

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 593 787**

51 Int. Cl.:

C11B 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2008 E 08016943 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.06.2016 EP 2053118**

54 Título: **Desgomado de aceite libre de emulsificación**

30 Prioridad:

26.10.2007 US 924718

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

13.12.2016

73 Titular/es:

**OILSEEDS BIOREFINERY CORPORATION
(100.0%)
2ND FLOOR, CAYSIDE, HARBOUR DRIVE P.O.
BOX 30592 S.M.B.
GEORGE TOWN, GRAND CAYMAN, KY**

72 Inventor/es:

CHOU, CHIH-CHUNG

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 593 787 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Desgomado de aceite libre de emulsificación

5 **ANTECEDENTES**

El aceite vegetal en bruto, que contiene fosfátidos, no se puede utilizar directamente como materia prima para biocombustible. Más específicamente, los fosfátidos interfieren con la transesterificación, una reacción a la que se somete una materia prima para biocombustible. Por lo tanto, el aceite vegetal en bruto necesita ser refinado en un procedimiento denominado desgomado del aceite para eliminar los fosfátidos y otras sustancias no deseadas.

10 Los procedimientos convencionales de desgomado implican emulsificación, lo que plantea una serie de problemas. Por ejemplo, a menudo se requiere para efectuar la emulsificación, un mezclador de alto cizallamiento, un instrumento costoso. También, cuando se emplea emulsificación, a menudo es difícil controlar la calidad del desgomado.

15 Por el documento JP 11228986, se conoce un método de desgomado de la industria de refinado del aceite, en donde la producción de aceite de cocina comprende una etapa en la que un aceite o similar, se hace reaccionar con agua y fosfolipasa. Después de la reacción, el hidrolizado producido se separa por centrifugación.

20 Por tanto, es deseable desarrollar un nuevo método de desgomado que esté libre de emulsificación.

SUMARIO

25 Esta invención presenta un método libre de emulsificación para eliminar los fosfátidos del aceite en bruto. Este método incluye las cinco etapas siguientes: (1) proporcionar aceite en bruto obtenido de una fuente vegetal o animal que contiene fosfátidos no hidratables, (2) tratar el aceite en bruto con fosfolipasa inmovilizada para efectuar la conversión del fosfátido no hidratable a fosfátido hidratable, (3) mezclar el aceite en bruto tratado con agua pura o con una solución acuosa para formar una mezcla que tiene una fase oleosa y una fase acuosa, (4) permitir la separación de la fase oleosa y la fase acuosa, y (5) recoger la fase oleosa.

30 El aceite en bruto utilizado en la etapa (1) se puede extraer de una planta (por ejemplo, soja o girasol) con un disolvente adecuado (por ejemplo, éster alquílico de ácido graso o hexano). El aceite en bruto se puede obtener también mediante la separación de la grasa de una fuente animal y después la mezcla de la grasa con un disolvente adecuado (por ejemplo, éster alquílico de ácido graso). Cuando se utiliza un éster alquílico de ácido graso, éste se obtiene preferiblemente haciendo reaccionar alcohol con triglicéridos extraídos de la misma fuente vegetal o animal.

35 La fosfolipasa utilizada en la etapa (2) puede ser PLA1, PLA2, PLC, PLD, o una combinación de las mismas. Esta etapa está libre de emulsificación.

40 En la etapa (3), el aceite en bruto tratado se puede mezclar con una solución acuosa que contiene un ácido (por ejemplo, ácido cítrico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido tartárico o ácido fosfórico), un agente quelante (por ejemplo, ácido etilendiaminotetraacético, ácido β -alanindiacético, ácido nitrilotriacético, ácido dietilentriaminopentaacético, ácido hidroxietilendiaminotriacético, o iminodiacetato), o ambos. La solución acuosa puede contener además un tensioactivo, por ejemplo, dodecil sulfato de sodio o lauril sulfato de sodio. La etapa (3) también está libre de emulsificación.

45 El método de esta invención puede incluir una etapa adicional. Esto es, el aceite en bruto, antes de ser tratado con fosfolipasa, se extrae con agua pura o con la solución acuosa descrita anteriormente para eliminar las sustancias solubles en agua.

50 Los detalles de una o más realizaciones de la invención se indican en la siguiente descripción. Otras características, objetos y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la descripción y de las reivindicaciones.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

55 La presente invención tiene por objeto el desgomado del aceite, esto es, eliminar los fosfátidos y otras sustancias no deseadas del aceite en bruto. El desgomado de aceite se consigue tratando en primer lugar el aceite en bruto, libre de emulsificación, con fosfolipasa y después, extrayendo el aceite en bruto tratado con fosfolipasa con agua/solución acuosa, también libre de emulsificación.

60 Más específicamente, el aceite en bruto, obtenido de una fuente vegetal o de una fuente animal (por ejemplo, el ganado), se trata por fosfolipasa inmovilizada. Los ejemplos de plantas incluyen pero no se limitan a soja, cacahuete, semilla de girasol, semilla de colza, maíz, semilla de jatrofa, semilla de karanja, semilla de neem, semilla de mahua, semilla de ricino, semilla de caucho, semilla de algodón, almendra de palma, oliva, almendra, semilla de babassu, semilla de ben, semilla de cardo, semilla de camelina, linaza, almendra de la avellana, semilla de cáñamo,

semilla de mostaza, semilla de jojoba, semilla de amapola, semilla de cártamo, semilla de sésamo, granos de trigo, semilla del árbol de la sal, semilla de crambe, semilla de cufea, semilla de nahor, semilla de tabaco, alage, salvado de arroz, pulpa de fruto de palma, madera amarilla, u otros descritos en la solicitud de patente US 20070218175.

5 El aceite en bruto se puede preparar por métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante la extracción de una planta con un disolvente adecuado o mediante la transformación (*rendering*) de un tejido animal. El término "transformación" se refiere a un procedimiento que separa la grasa de un tejido animal, por ejemplo, tejido graso, huesos, y despojos. En un ejemplo, el aceite en bruto se prepara por extracción de una planta con éster alquílico de ácido graso obtenido haciendo reaccionar alcohol con triglicéridos extraídos de la misma planta. Véanse las
10 solicitudes de patentes de Estados Unidos 2006/0063241 y 2007/0218175. En otro ejemplo, el aceite en bruto se obtiene por la transformación de tejido graso animal para producir la grasa y después la mezcla de la grasa con éster alquílico de ácido graso. El aceite en bruto se trata después con fosfolipasa inmovilizada. Para obtener la fosfolipasa inmovilizada, se unen uno o más tipos de fosfolipasa a un soporte adecuado por adsorción u otros métodos bien conocidos en la técnica. Véase *Enzymes in Lipid Modification*, editado por U.T. Bomscheuer, Wiley-VCH, páginas 266-288 (2000). Un soporte adecuado es aquel que no inhibe la actividad de la enzima inmovilizada sobre él. El soporte, con la fosfolipasa unida, se coloca en un reactor, por ejemplo, un reactor de lecho fijo o un reactor de tanque con agitación continua. El reactor se puede llenar con el aceite en bruto, ya sea antes o después de que el soporte sea colocado en el reactor. La fosfolipasa inmovilizada convierte el fosfátido no hidratable del aceite en bruto en fosfátido hidratable. El término "fosfátido" utilizado en la presente memoria abarca diversos tipos
20 de fosfátidos derivados de cualquier fuente vegetal o animal. Esta reacción enzimática, libre de emulsificación, se lleva a cabo a una temperatura adecuada (es decir, de 10 a 100° C, preferiblemente 10 a 75° C, o 10 a 50° C) durante un tiempo adecuado que permita la conversión máxima.

El aceite en bruto tratado con la fosfolipasa se somete después a extracción con agua pura o con una solución acuosa que contiene un agente quelante o un ácido, para eliminar el fosfátido hidratable resultante y otras sustancias no deseadas. Este procedimiento de extracción está también libre de emulsificación. Un ejemplo es el siguiente. El aceite en bruto tratado con la fosfolipasa se transfiere desde el reactor a otro recipiente, y se mezcla allí con agua a una relación de agua a aceite (v:v) de 0,05:1 a 2,0:1, preferiblemente 0,1:1 a 1,5:1. La mezcla así formada se agita durante un tiempo adecuado a una temperatura adecuada. Después de agitación, se deja que la mezcla se asiente hasta que se forma una fase oleosa y una fase acuosa. Alternativamente, se centrifuga la mezcla para conseguir la separación de agua-aceite. Después, se recoge la fase oleosa. La reacción enzimática descrita anteriormente y el procedimiento de extracción se pueden realizar secuencialmente durante una o más veces.

Es preferible que, antes de ser tratado con la fosfolipasa, el aceite en bruto sea extraído con agua pura o con una solución acuosa siguiendo los mismos procedimientos descritos anteriormente. En un ejemplo, el aceite en bruto se extrae con una solución acuosa que contiene 1 % de EDTA (p/v) como sigue. El aceite en bruto se mezcla con la solución de EDTA en un recipiente. La mezcla que se forma se agita durante un tiempo adecuado a una temperatura adecuada y después se deja separar en una fase acuosa y una fase oleosa. La fase oleosa se trata entonces por la fosfolipasa inmovilizada como se ha descrito antes.

El aceite desgomado, obtenido por el método de esta invención, se puede utilizar como materia prima de biocombustible. También se puede utilizar en la industria alimentaria u oleoquímica.

45 Sin elaboración adicional, se cree que la descripción anterior ha hecho posible de manera adecuada la presente invención. Los siguientes ejemplos, por lo tanto, se deben interpretar como meramente ilustrativos, y no limitativos en absoluto del resto de la descripción en modo alguno. Todas las publicaciones citadas en la presente memoria se incorporan a la misma como referencia en su totalidad.

Ejemplo 1: Desgomado de aceite en bruto libre de emulsificación

50 El aceite en bruto se extrajo de polvo de soja con hexano. El aceite en bruto, obtenido después de la eliminación del hexano por evaporación, se mezcló con éster metílico de ácido graso para preparar dos soluciones de aceite, una que contiene 33,3 % en peso de aceite (solución de aceite al 33,3 %), y la otra que contiene 10,0 % en peso de aceite (solución de aceite al 10 %).

55 Se inmovilizó Lecitasa Ultra (PLA1; obtenida de Novozymes, Dinamarca) sobre partículas de metacrilato (reticuladas, porosas) que tienen un tamaño de 0,3 a 1,0 mm, mediante adsorción física. Se incubaron 0,65 g de PLA1 inmovilizada en éster metílico de ácido graso durante la noche y después se transfirieron a tres matraces de 100 ml, conteniendo cada uno 5,7 g de aceite en bruto al 100 %, solución de aceite al 33,3 % y solución de aceite al 10,0 %, respectivamente. Se agitaron los matraces durante 60 minutos a 200 rpm para facilitar el contacto del aceite/solución de aceite con PLA1. La reacción enzimática se llevó a cabo a 25° C y después se eliminó la PLA1 inmovilizada tras la finalización de la reacción.

Una solución acuosa que contiene EDTA al 1 % (p/v) se mezcló con el aceite o la solución de aceite tratado con PLA1, en una relación de 1:1 (v/v). La mezcla así formada se agitó a 25° C, 200 rpm durante 60 minutos y después se centrifugó a 6000 rpm durante 15 minutos para efectuar la formación de una fase oleosa a partir de una fase acuosa. Se recogió la fase oleosa para análisis de fósforo, siguiendo el método Ca 12-55 (14) de la Sociedad americana de químicos del aceite.

En otra realización, antes del tratamiento con PLA1, el aceite en bruto fue pre-tratado con agua para eliminar las sustancias solubles en agua contenidas en el mismo. En resumen, el aceite en bruto se mezcló con agua en una relación de 1:1 (v/v) y se calentó a 75-80° C durante 15 minutos. Después de enfriar a temperatura ambiente, se centrifugó la mezcla de aceite-agua a 6000 rpm durante 15 minutos para permitir la formación de una fase oleosa y una fase acuosa. Se recogió la fase oleosa y se sometió al tratamiento con PLA1/EDTA como se ha descrito antes.

La Tabla 1 que sigue muestra que el tratamiento con PLA1/EDTA redujo notablemente las concentraciones de fósforo (que corresponden a los niveles de fosfátidos) en el aceite en bruto y en las soluciones de aceite, y que el pretratamiento con agua redujo aún más las concentraciones de fósforo en estas muestras de aceite.

Tabla 1. Concentraciones de fósforo en las muestras de aceite antes y después del tratamiento con PLA1/EDTA

Muestra de aceite	Aceite en bruto	Solución de aceite al 33,3 %	Solución de aceite al 10 %
Concentración de fósforo antes de tratamiento con PLA1/EDTA (ppm)	252,62	85,16	24,31
Concentración de fósforo después de tratamiento con PLA1/EDTA (ppm)	12,16	18,18	7,44
Concentración de fósforo después de pre-tratamiento con agua y tratamientos con PLA1/EDTA (ppm)	8,12	11,17	9,69

Se estudió también el efecto del éster metílico de ácido graso sobre la eficiencia del desgomado. El aceite en bruto se pre-trató en primer lugar con agua y después se mezcló con éster metílico de ácido graso para obtener soluciones que contienen 75 %, 66,66 %, 50 %, y 33,33 % en peso de aceite. Las soluciones de aceite se sometieron al tratamiento con PLA1/EDTA como se ha descrito anteriormente. Los resultados obtenidos de este modo indican que el éster metílico de ácido graso no afectó a la eficiencia de este procedimiento de desgomado. Más específicamente, después del tratamiento con PLA1/EDTA, los niveles de fósforo en el aceite en bruto (pretratado con agua) y en las soluciones de aceite al 75 %, 66,66 %, 50 %, y 33,33 % se redujeron de 44,95 ppm a 2,94 ppm, de 39,77 ppm a 5,54 ppm, de 33,47 ppm a 3,71 ppm, de 24,75 ppm a 3,56 ppm, y de 17,0 ppm a 6,56 ppm, respectivamente. Estos resultados indican además que el tratamiento con PLA1/EDTA disminuyó los niveles de fósforo en el aceite en bruto y en las soluciones de aceite, todos los cuales contenían diferentes concentraciones de fosfátido no hidratable, a un nivel similar. En otras palabras, las concentraciones de fosfátido no hidratable tampoco afectaron a la eficiencia del desgomado.

Finalmente, se estudió si la temperatura del tratamiento con PLA1 afectaría o no a la eficiencia del desgomado. El aceite en bruto pretratado con agua, que contiene 44,95 ppm de fósforo, se sometió a tratamiento con PLA1 a 25, 35, 40, 50, o 60° C. Cada una de las muestras de aceite tratadas se extrajo después con EDTA al 1 % y se determinó su nivel de fósforo. Los resultados indican que las temperaturas de ensayo no afectaron a la eficiencia del desgomado. Más específicamente, se detectaron similares niveles de fósforo (que van desde 3,19 ppm a 8,27 ppm) en las muestras de aceite en bruto tratadas con PLA1 a las distintas temperaturas mencionadas anteriormente seguido por la extracción con EDTA.

Ejemplo 2 Extracción de aceite tratado con lipasa, con soluciones acuosas que contienen diferentes agentes quelantes o ácidos

El aceite en bruto como se describe en el Ejemplo 1 se pre-trató con agua y después se sometió a tratamiento con Lecitasa Ultra (PLA1) siguiendo los métodos descritos anteriormente. El aceite en bruto tratado con PLA1 se mezcló con una solución acuosa que contiene 1 % (p/v) de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido β-alanindiacético (ADA), ácido nitrilotriacético (NTA) o ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) en una relación 1:1 (v/v). La mezcla producida de este modo se agitó a 25° C, 200 rpm durante 60 minutos, y después se centrifugó a 6000 rpm durante 15 minutos para formar una fase oleosa y una fase acuosa. Se recogió la fase oleosa para análisis de fósforo.

Como se muestra en la Tabla 2, las soluciones acuosas que contienen EDTA, DTPA, NTA, y ADA fueron todas eficientes para eliminar el fosfátido hidratable del aceite en bruto tratado con PLA1. Entre ellas, las soluciones acuosas que contienen EDTA y DTPA fueron las más eficientes.

En otra realización, el aceite en bruto tratado con PLA1 se extrajo con agua pura o con una solución acuosa que contiene ácido láctico, ácido cítrico o ácido fumárico. Como también se muestra en la Tabla 2, estas soluciones acuosas fueron todas eficientes para eliminar el fosfátido hidratable del aceite en bruto tratado con PLA1.

5 Tabla 2. Concentraciones de fósforo en muestras de aceite en bruto tratadas con lipasa y extraídas con soluciones acuosas que contienen diferentes agentes quelantes o ácidos

Soluciones acuosas	EDTA	NTA	DTPA	ADA	Agua	Ácido láctico	Ácido cítrico	Ácido fumárico
Concentración de fósforo antes de tratamiento (ppm)	44,95	44,95	44,95	44,95	44,95	44,95	44,95	44,95
Concentración de fósforo después de tratamiento (ppm)	4,68	8,78	4,81	11,43	13,55	13,63	11,17	10,63

10 Ejemplo 3. Tratamiento de aceite en bruto con diferentes tipos de fosfolipasa

Se utilizaron diferentes fosfolipasas, que se muestran en la Tabla 3, para tratar el aceite en bruto o la solución de aceite al 33,3 % (descrita en el Ejemplo 1), siguiendo los procedimientos descritos también en el Ejemplo 1.

Tabla 3. Concentraciones de fósforo en muestras de aceite tratadas con diferentes fosfolipasas

Lipasa	Fuente	Tipo	Conc. de fósforo en aceite bruto (ppm)		Conc. de fósforo en solución de aceite al 33 % (ppm)	
			Antes	Después	Antes	Después
Lecitasa Ultra	Novozymes, Dinamarca	PLA ₁	42,85	5,01	17,51	5,01
PLC	Asahi Kasei, Japón	PLC		8,86		5,5
PLA ₂ L	Asahi Kasei, Japón	PLA ₂		17,75		4,59
PLD	Asahi Kasei, Japón	PLD		8,06		N.A.
PLDP	Asahi Kasei, Japón	PLD		3,02		N.A.

15 Como se muestra en la Tabla 3, PLA1, PLA2, y PLC presentan la misma eficiencia en la reducción de las concentraciones de fósforo en la solución de aceite al 33,3 %, y que PLA1, PLC y PLD fueron eficientes en la reducción de las concentraciones de fósforo en el aceite en bruto. Estos resultados indican que se pueden utilizar diferentes fosfolipasas en el método de desgomado del aceite de esta invención.

20 OTRAS REALIZACIONES

Todas las características descritas en esta memoria descriptiva se pueden combinar en cualquier combinación dentro del método de la invención reivindicado en las reivindicaciones independientes. Por lo tanto, a menos que se indique expresamente otra cosa, cada característica adicional descrita es sólo un ejemplo de una serie genérica de características adicionales equivalentes o similares.

25 De la descripción anterior, los expertos en la técnica pueden averiguar fácilmente las características ventajosas de la presente invención, y –dentro del alcance de las reivindicaciones independientes- pueden hacer diferentes adiciones a la invención para adaptarla a distintos usos y condiciones. Por lo tanto, otras realizaciones están también naturalmente dentro del alcance de las reivindicaciones independientes.

30

REIVINDICACIONES

1. Un método para eliminar los fosfátidos del aceite en bruto obtenido de una fuente vegetal o animal, comprendiendo el método:
 - 5 proporcionar aceite en bruto que contiene fosfátidos no hidratables, tratar el aceite en bruto con fosfolipasa inmovilizada, libre de emulsificación, para efectuar la conversión del fosfátido no hidratable a fosfátido hidratable,
 - 10 mezclar el aceite en bruto tratado con agua pura o con una solución acuosa, libre de emulsificación, para formar una mezcla que tiene una fase oleosa y una fase acuosa, permitir la separación de la fase oleosa y la fase acuosa, y recoger la fase oleosa.
2. El método de la reivindicación 1, en donde la planta es soja, cacahuete, semilla de girasol, semilla de colza, maíz, semilla de jatrofa, semilla de karanja, semilla de neem, semilla de mahua, semilla de ricino, semilla de caucho, semilla de algodón, almendra de palma, oliva, almendra, semilla de babassu, semilla de ben, semilla de cardo, semilla de camelina, linaza, almendra de la avellana, semilla de cáñamo, semilla de mostaza, semilla de jojoba, semilla de amapola, semilla de cártamo, semilla de sésamo, granos de trigo, semilla del árbol de la sal, semilla de crambe, semilla de cufea, semilla de nahor, semilla de tabaco, alage, salvado de arroz, pulpa de fruto de palma o madera amarilla.
3. El método de la reivindicación 1, en donde el aceite en bruto se obtiene mediante la extracción de la planta con éster alquílico de ácido graso y contiene el éster alquílico de ácido graso.
4. El método de la reivindicación 1, en donde el aceite en bruto se obtiene separando la grasa de la fuente animal y mezclando la grasa con éster alquílico de ácido graso.
5. El método de la reivindicación 3, en donde el éster alquílico de ácido graso se obtiene haciendo reaccionar alcohol con triglicéridos extraídos de la misma planta.
6. El método de la reivindicación 4, en donde el éster alquílico de ácido graso se obtiene haciendo reaccionar alcohol con triglicéridos extraídos de la misma fuente animal.
7. El método de la reivindicación 1, 3 o 4, en donde la fosfolipasa es PLA1, PLA2, PLC, PLD, o una combinación de las mismas.
8. El método de la reivindicación 1 o 3, en donde la etapa de mezclado se realiza mezclando el aceite en bruto tratado con una solución acuosa, conteniendo la solución acuosa un agente quelante, un ácido, o ambos.
9. El método de la reivindicación 1, en donde, antes de la etapa de tratamiento, el aceite en bruto se extrae con agua pura o con una solución acuosa para eliminar las sustancias solubles en agua contenidas en el mismo.
10. El método de la reivindicación 9, en donde la solución acuosa contiene un agente quelante, un ácido, o ambos.
11. El método de la reivindicación 8, 9 o 10, en donde el agente quelante se selecciona del grupo que consiste en ácido etilendiaminotetraacético, ácido β-alanindiacético, ácido nitrilotriacético, ácido dietilentriaminopentaacético, ácido hidroxietilendiaminotriacético, e iminodiacetato.
12. El método de una de las reivindicaciones 8 a 11, en donde el ácido se selecciona del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido tartárico, y ácido fosfórico.
13. El método de una de las reivindicaciones precedentes, en donde la etapa de tratamiento se lleva a cabo a una temperatura entre 10° C a 75° C.
14. El método de una de las reivindicaciones precedentes, en donde la solución acuosa contiene además un tensioactivo.
15. El método de la reivindicación 14, en donde el tensioactivo es dodecil sulfato de sodio o lauril sulfato de sodio.