 18:0; O = ácido oléico = 18:1; L = ácido linoléico = 18:2; A = ácido araquídico = 20:0; B = ácido beênico = 22:0

Os óleos HOHS 24E e HOHS 253 foram extraídos de sementes CAS-33 e CAS-15.

2. *Fracionamento por solvente de óleos de alto teor oléico e alto teor esteárico*

5 Exemplos do fracionamento por solvente podem ser encontrados na Tabela 6. Dois óleos de alto teor e alto teor esteárico (HOHS 253 e HOHS 24E) extraídos de sementes das linhagens CAS-15 (descritos em Fernandez-Moya et al. J. Agric Food Chem. 53:5326-5330 (2005)) ou a partir de
10 sementes HOHS sementes como descrito em WO0074470, foram fracionados com acetona a 0 °C e suas respectivas frações oleína coletadas (Sup 1_253 e Sup 1_24E). Duas outras frações foram obtidas a -5°C (Sup 2_253 e Sup 2 24E).

As frações obtidas a 0 e -5°C possuem reduzido teor
15 de TAG di-saturado tal como POS, SOS, SOA, SOB etc. A composição TAG pode ser mostrada como classes de TAG de acordo com o teor de TAG saturado (S), monoinsaturado (M) e di-insaturado (D). A Tabela 7 mostra os dados agrupados como estabelecido acima.

20



Tabela 7 - Composição da classe triacilglicerídeo de óleos de alto teor oléico e alto teor esteárico e diferentes frações preparada através do fracionamento com acetona a 0 °C (sup. 1) e -5 °C (sup. 2). S = ácido graxo saturado, M = ácido graxo monoenólico e D = ácido graxo dienólico, U = ácido graxo insaturado.

Classes de Triacilglicerídeo	Composição do triacilglicerídeo (mol %)					
	HOHS 253	HOHS 24E	Sup. 1 253	Sup. 1 24E	Sup. 2 253	Sup. 2 24E
SMS	11,88	19,55	3,69	3,48	3,46	2,61
SDS	3,76	0,83	2,71	0,37	1,36	0,61
SMM	41,1	54,35	45,21	54,58	43,57	52,95
SMD	8,95	6,51	9,87	9,13	9,7	9,27
SDD	5,88	6,33	0,21	6,41	-	
MMM	21,24	15,45	23,74	26,06	27,02	28,58
MMD	4,57	2,95	5,05	5,37	5,23	5,63
MDD	1,57	0,35	2,14	0,8	2,34	0,35
DDD	1,06	-	1,23	-	0,92	-
SUS	15,64	20,38	6,4	3,85	4,82	3,22
SUU	55,93	60,86	61,41	63,92	59,68	62,22
UUU	28,44	18,75	32,16	32,23	35,51	34,56

A partir do acima segue que as frações oleína da invenção possuem um valor SMS substancialmente menor que o dos óleos de partida.

10 3. Fracionamento por solvente de óleos de alto teor oléico e alto teor palmítico

15 outros óleos saturados provenientes de girassol, tal como o óleo de alto teor oléico e alto teor palmítico proveniente de CAS-12, foram também fracionados e uma fração oleína obtida. Essa fração oleína tinha reduzidas quantidades de TAG di-saturado.

A composição TAG do óleo de girassol de alto teor oléico e alto teor palmítico (HOHP de CAS- 12) original e

das frações obtidas com acetona a 0 e -5° C após 24 h, denominadas Sup.1 e Sup. 2 respectivamente, são mostrados na tabela 8.

A composição TAG pode ser mostrada como classes TAG. A tabela 9 mostra as classes de TAG do óleo HOHP original e das frações Sup. 1 e Sup. 2.

As frações oleína possuem uma quantidade reduzida de TAG di-saturado, tal como SMS e uma quantidade aumentada de TAG mono-saturado e TAG tri-insaturada tal como SMM e
10 MMM.

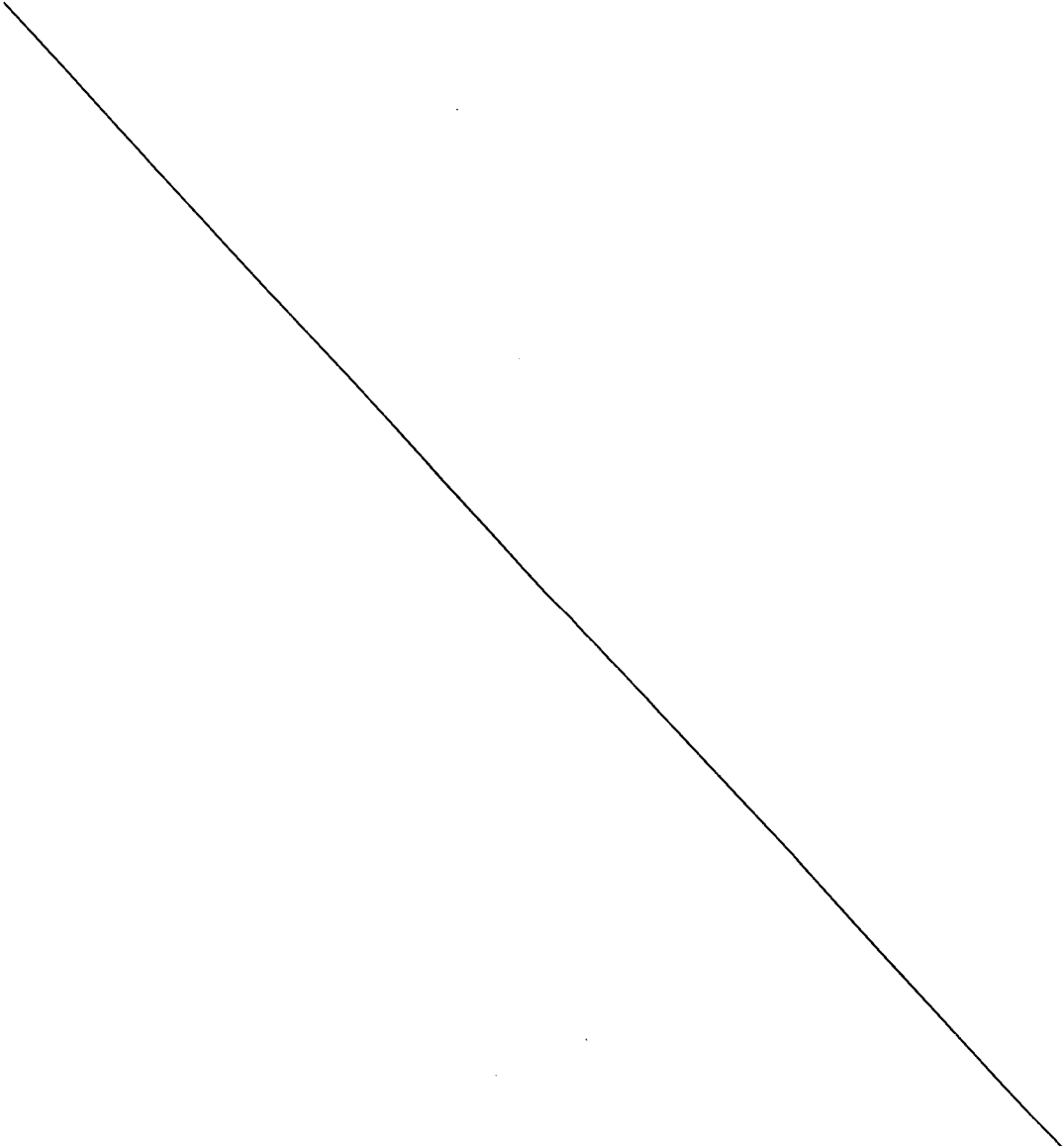


Tabela 8.- Composição triacilglicerol de óleo de alto teor oléico e alto teor palmítico (CAS- 12) e diferentes frações preparadas com acetona a 0 °C (sobrenadante 1) e a -5°C (sobrenadante 2).

Triacilglicerídeo	Composição do triacilglicerídeo (mol %)		
	HOHP	Sup. 1	Sup. 2
PPoP	0,62	0,71	0,35
PPoPo	0,28	0,44	0,64
POP	17,5	7,02	2,26
PAsP	0,66	-	0,29
PPoO	9,87	16,46	13,44
PPoL	1,3	2,49	2,64
POE	1,85	0,64	0,48
POO	30,9	36,31	29,73
POAs	5,41	7,07	7,01
POL	8,22	12,3	12,54
PoOO	1,41	-	2,68
PoOL	0,54	0,56	0,82
EOE	0,25	-	-
EOO	2,22	1,99	3,67
OOO	10,99	8,08	13,38
OOAs	3,74	3,35	5,57
OOL	1,43	0,92	1,49
POB	0,96	0,15	0,4
OOA	0,25	0,22	0,4
OOB	1,02	0,59	1,2

- 5 P = ácido palmítico = 16:0; Po= ácido palmitoléico = 16:1;
 E = ácido esteárico = 18 :0; O = ácido oléico = 18 : 1 ^{Δ9};
 As= ácido asclépico= 18:1^{Δ11}; L = ácido linoléico = 18:2; A
 = ácido araquídico = 20:0; B = ácido beênico = 22:0

Tabela 9 - Composição da classe triacilglicerídeo de óleo com alto teor oléico e alto teor palmítico e diferentes frações preparadas pelo fracionamento com acetona a 0 °C (sobrenadante 1) e -5°C (sobrenadante 2). S = ácido graxo saturado, M = ácido graxo monoenólico e D = ácido graxo dienólico, U = ácido graxo insaturado.

Classes de Triacilglicerídeo	Composição do triacilglicerídeo (mol %)		
	HOHP	Sup. 1	Sup. 2
SMS	21,84	8,52	3,78
SDS	-	-	-
SMM	49,95	63,08	56,09
SMD	9,52	14,79	15,18
SDD	-	-	-
MMM	16,14	11,43	21,63
MMD	1,97	1,48	2,31
MDD	-	-	-
DDD	-	-	-
SUS	21,84	8,52	3,78
SUU	59,47	77,87	71,27
UUU	18,11	12,91	23,94

4. Fracionamento a seco dos óleos

Óleos foram fracionados sem solventes através de resfriamento dos óleos por 24-48 h sem qualquer solvente. Os precipitados resultantes foram sedimentados por centrifugação a 5000 x g por 30 min na temperatura de fracionamento. As oleínas foram separadas como os sobrenadantes. As temperaturas do fracionamento variaram na faixa de 12 a 0 °C. O fracionamento a seco é descrito em "Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles e Modern

Practices", 1990, World Conference Proceedings, American Oil Chemists' Society, pages. 136-141 e 239-245.

Durante o armazenamento em baixa temperatura cristais de TAG saturados são formados e podem ser separados do óleo líquido através de centrifugação, prensagem a frio, etc. Alguns exemplos de fracionamento a seco são mostrados na tabelas 10 e 11. Óleo de alto teor oléico e alto teor esteárico original foi mantido a 9,5 °C, e a oleína chamada sup 1 foi recuperada como o sobrenadante. Oleína Sup 1 foi em seguida fracionada a 5°C por 24h, resultando numa oleína chamada sup 2 como o sobrenadante. Sup 2 foi em seguida fracionada novamente a 2,5 °C por 24 h e sup 3 nas tabelas 10 e 11 foi obtida.

Como no fracionamento por solvente, o TAG di-saturado se reduz enquanto as espécies de TAG mais insaturadas aumentam. Os mesmos resultados encontrados como classes TAG podem ser encontrados na tabela 11.

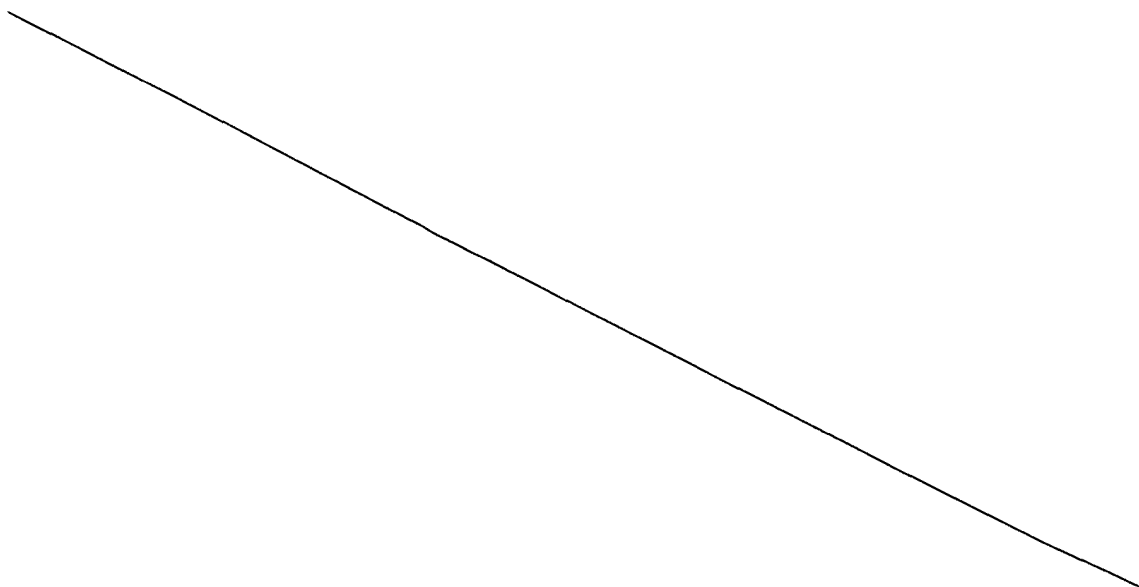


Tabela 10 - Composição triacilglicerol de óleo de alto teor oléico e alto teor esteárico (óleo obtido a partir de HOHS sementes) e diferentes frações preparadas através do fracionamento a seco a 9,5 °C (sobrenadante 1), 5°C (sobrenadante 2) e 2.5°C (sobrenadante 3).

Triacilglicerídeo	Composição do triacilglicerídeo (mol %)			
	HOHS	Sup. 1	Sup. 2	Sup. 3
POP	0,56	0,46	0,51	0,45
POE	3,38	2,36	2,19	2,34
POO	7,18	7,9	8	8,21
PLE	-	-	0,19	-
POL	0,98	1,18	1,14	1,07
EOE	6,7	3,15	2,82	2,81
EOO	36,65	39,46	37,38	38,23
ELE	0,47	-	0,33	0,3
OOO	25,42	27,78	28,52	28,59
EOL	4,98	5,22	5,33	5,13
OOL	4,76	4,96	5,13	5,01
OLL	0,32	-	0,37	0,22
EOA	0,98	0,39	0,4	0,31
OOA	2,87	3,06	2,98	3,01
OLA	0,27	-	0,26	0,27
EOB	0,82	-	0,28	0,24
OOB	3,47	4,1	3,81	3,41
OLB	0,2	-	0,31	0,38

P = ácido palmítico = 16:0; E = ácido esteárico = 18:0; O = ácido oléico = 18:1 ; L = ácido linoléico = 18:2; A = ácido araquídico = 20:0; B = ácido beênico = 22:0

Tabela 11 - Composição da classe triacilglicerídeo do óleo de alto teor oléico e alto teor esteárico (óleo obtido a partir de HOHS sementes) e diferentes frações preparadas através do fracionamento a seco a 9,5°C (sobrenadante 1), 5°C (sobrenadante 2) e 2,5°C (sobrenadante 3). S = ácido graxo saturado, M = ácido graxo monoenólico e D = ácido graxo dienólico.

Classe TAG	Composição do triacilglicerídeo (mol %)			
	HOHS	Sup. 1	Sup. 2	Sup. 3
SMS	12,44	6,36	6,2	6,15
SDS	0,47	0	0,52	0,3
SMM	50,17	54,52	52,17	52,86
SMD	6,43	6,4	7,04	6,85
SDD	-	-	-	-
MMM	25,42	27,78	28,52	28,59
MMD	4,76	4,96	5,13	5,01
MDD	0,32	0	0,37	0,22
DDD	-	-	-	-
SUS	12,91	6,36	6,72	6,45
SUU	56,6	60,92	59,21	59,71
UUU	30,5	32,74	34,02	33,82

O fracionamento a seco de um dado óleo é muito dependente das temperaturas usadas para a cristalização dos triacilglicerídeos. Portanto, a composição das resultantes frações oleína foi diferente. Os dados estabelecidos nas tabelas 12 e 13 abaixo são representativos quanto ao fracionamento a seco de um óleo de alto teor oléico e alto teor esteárico, seqüencialmente a 12, 2,5 e 0 °C por 24 h.

O fracionamento do óleo em temperaturas mais baixo

produziu mais oleína líquida com um mais baixo teor de TAGs da forma SMS e um teor maior das classes mais insaturadas do tipo MMM ou MMD. A ocorrência das TAGs da forma SMM atingiu um máximo na sup 1 e em seguida reduziu ligeiramente em sup 2 e sup 3, aumentando as espécies mais insaturadas do tipo MMM e MMD.

Tabela 12. Composição triacilglicerol do óleo de alto teor oléico e alto teor esteárico e diferentes frações preparadas através do fracionamento a seco at 12⁰C (sup 1), 2.5⁰C (sup. 2) e 0 °C (sup. 3).

Triacilglicerídeo	Composição do triacilglicerídeo (mol %)			
	HOHS 310	Sup. 1	Sup. 2	Sup. 3
POP	0,56	0,47	0,47	0,32
POE	3,78	2,58	2,42	1,61
POO	7,55	7,35	7,68	8,17
POL	0,92	1	1,04	0,99
EOE	7,45	3,88	3,18	1,74
EOO	38,49	41,63	40,75	37,3
OOO	24,77	26,02	27,38	32,1
EOL	4,44	5,19	5,11	4,93
OOL	4,14	4,62	4,86	6,09
OLL	0,29			
EOA	1	0,52	0,3	
OOA	2,58	2,75	2,83	3,06
EOB	1,34	0,9	0,76	
OOB	2,99	3,1	3,23	3,41

P = ácido palmítico = 16:0; E = ácido esteárico = 18:0; O = ácido oléico = 18:1 ; L = ácido linoléico = 18:2; A = ácido araquídico = 20:0; B = ácido beênico = 22:0

Tabela 13 - Composição da classe triacilglicerídeo do óleo de alto teor oléico e alto teor esteárico e diferentes frações preparadas através do fracionamento a seco a 12°C (sobrenadante 1), 2,5°C (sobrenadante 2) e 0 °C (sobrenadante 3). S = ácido graxo saturado, M = ácido graxo monoenólico e D = ácido graxo dienólico, U = ácido graxo insaturado.

Classe de Triacilglicerídeo	Composição do triacilglicerídeo (mol %)			
	HOHS 310	Sup. 1	Sup. 2	Sup. 3
SMS	14,13	8,35	7,13	3,67
SDS				
SMM	51,61	54,83	54,49	51,94
SMD	5,36	6,19	6,15	5,92
SDD				
MMM	24,77	26,02	27,38	32,1
MMD	4,14	4,62	4,86	6,09
MDD	0,29			
DDD				
SUS	14,13	8,35	7,13	3,67
SUU	56,97	61,02	60,64	58,15
UUU	28,91	30,64	32,24	38,48

EXEMPLO 4

Determinação do ponto de turvação

10 Para muitos propósitos um óleo líquido é preferível, por exemplo para fritura profunda a maioria das empresas preferem óleo líquidos para evitar isolamento térmico e aquecimento para evitar a solidificação das gorduras. O ponto de turvação é definido como a temperatura

15 na qual o óleo se torna turvo devido à solidificação dos

TAGs em dadas condições. Ele mede quando um óleo começou a ser sólido e alguns cristais de gordura sólida surgem devido a baixa temperatura. Óleos com pontos de turvação mais baixos são líquidos em baixas temperaturas. Também, quando produtos alimentícios precisam ser armazenados em refrigerador, um óleo líquido com um ponto de turvação próximo ou abaixo de 0 °C é preferível.

Para medir o ponto de turvação das frações oleína com diferentes teores de SUS e óleos controle, quantidades de 10 g de cada um foram transferidos para tubos com tampa rosqueada e foram aquecidos a 80 °C para remover quaisquer traços de sólidos. Em seguida eles foram removidos para um banho termo-estabilizados favorecido com uma lâmpada e uma janela para permitir a verificação da turbidez dos óleos. A temperatura inicial do banho foi de 30 °C, em seguida a temperatura foi reduzida numa taxa de 2 °C a cada 20 minutos, para atingir uma temperatura final de -10 °C. Os pontos de turvação foram estabelecidos visualmente como a temperatura nas quais um dado óleo se tornava turvo.

Os pontos de turvação de algumas frações oleína provenientes do óleo de alto teor oléico e alto teor esteáricos foram determinadas. A composição triacilglicerídeo dessas frações oleína está na Tabela 14.

Tabela 14 - Composição da classe Triacilglicerídeo das frações oleína usadas para determinar o ponto de turvação.

S = ácido graxo saturado, M = ácido graxo monoenólico e D = ácido graxo dienólico

Oleína	SMS	SDS	SMM	SMD	SDD	MMM	MMD	MDD	DDD
A	3,1		54,2	3,5		34,4	4,4	0,4	
B	0,7		43,0	5,1		44,8	6,1		
C	3,7		51,9	5,9		32,1	6,1	0,3	
D	7,1		54,5	6,2		4,9	4,9		

5 A Tabela 15 mostra que o ponto de turvação do óleo padrão e do óleo de alto teor oléico são iguais, sendo de - 8 °C. Portanto, eles começaram a se tornar sólidos em temperaturas abaixo de 0 °C, mas os óleos altamente saturados possuem ponto de turvação acima de 20 °C, eles

10 solidificam no refrigerador. As frações oleína preparadas pelo fracionamento a seco ou por solvente de um óleo de alto de um óleo de alto teor oléico e alto teor esteárico possuem pontos de turvação próximos a 0 °C e abaixo e

15 comportamento deles em temperaturas de refrigerador é similar ao do óleo padrão e ao do óleo de alto teor oléico.

Tabela 15 - Pontos de turvação de diferentes óleos e frações oleína HOHE

Óleo de girassol	Teor de SUS (%)	Ponto de Turvação (°C)
Padrão (CAS-6)	2	-8
Alto teor oléico (CAS-9)	1	-8
Alto teor oléico e alto teor esteárico (CAS-15)	19	24
Oleína A	3	-4
Oleína B	1	-6
Oleína C	4	-1
Oleína D	7	4

EXEMPLO 5

Termoestabilidade

5 1. *Purificação dos TAGs*

TAGs provenientes de diferentes óleos e frações oleína (Sup. 1_253 e Sup. 2 253 do exemplo 3; Tabela 6) foram purificados e esvaziados de tocoferóis antes de realizar os estudos da termoestabilidade mediante utilizar o protocolo descrito no exemplo 3.

Quando do aquecimento a qualidade de um óleo pode se deteriorar porque os TAGs que constituem o óleo são oxidados e/ou polimerizados. Para testar a termoestabilidade um tratamento térmico a 180 °C durante 10 h foi realizado como a seguir.

2. *Tratamento termo-oxidante*

o tratamento termo-oxidante das amostras foi realizado sob condições estritamente controladas de acordo

com Barrera- Arellano et al. (Grasas Aceites 48, 231-235 (1997)). Em resumo, $2,00 \pm 0,01$ g de TAG purificado foram pesados em tubos de ensaio padrão de 13 cm vezes 1 cm de diâmetro interno, e por sua vez introduzidos dentro de um forno a $180,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Amostras de 50 mg foram retiradas em intervalos de 2 horas para a análise do TAG polimerizado. Após aquecimento durante um período total de 10 h, as amostras finais foram retomadas e adicionalmente analisadas quanto a compostos polares e distribuição em monômeros TAG oxidados e polímeros TAG. As instruções do Rancimat™ foram cuidadosamente observadas quanto a limpeza dos vasos e correção da temperatura. Não foi aplicado borbulhamento de ar durante o aquecimento e os vasos foram deixados abertos.

3. *Quantificação dos TAGs*

TAG polimerizado nos diversos óleos foram quantificado através de cromatografia de exclusão de tamanho de alta performance (HPSEC) seguindo uma modificação do Método Padrão IUPAC 2508 (supra) por meio do uso de um detector de espalhamento de luz em lugar de um detector do índice de refração no HPLC. Os compostos polares totais e a distribuição deles nos monômeros TAG oxidados e polímeros de TAG foram determinados através de uma combinação de cromatografia de adsorção e HPSEC (Dobarganes et al. Fat Sci. Technol. 90, 308-311 (1988)).

As condições aplicadas para HPSEC foram como a seguir: As separações foram realizadas em um Módulo Waters

2695 (Milford, MA) favorecido com detector ELS Waters 2420. Os dados foram processados usando um software Empower. Colunas Ultrastyrigel (Waters Associates, Milford, Mass., USA) conectadas em série e operadas a 35°C (25 cm .vezes.0.77 cm diâmetro interno), foram recheadas com estireno divinil benzeno altamente reticulado (<10 Åm). Tetraidrofurano de grau HPLC serviram como a fase móvel com um fluxo de 1 mL/min. Soluções de amostras de 50 mg óleo/mL e 15 mg compostos polar/mL em tetraidrofurano foram usadas para a análise do TAG polimerizado e distribuição dos compostos polares, respectivamente.

4. Monitoramento das alterações do TAG

O monitoramento da formação de dímeros, polímeros e TAGs alterados em condições similares às aquelas usadas em frituras industriais e domésticas dá informações acerca da estabilidade oxidativa dos dados óleos e frações. Portanto, TAGs purificados a partir de óleo comum de girassol, que era rico em ácido linoléico CAS-6 (Salas et al. JAOCS 83:539-545 (2006)) (Tabela 5) revelou a mais alta taxa de polimerização (Figura 1), atingindo 28 % de TAGs polimerizados após 10 h a 180 °C.

No óleo de alto teor oléico CAS-9 (Fernandez-Moya et al. J. Agric. Food Chem.53:5326- 5330 (2005)) os TAGs foram mais estáveis que no óleo de girassol comum mas eles polimerizaram mais rapidamente que aqueles proveniente de ambos os sobrenadantes obtidos mediante fracionamento de

óleos HOHS (Sup. 1 253 e Sup. 2 253 do exemplo 3; Tabela 6) a 0 °C e -5 °C.

Desse modo, essas frações oleína, contendo altos níveis de TAGs da forma SUU e baixos níveis de SUS 5 apresentaram estabilidades maiores que os óleos de girassol comum e de alto teor oléico bem como pontos de turvação mais baixos, o que as torna óleos líquidos estáveis para fritura, cozimento, assados, uso culinário e produção de maionese de alta estabilidade, maionese 'light', maionese 10 de baixo teor de gordura, mostarda, ketchup, molho tártaro, alimentos para espalhar em sanduíche, molhos engarrafados para saladas, molhos de saladas, alimentos pré-cozidos, sopas pré-preparadas, molhos, cremes, etc.

Óleos de alto teor oléico e de alto teor esteárico 15 HOHS 17% e HOHS 20% (Tabela 5) e óleo de alto teor palmítico e alto teor oléico (CAS-12) apresentaram taxas similares de polimerização, ligeiramente mais baixa que o sobrenadante de 0 °C devido ao seu teor maior de ácidos graxos saturados, o que os torna semi-sólidos na 20 temperatura ambiente.

Além disso, dados correspondentes aos TAGs alterados após 10 h a 180 °C estavam em boa concordância com o gráfico de polimerização (tabela 16). Óleo comum e óleo de alto teor oléico apresentaram o maior conteúdo de 25 TAGs alterados, seguido pelas frações oleína isoladas a partir dos sobrenadante 1 e sobrenadante 2 dos óleos HOHS,

orientando novamente que estes eram óleos líquidos estáveis. O teor mais baixo de TAGs alterados foi descoberto em óleos HOHS e HOHP semi-sólidos altamente saturados. Esses últimos óleos são todavia não líquidos e podem se tornar sólidos durante o transporte ou o armazenamento em baixas temperaturas.

Tabela 16 Composição triacilglicerídeo alterada de diferentes óleos e frações oleína após 10 h a 180°C.

	TAGs alterados (% p/p)			
	Monômeros	Dímeros	Oligômeros	Total
Padrão (CAS-6)	8,8	10,2	17,4	26,3
Alto teor oléico (CAS-9)	12,4	9,6	6,1	28,1
Alto teor oléico e alto teor palmítico (CAS-12)	8,3	5,9	2,9	17,1
HOHS 17%E	7,8	6,0	3,4	17,3
HOHS 20%E	8,2	5,5	2,8	16,5
Sobrenadante 0 °C	9,4	7,1	4,7	21,3
Sobrenadante -5 °C	10,8	8,5	6,4	25,7

- REIVINDICAÇÕES -

1. FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, caracterizada por

a. menos que 8,6% das espécies TAG da referida
5 fração oleína possuírem a fórmula geral SMS e

b. pelo menos 26% das espécies TAG da referida
fração oleína possuírem a fórmula geral SMM

em que S representa um ácido graxo saturado e M
representa a ácido graxo monoenólico, cuja fração oleína é
10 possível de ser obtida mediante:

fracionamento de um óleo de girassol altamente
saturado com alto teor oléico; e

coletar a fração líquida.

2. Fração oleína líquida e estável, de acordo com a
15 reivindicação 1, caracterizada por o fracionamento ser um
fracionamento em baixa temperatura.

3. Fração oleína líquida e estável, de acordo com a
reivindicação 2, caracterizada por o fracionamento em baixa
temperatura ser um fracionamento a seco, compreendendo as
20 seguintes etapas:

reduzir a temperatura do óleo para 12 °C, mais
preferivelmente 9,5 °C, ainda mais preferivelmente 5°C,
opcionalmente com agitação;

separar a oleína da fração sólida; e

25 opcionalmente fracionar a oleína resultante
novamente a 2,5 °C, mais preferível 0 °C para obter uma

fração oleína menos saturada.

4. Fração oleína líquida e estável, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada por o fracionamento em baixa temperatura ser um fracionamento a seco, consistindo das seguintes etapas:

reduzir a temperatura do óleo para 12 °C, mais preferivelmente 9,5 °C, ainda mais preferivelmente 5°C, opcionalmente com agitação; e

separar a oleína da fração sólida.

5. Fração oleína líquida e estável, de acordo com a reivindicação 4, caracterizada por o fracionamento em baixa temperatura adicionalmente conter a etapa de fracionar a oleína resultante novamente a 2,5 °C, mais preferível 0 °C para obter uma fração oleína menos saturada.

6. Fração oleína líquida e estável, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada por o fracionamento em baixa temperatura ser um fracionamento por solvente, compreendendo as seguintes etapas:

misturar o óleo com um solvente orgânico do tipo acetona, hexano ou éter etílico;

reduzir a temperatura da solução óleo para 0°C, preferivelmente -5°C;

separar a oleína da fração sólida; e

opcionalmente recuperar a oleína mediante remover o solvente do sobrenadante.

7. Fração oleína líquida e estável, de acordo com a

reivindicação 2, caracterizada por o fracionamento em baixa temperatura ser um fracionamento por solvente, consistindo das seguintes etapas:

5 misturar o óleo com um solvente orgânico do tipo acetona, hexano ou éter etílico;

reduzir a temperatura da solução óleo para 0°C, preferivelmente -5°C; separar a oleína da fração sólida.

8. Fração oleína líquida e estável, de acordo com a reivindicação 7, caracterizada por o fracionamento
10 adicionalmente conter a etapa de recuperar a oleína mediante remover o solvente do sobrenadante.

9. Fração oleína líquida e estável, de acordo com a reivindicação 8, em que o solvente é removido do sobrenadante por destilação a vácuo.

15 10. Fração oleína líquida e estável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-9, caracterizada por o óleo de girassol altamente saturado com alto teor oléico ser um óleo de girassol de alto teor oléico e alto teor esteárico possível de ser obtido mediante extrair sementes
20 de alto teor oléico e alto teor esteárico as quais são possíveis de serem obtidas pelo cruzamento de CAS-3 (ATCC 75968) e um mutante de alto teor tioesterase com o número de depósito ATCC PTA-628.

11. Fração oleína líquida e estável, de acordo com
25 qualquer uma das reivindicações 1-9, caracterizada por o óleo de girassol altamente saturado com alto teor oléico

ser óleo de girassol de alto teor palmítico possível de ser obtido mediante extrair sementes da linhagem de girassol IG-1297M, cujas sementes foram depositadas em 20 Janeiro de 1998 sob o número de acesso ATCC-209591

5 12. Fração oleína líquida e estável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-9, caracterizada por o óleo de girassol altamente saturado com alto teor oléico ser um óleo de girassol de alto teor oléico e alto teor palmítico com baixo teor palmitoléico e baixo teor
10 asclépico possível de ser obtido mediante extrair sementes da linhagem de girassol CAS-25, cujas sementes são possíveis de serem obtidas mediante o cruzamento de IG-1297M (ATCC 209591) e CAS-3 (ATCC 75968).

15 13. Fração oleína líquida e estável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-12, caracterizada por o teor de ácido linolênico total na referida fração oleína ser mais baixo que 0,5%.

20 14. Fração oleína líquida e estável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-13, caracterizada por o teor de ácido linoléico na referida fração oleína ser mais baixo que 15%, preferivelmente mais baixo que 10%, preferivelmente mais baixo que 5% .

25 15. Fração oleína líquida e estável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-14, caracterizada por menos que 6%, preferivelmente menos que 4% das espécies TAG da referida fração oleína possuírem a fórmula geral SMS.

16. Fração oleína líquida e estável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-15, caracterizada por pelo menos 30%, preferivelmente pelo menos 35%, mais preferivelmente pelo menos 45% das espécies TAG da referida oleína possuírem a fórmula geral SMM.

17. Fração oleína líquida e estável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-16, caracterizada por possuir menos que 8%, preferivelmente menos que 5%, mais preferivelmente menos que 3% de ácidos graxos saturados na posição sn-2 dos TAGs que constituem a referida fração oleína.

18. Fração oleína líquida e estável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-17, caracterizada por possuir um ponto de turvação mais baixo que 5°C, preferivelmente mais baixo que 0°C, mais preferivelmente mais baixo que -6°C.

19. MÉTODO PARA A PREPARAÇÃO DE UMA FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, caracterizado por ser mediante o fracionamento em baixa temperatura de um óleo de girassol altamente saturado, de alto teor oléico.

20. Método, de acordo com a reivindicação 19, caracterizado por o fracionamento em baixa temperatura ser um fracionamento a seco, que inclui as seguintes etapas:

reduzir a temperatura do óleo para 12 °C, preferivelmente 9,5 °C, mais preferivelmente 5 °C, com ou sem agitação;

separação da oleína da fração sólida; e
opcionalmente fracionar a oleína resultante
novamente a 2,5 °C, mais preferível 0 °C para obter uma
fração oleína menos saturada.

5 21. Método, de acordo com a reivindicação 12,
caracterizado por o fracionamento em baixa temperatura ser
um fracionamento por solvente que inclui as seguintes
etapas:

misturar o óleo com um solvente orgânico do tipo
10 acetona, hexano ou éter etílico;

reduzir a temperatura da solução óleo para 0 °C,
preferivelmente -5 °C;

separar a oleína da fração sólida;

opcionalmente recuperar a oleína mediante remover o
15 solvente do sobrenadante por destilação a vácuo.

22. USO DE UMA FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, de
acordo com qualquer uma das reivindicações 1-18,
caracterizado por ser para a produção de molhos,
particularmente maionese, maionese 'light', maionese com
20 reduzido teor de gordura, mostarda, ketchup, molho tártaro,
alimentos para espalhar em sanduíche, molhos engarrafados
para saladas, molhos de saladas, alimentos pré-cozidos,
sopas ou cremes pré-preparados, e sorvetes ou tortas de
sorvete.

25 23. USO DE UMA FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, de
acordo com qualquer uma das reivindicações 1-18,

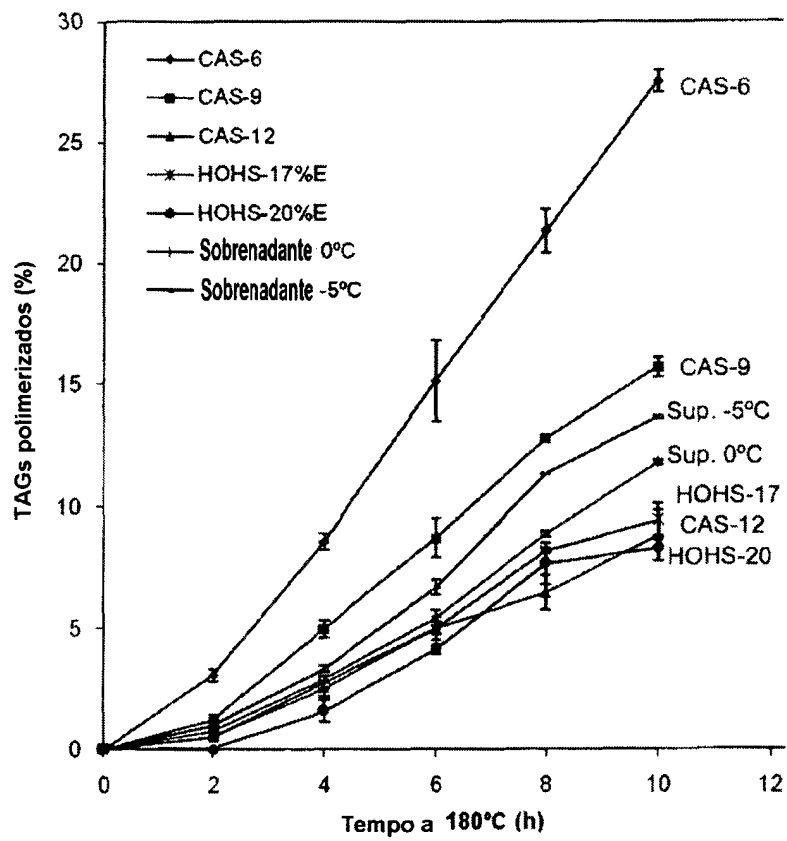
caracterizado por ser em condições de alta temperatura através do aquecimento mediante quaisquer meios em temperaturas de pelo menos 100 °C e em particular para fritura, cozimento, uso culinário e assados.

5 24. Uso, de acordo com a reivindicação 23, caracterizado por as condições de alta temperatura compreenderem temperaturas de pelo menos 160 °C, mais preferivelmente de pelo menos 180 °C.

10 25. MISTURA ÓLEO, caracterizada por incluir uma fração oleína líquida e estável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 to 18.

15 26. USO DE UMA FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-18, caracterizado por ser em processo industrial do tipo enzimático ou interesterificação química e posterior fracionamento do óleo.

Fig. 1



- RESUMO -

FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, MÉTODO PARA A PREPARAÇÃO DE UMA FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, USO DE UMA FRAÇÃO OLEÍNA LÍQUIDA E ESTÁVEL, E MISTURA ÓLEO

5 A presente invenção está relacionada a uma fração oleína líquida estável em que menos que 8,6% das espécies TAG da referida fração oleína possuem a fórmula geral SMS e pelo menos 26% of espécies TAG da referida fração oleína possuem a fórmula geral SMM, em que S representa um ácido graxo saturado e M representa a ácido graxo monoenólico,
10 cujas fração oleína é possível de ser obtida mediante fracionamento de um óleo de girassol altamente saturado com alto teor oléico; e coleta da fração líquida. A invenção adicionalmente está relacionada a um método para a
15 preparação de uma fração oleína líquida estável mediante o fracionamento em baixa temperatura de um óleo de girassol altamente saturado, de alto teor oléico.