

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 615 271**

51 Int. Cl.:

C12P 7/64 (2006.01)

C11B 3/00 (2006.01)

C11C 3/00 (2006.01)

C12N 9/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.07.2009 PCT/IB2009/006379**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.01.2010 WO2010004423**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.07.2009 E 09786077 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.11.2016 EP 2310520**

54 Título: **Método para reducir la cantidad de esteril glicósido en un aceite o grasa y/o un biocombustible**

30 Prioridad:

09.07.2008 GB 0812559

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

06.06.2017

73 Titular/es:

**DUPONT NUTRITION BIOSCIENCES APS
(100.0%)**

**Langebrogade 1
1411 Copenhagen K, DK**

72 Inventor/es:

SOE, JORN, BORCH

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 615 271 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

Método para reducir la cantidad de esteril glicósido en un aceite o grasa y/o un biocombustible

Campo de la presente invención

- 5 La presente invención se refiere a un método para reducir el contenido de esteril glicósido de un aceite o grasa que incluye un sustrato de biocombustible por ejemplo un sustrato de biodiesel y/o un biocombustible (que incluye un biodiesel) por degradación del esteril glicósido usando una enzima.

Antecedentes de la presente invención

- 10 Las preocupaciones recientes sobre seguridad de las fuentes de energía y calentamiento global han llevado a poner el foco en el uso de biocombustibles como fuente renovable. El biodiesel se ha producido durante 15 a 20 años y, hasta ahora, se ha producido principalmente en Europa y sobre todo de aceite de colza.

En años recientes la producción de biodiesel en EEUU ha aumentado significativamente. Con la expansión de la producción de biodiesel en EEUU, se ha usado una cantidad creciente de aceite de soja (y/o otros aceites que contienen cantidades variables (algunas veces cantidades menores) de esteril glicósido) como una/s materia prima para la producción de biodiesel.

- 15 Recientemente se ha visto que el biodiesel y combinaciones de biodiesel fabricadas a partir de aceite que contienen esteril glicósido pueden causar problemas. Por ejemplo, la presencia de esteril glicósido en un biodiesel puede causar precipitado que es indeseable ya que puede dar como resultado obstrucción de filtros y/o causar la parada del motor alimentado con el biocombustible. La precipitación puede ser precipitación del esteril glicósido o puede ser precipitación de esteril glicósido en combinación con otros componentes del biocombustible. Se ha sugerido que la precipitación del esteril glicósido puede empeorar la precipitación y/o agregación de otros componentes en el biocombustible.

El esteril glicósido puede precipitar durante el almacenamiento a lo largo de varias semanas. Por lo tanto, aunque el biocombustible recién producido cumpla los estándares de calidad, después de algunas semanas de almacenamiento el biocombustible puede no pasar la prueba del filtro.

- 25 Se ha encontrado que esteril glicósido no es fácil de eliminar durante la producción de biocombustible (incluyendo biodiesel).

Los productores de biodiesel han intentado solucionar estos problemas añadiendo etapas de filtración y mediante centrifugación.

- 30 La patente WO2007/076163 se refiere al uso de un procedimiento específico de filtración para eliminar esteril glicósido. En particular WO2007/076163 describe un proceso para eliminar esteril glicósidos de biocombustibles añadiendo adsorbentes, ayudantes de filtrado, ácido bórico, jabón, sacarosa, azúcar, glucosa, cloruro sódico, ácido cítrico, silicato de magnesio, arcilla, tierras diatomeas, lecitina, arcilla granular, glucosa granular, proteína, proteína vegetal texturizada, carbón, celulosa, disoluciones que comprenden ácido bórico, hidrogel de silicio y sus combinaciones que supuestamente son capaces de eliminar esteril glicósidos del biocombustible. Una desventaja de este procedimiento es que introduce una etapa de filtración extra que puede ser costosa y/o que consume tiempo. Otra desventaja de eliminar esteril glicósido mediante filtración o centrifugación es que puede ser necesario esperar a que el esteril glicósido precipite y/o se agregue antes de que se pueda eliminar del aceite.

La presente invención se dirige a solucionar un problema relacionado con la presencia de esteril glicósido en biocombustibles.

- 40 La patente EP2098585 es una solicitud de patente publicada después de la fecha de solicitud de la presente solicitud, pero que tiene una fecha de prioridad que es anterior a la fecha de prioridad de la presente solicitud. Describe métodos para purificar biocombustibles o precursores de biocombustibles usando una enzima que es capaz de unirse al glicósido contenido en ellos.

Compendio de aspectos de la presente invención

- 45 Se presentan aspectos de la presente invención en las reivindicaciones y en el siguiente comentario.

Sorprendentemente se ha encontrado que se puede eliminar esteril glicósido de un aceite o grasa y/o un biocombustible (p. ej., un sustrato de biodiesel) mediante el uso de una enzima capaz de hidrolizar el enlace glicosídico en un esteril glicósido y/o un esteril glicósido acetilado, en el que la enzima es una enzima amiloglucosidasa.

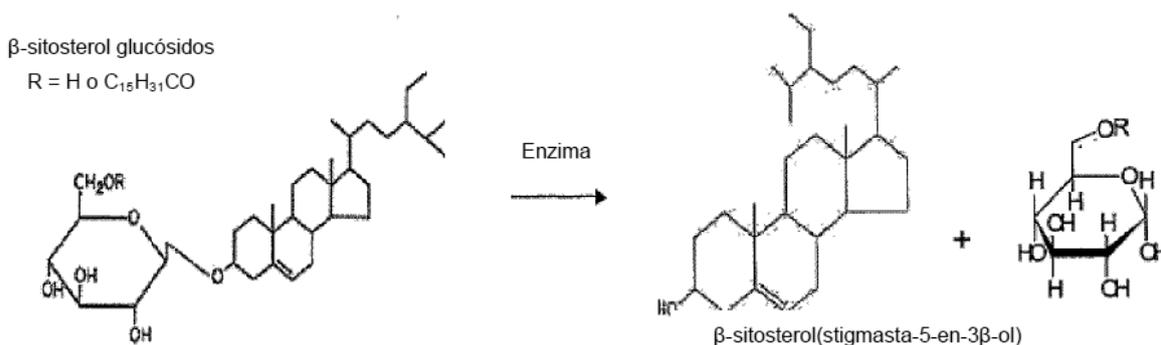
50

Aspectos detallados de la presente invención

Según un primer aspecto de la presente invención se proporciona un método para reducir la cantidad de esteril glicósido en un aceite o grasa y/o un biocombustible, el método comprende administrar una o más enzimas con un aceite y/o grasa que comprende esteril glicósido, en el que las una o más enzimas comprende una amiloglucosidasa; de modo que dichas una o más enzimas degradan el esteril glicósido y en el que al menos se elimina 20% del esteril glicósido en el aceite o grasa y/o biocombustible.

En un segundo aspecto de la presente invención se proporciona un uso de uno o más enzimas en un aceite o grasa y/o un biocombustible para reducir la cantidad de esteril glicósido, en el que una o más enzimas comprenden una amiloglucosidasa; y en el que al menos se elimina 20% del esteril glicósido en el aceite o grasa y/o biocombustible.

10 La enzima amiloglucosidasa (E.C. 3.2.1.3.) es capaz de llevar a cabo la siguiente reacción:



Adecuadamente una enzima usada en la presente invención puede ser la amiloglucosidasa AMG8000 (disponible de Danisco A/S).

En una realización, el aceite puede ser un aceite vegetal.

15 En otra realización el aceite puede ser un aceite vegetal seleccionado del grupo que consiste en aceite de colza, aceite de canola, aceite de soja (semilla de soja), aceite de salvado de arroz, aceite de palma, aceite de maíz, aceite de algodón, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de capuchina, aceite de mostaza, aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de cacahuete, aceite de babasu, aceite de ricino, aceite de nuez de palma, aceite de colza pobre en ácido erúico, aceite de altramuz, aceite de jatropha, aceite de coco, aceite de linaza, aceite de primula, aceite de jojoba, aceite de karité o aceite de camelina.

En una realización preferentemente el aceite puede ser un aceite vegetal seleccionado del grupo que consiste en aceite de colza, aceite de canola, aceite de soja (semilla de soja), aceite de salvado de arroz, aceite de palma, aceite de maíz, aceite de algodón y aceite de girasol.

En una realización adecuadamente el biocombustible puede ser biodiesel.

25 En una realización adecuadamente el método además puede comprender una etapa de desgomado, por ejemplo una etapa de desgomado en agua.

Como se usa en la presente memoria, una "etapa de desgomado en agua" típicamente se puede llevar a cabo mezclando 0,5-3% p/p de agua caliente con aceite crudo templado (60-90°C). Periodos de tratamiento normales son 30-60 minutos. La etapa de desgomado en agua elimina las gomas fosfatadas y mucilaginosas que se vuelven insolubles en el aceite cuando se hidrata. Los fosfátidos hidratados y gomas se pueden separar del aceite por decantación, filtración o centrifugación, siendo la centrifugación la práctica que más prevalece. El objeto esencial de dicho proceso de desgomado en agua es separar el fosfátido hidratado del aceite. El mezclado de agua caliente en el aceite, descrito anteriormente, debería entenderse ampliamente en la presente memoria como mezclado de una disolución acuosa en un aceite según los procedimientos estándar de desgomado en agua en la técnica.

35 En otra realización el método según la presente invención además puede comprender una etapa de desgomado enzimático.

En otra realización el método según la presente invención puede comprender una etapa de desgomado enzimático en la que se añade agua al aceite o grasa (p. ej., sustrato de biocombustible). Adecuadamente la cantidad de agua añadida durante la etapa de desgomado enzimático puede estar entre aproximadamente 0,1% a aproximadamente 5% en peso del aceite (típicamente entre aproximadamente 2% p/p enzima/aceite).

Adecuadamente la cantidad de esteril glicósido se reduce usando una o más enzimas según la presente invención antes, durante y/o después de la etapa de desgomado, p. ej., la etapa de desgomado en agua y/o etapa de

desgomado enzimática. En otras palabras, el mezclado de una o más enzimas con el aceite o grasa tiene lugar antes, durante y/o después de la etapa de desgomado (p. ej., la etapa de desgomado en agua y/o la etapa de desgomado enzimática).

En una realización más el método según la presente invención puede comprender una etapa de interesterificación.

- 5 En una realización, adecuadamente el método además puede comprender una etapa de centrifugación.

Adecuadamente la cantidad de esteril glicósido se reduce usando una o más enzimas según la presente invención antes, durante y/o después de la etapa de centrifugación. En otras palabras, el mezclado de una o más enzimas con el aceite tiene lugar antes, durante y/o después de centrifugación.

- 10 En una realización el método se puede llevar a cabo entre aproximadamente 30°C y 70°C, adecuadamente entre aproximadamente 40-60°C, adecuadamente entre aproximadamente 45-55°C, adecuadamente a aproximadamente 50°C.

Adecuadamente el método se puede llevar a cabo sobre aceite bruto (crudo).

Adecuadamente el método se puede llevar a cabo sobre un aceite o grasa (p. ej., un sustrato de biocombustible, tal como un sustrato de biodiesel) durante el procesado a biocombustible (o biodiesel).

- 15 En una realización adecuadamente una o más enzimas se pueden mezclar con un aceite (preferentemente un aceite vegetal, p. ej., un sustrato de biocombustible) durante el refinado del aceite.

Cuando el aceite o grasa (p. ej., el sustrato de biocombustible) se somete a un proceso de desgomado, la enzima se puede añadir durante el proceso de desgomado en el que se añade agua al aceite o grasa (p. ej., el sustrato de biocombustible). En una realización la enzima se puede añadir durante un proceso de desgomado enzimático.

- 20 Cuando el aceite o grasa (p. ej., sustrato de biocombustible) se somete a un proceso de interesterificación (esto se puede llevar a cabo usando enzimas que catalizan la reacción de interesterificación entre el aceite y metanol), la enzima de la presente invención también se puede añadir al aceite o grasa durante el proceso de interesterificación enzimático.

- 25 En otra realización adecuadamente se pueden mezclar una o más enzimas y agua con un aceite y grasa (preferentemente un aceite vegetal, p. ej., un sustrato de biocombustible).

En otra realización adecuadamente se pueden mezclar una o más enzimas con un aceite o grasa (preferentemente un aceite vegetal, p. ej., un sustrato de biocombustible) simultáneamente con el aceite que se somete a un proceso de desgomado enzimático, adecuadamente un proceso de desgomado enzimático en el que se añade agua al aceite o grasa (p. ej., un sustrato de biocombustible).

- 30 En otra realización adecuadamente se pueden mezclar una o más enzimas con un aceite o grasa (preferentemente un aceite vegetal, p. ej., un sustrato de biocombustible) simultáneamente con el aceite o grasa que se somete a una etapa de interesterificación (preferentemente una interesterificación enzimática).

- 35 Sin desear ser limitante de la teoría, la enzima usada en la presente invención puede eliminar esteril glicósido por hidrólisis para formar un esterol libre y un azúcar o un azúcar acetilado (dependiendo de si el esteril glicósido está acetilado o sin acetilar).

En algunas realizaciones la presente invención puede comprender una etapa de eliminación de cualquier esterol libre formado en el aceite o grasa. A modo de ejemplo el esterol libre se puede eliminar durante, antes o después de procesado posterior del aceite o grasa. Esto puede ser particularmente ventajoso cuando el aceite o grasa se va a usar en la industria alimentaria.

- 40 El método y usos de la presente invención elimina al menos 20%, preferentemente al menos 50%, más preferentemente al menos 80% del esteril glicósido en el aceite o grasa y/o biocombustible.

Medición de la cantidad de esteril glicósido en el aceite o grasa (p. ej., sustrato de biocombustible) o el biocombustible

- 45 La cantidad de esteril glicósido en el aceite o grasa (p. ej., sustrato de biocombustible) y/o el biocombustible se puede determinar mediante cualquier proceso convencional.

La cantidad de esteril glicósido en un aceite o grasa se puede determinar, por ejemplo, mediante extracción en fase sólida y cromatografía de gas según describe Phillips et al. (2005), Journal of Food Lipids, 12(2), 124-140.

- 50 La calidad del biodiesel se puede medir usando una prueba de bloqueo de filtro estándar de modo que según el método ASTM D 2068 "Standars Test Method for Filter Blocking Tendency of Distillate Fuel Oils". Cuando se eliminan los esteril glicósidos según la presente invención el biodiesel tiene mejor calidad cuando se mide usando

dicha prueba de bloqueo de filtro estándar comparado con un control comparable de biodiesel que es igual excepto que no se somete al método de la presente invención.

5 Cuando se refiere a “que reduce” o una “reducción” de la cantidad de esteril glicósido en un aceite o grasa (p. ej., un sustrato de biocombustible) o un biocombustible, el término “que reduce” o una “reducción” significa en comparación con un aceite o grasa comparable (p. ej., sustrato de biocombustible) biocombustible que es el mismo que el sustrato de biocombustible o biocombustible reivindicado excepto que no se han añadido enzimas según la presente invención.

Ventajas

10 La presente invención proporciona un método sencillo y rentable para eliminar el esteril glicósido de aceite y grasa (particularmente aceites y grasas que se van a usar como un sustrato de biocombustible o en la industria alimentaria) y/o de biocombustible (p. ej., de biodiesel).

Una ventaja de la presente invención es que se puede eliminar el esteril glicósido del aceite o grasa (p. ej., sustrato de biocombustible) o del biocombustible (p. ej., de biodiesel) antes de que precipite el esteril glicósido.

15 Otra ventaja de la presente invención es que se puede eliminar el esteril glicósido del aceite o grasa (p. ej., un sustrato de biocombustible) durante el procesado.

Otra ventaja de la presente invención es que no se requiere esencialmente una etapa de centrifugación o filtración para eliminar el esteril glicósido del aceite o grasa (p. ej., sustrato de biocombustible) o del biocombustible (p. ej., del biodiesel).

20 Una ventaja más de la presente invención es que es un método eficaz para eliminar esteril glicósidos de un aceite o grasa (p. ej., un sustrato de biocombustible y/o un aceite o grasa alimentario) y/o de un biocombustible.

Una ventaja más de la presente invención es que no se requiere equipamiento de centrifugación o filtración especializado o caro para eliminar esteril glicósidos del aceite o grasa (p. ej., el sustrato de biocombustible) o del biocombustible (p. ej., del biodiesel).

25 Otra ventaja de la presente invención es que se produce un biocombustible (en particular un biodiesel) que puede pasar una “prueba de filtro de bloqueo” incluso después de almacenar por ejemplo durante varias semanas.

Esteril glicósido

30 Esteril glicósido consiste en una unidad de hidrato de carbono unida al grupo hidroxilo de una molécula de esterol. El resto esterol podría ser campesterol, stigmasterol, sitosterol, brasicasterol y dihidrositosterol. El resto de azúcar puede estar compuesto de glucosa, xilosa, e incluso arabinosa (*Graminae*). Cuando el resto de azúcar es glucosa el esteril glicósido puede ser referido como esteril glicósido. En la presente invención el término esteril glicósido engloba esteril glucósido.

En una realización el esteril glicósido es un esteril glucósido.

El resto de azúcar puede estar unido al resto de esterol vía un enlace glicosídico. El resto de azúcar puede estar acetilado en la posición del carbono 6.

35 Esteril glicósidos se dan de manera natural en aceites y grasas (particularmente aceites vegetales y grasas) en forma acetilada y no acetilada. En la forma acetilada son muy solubles en el aceite. En la presente invención el término “esteril glicósidos” significa esteril glicósidos tanto acetilados como no acetilados. Igualmente el término “esteril glucósidos” según se usa en la presente memoria significa esteril glucósidos tanto acetilados como no acetilados.

40 Durante el proceso de conversión de un aceite o grasa (p. ej., un sustrato de biocombustible) a un biocombustible (p. ej., biodiesel), esteril glicósidos acetilados se convierten en esteril glicósidos no acetilados que tienen un punto de fusión alto y son menos solubles en biodiesel o mezclas de combustible diésel.

45 Esteril glicósidos (p. ej., esteril glucósidos) pueden precipitar para formar partículas de sólidos finos dispersos en el combustible que no se pueden simplemente calentar para que pasen a través del filtro diésel de bloqueo. Estas partículas también pueden promover la cristalización de otros componentes del combustible, lo que puede empeorar problemas o componentes que cristalizan en frío tal como monoglicéridos.

Esteril glicósidos pueden formar agregados a cualquier temperatura, no sólo a temperaturas frías. Incluso a niveles bajos, tal como 10-90 ppm de esteril glicósido en biocombustible puede formar agregados.

50 Esteril glicósidos tienen un punto de fusión alto de alrededor de 240°C y por lo tanto los agregados que los contienen no se pueden eliminar fácilmente por fusión.

La cantidad de esteril glicósido en aceites vegetales crudos puede variar.

La cantidad de esteril glicósidos en aceite de soja crudo es más alta que en algunos otros aceites que comúnmente se usan para fabricar biodiesel, por ejemplo, aceite de colza, maíz, algodón o girasol.

5 A modo de ejemplo solo el nivel de esteril glicósido presente en aceites vegetales diferentes se presenta en la siguiente tabla:

Aceite vegetal	Nivel de esteril glicósido (ppm)
Aceite de soja	2.300
Aceite de maíz	500
Aceite de girasol	300

Biocombustible

10 El biocombustible (que también puede ser referido como *agrocombustible* o *agricombustible*) se define ampliamente en la presente memoria como combustible sólido, líquido o gaseoso que comprende, o que deriva de, material biológico muerto recientemente, la mayoría comúnmente plantas. Esto lo distingue de los combustibles fósiles, que deriva de material biológico muerto hace tiempo.

El biocombustible se puede producir teóricamente a partir de cualquier fuente de carbón (biológica). El más común con mucho son plantas fotosintetizadoras que capturan energía solar. Se usan muchas plantas diferentes y materiales que derivan de plantas para la fabricación de biocombustible.

15 Los biocombustibles se usan globalmente y las industrias de biocombustible están en expansión en Europa, Asia y América. El uso más común para biocombustibles es como combustibles líquidos para transportes automóviles. El uso de biocombustibles renovables proporciona mayor independencia del petróleo y mejora la seguridad energética.

En una realización preferentemente el biocombustible mostrado en la presente memoria es un combustible líquido. El biocombustible preferentemente es un combustible líquido para transporte.

En una realización preferentemente el biocombustible es un biodiesel.

20 Aceite o grasa

Adecuadamente el aceite o grasa puede ser un aceite o grasa vegetal o un aceite o grasa vegetal procesado.

Adecuadamente el aceite o grasa (preferentemente un aceite o grasa vegetal) para usar en la presente invención puede ser cualquier aceite o grasa (preferentemente un aceite o grasa vegetal) que comprende un esteril glicósido. En una realización el aceite o grasa es un aceite o grasa que comprende al menos 10 ppm de esteril glicósido.

25 El aceite o grasa vegetal para usar en la presente invención se puede seleccionar del grupo que consiste en: aceite de colza, aceite de canola, aceite de soja (semilla de soja), aceite de salvado de arroz, aceite de palma, aceite de maíz, aceite de algodón, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de capuchina, aceite de mostaza, aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de cacahuete, aceite de babasu, aceite de ricino, aceite de nuez de palma, aceite de colza pobre en ácido erúxico, aceite de altramuz, aceite de jatropa, aceite de coco, aceite de linaza, aceite de primula, aceite de jojoba, aceite de karité o aceite de camelina.

30 El aceite o grasa vegetal para usar en la presente invención se puede seleccionar de uno o más del grupo que consiste en: aceite de colza, aceites de soja (que también se puede llamar aceite de haba de soja o aceite de soja), aceite de girasol, aceite de canola, aceite de palma, aceite de salvado de arroz y aceite de maíz.

En una realización preferentemente el aceite vegetal es aceite de soja.

35 En una realización preferentemente el aceite puede ser un aceite que deriva de algas.

En una realización el aceite o grasa (preferentemente el aceite o grasa vegetal) es adecuado para la producción de un biocombustible, p.ej., tal como biodiesel y por tanto se considera un "sustrato de biocombustible" o un "sustrato de biodiesel" respectivamente.

En algunas realizaciones el aceite o grasa puede ser un aceite y/o grasa animal.

40 El aceite o grasa puede ser un aceite crudo o puede ser un aceite procesado. El término "aceite procesado" como se usa en la presente memoria significa un aceite que se ha sometido a alguna forma de procesado tal como refinado, blanqueado, desgomado, interesterificado y/o desodorizado.

En algunas realizaciones el aceite o grasa puede ser un aceite hidrogenado, un derivado de aceite o grasa, o una fracción de un aceite o grasa.

En algunas realizaciones preferentemente el aceite o grasa es un aceite crudo (preferentemente un aceite vegetal crudo) y/o un aceite procesado (preferentemente un aceite vegetal procesado).

- 5 En una realización preferentemente el aceite o grasa se va a usar en la producción de un biocombustible y por lo tanto se considera que es un sustrato de biocombustible, adecuadamente un sustrato de biodiesel.

En otra realización el aceite o grasa se puede usar en la producción de un aceite o grasa comestible para la industria alimentaria, en cuyo caso el aceite o grasa se considera ser un aceite o grasa comestible.

Sustrato de biocombustible

- 10 Un sustrato de biocombustible como se usa en la presente memoria significa cualquier sustancia que se puede convertir en un biocombustible, preferentemente un biocombustible líquido. Adecuadamente el sustrato de biocombustible es material biológico muerto recientemente, lo más comúnmente plantas.

En una realización preferentemente el sustrato de biocombustible es un aceite o grasa.

Biodiesel

- 15 El biodiesel es similar al diésel de petróleo convencional pero se produce a partir de grasas y aceites vegetales o animales. Actualmente está aumentando su popularidad porque se ve como un combustible renovable y de carbón neutro que podría ser menos dañino para el medio ambiente que los combustibles fósiles. Se puede usar como un combustible alternativo al diésel de petróleo en los motores diésel y comúnmente se usa como un aditivo al diésel de petróleo. El biodiesel puro se clasifica como B100 pero a menudo se combina con diésel de petróleo de modo que
20 un diésel que es 20% biodiesel sería B20.

La mayoría del biodiesel se produce por interesterificación de triglicéridos (p. ej., aceite y/o grasa) con un alcohol, a menudo en presencia de un catalizador, para formar ésteres y glicerol. El catalizador normalmente es hidróxido de sodio o potasio. Como metanol y etanol son los alcoholes más comúnmente usados en la producción de biodiesel comercial la mayoría del biodiesel comercialmente producido comprende metil o etil ésteres de ácidos grasos.

- 25 El biodiesel es un biocombustible y tiene el nombre químico metil (o etil) éster de ácido graso (FAME).

En una realización el biodiesel puede ser un biodiesel producido a partir de grasas o aceites vegetales y/o animales combinados con diésel de petróleo.

En una realización preferentemente el biocombustible referido en la presente memoria es un biodiesel.

Alimento

- 30 El aceite o grasa se puede usar como, o en la preparación de, un alimento. Aquí, el término "alimento" se usa en un sentido amplio, y cubre alimento para humanos así como alimento para animales (p. ej., un pienso). En un aspecto preferente, el alimento es para consumo humano.

El alimento puede estar en la forma de una disolución o como un sólido, dependiendo del uso y/o el modo de aplicación y/o el modo de administración.

- 35 En un aspecto el aceite o grasa preparada según la presente invención se puede usar en un producto alimentario seleccionado de uno o más de los siguientes: huevos, productos a base de huevos, que incluye pero no está limitado a mayonesa, aliños de ensalada, salsas, helados, yema de huevo modificada y productos fabricados a partir de: productos horneados, que incluye panes, pastas, productos de masa dulce, masas laminadas, mantequillas líquidas, magdalenas, donuts, galletas, crackers y galletitas; confitería, que incluye chocolate, confites, caramelos,
40 halva, gominolas, que incluyen sin azúcar y gominolas edulcoradas con azúcar, goma de mascar, goma de mascar blanda, chicle y pudines; productos congelados que incluyen sorbetes, preferentemente productos lácteos congelados, que incluyen helados y batidos; productos lácteos, que incluyen queso, leche, nata de café, crema montada, natillas, bebidas de leche y yogures; mousses, natas montadas vegetales; aceites y grasas comestibles, productos montados aireados y no aireados, emulsiones de aceite en agua, emulsiones de agua en aceite,
45 margarina, manteca y untables que incluyen untables bajos en grasa y muy bajos en grasa; aliños, mayonesa, baños, salsas con base de nata, sopas con base de nata, bebidas, emulsiones picantes y salsas.

En una realización el aceite o grasa puede ser un aceite o grasa comestible, productos montados aireados y no aireados, emulsiones de aceite en agua, margarina, mantecas y untables que incluyen untables bajos en grasa y muy bajos en grasa.

- 50

Ingrediente alimentario

La composición descrita en la presente memoria se puede usar como un ingrediente alimentario.

5 Como se usa en la presente memoria el término "ingrediente alimentario" incluye una formulación que es o se puede añadir a un alimento o producto alimentario. El término ingrediente alimentario como se usa en la presente memoria también se refiere a formulaciones que se pueden usar a niveles bajos en una amplia variedad de productos que requieren emulsión, gelificación, texturización, estabilización, suspensión, formación de película y estructuración, retención de jugos y mejora de la sensación en la boca.

El ingrediente alimentario puede estar en la forma de un líquido o un sólido, dependiendo del uso y/o el modo de aplicación y/o el modo de administración.

10 Enzimas para usar en la presente invención

La enzima para usar en la presente invención significa una enzima amiloglucosidasa que es capaz de unir (o que une) el enlace glicosídico de un esteril glicósido y/o un esteril glicósido acetilado.

15 El término "enzima glicosidasa" como se usa en la presente memoria puede significar una enzima que es capaz de unir el enlace glicosídico de un esteril glicósido y/o un esteril glicósido acetilado, preferentemente bajo las condiciones del ensayo que se muestran a continuación (que usa esteril glicósido y/o un sustrato de esteril glicósido acetilado).

Ensayo para determinar si una enzima es capaz de unir el enlace glicosídico de un esteril glicósido y/o un esteril glicósido acetilado según la presente invención:

Se prepara un sustrato de esteril glicósido (que puede estar acetilado o no acetilado) usando las siguientes etapas:

20 se pesa 1,0 mg de esteril glicósido en un vasito de 7 ml;

se añade 10 µl de etanol al 99%;

se añade 200 µl de tampón HEPES 50 mM de pH 7;

se añade 300 µl de tampón HEPES 10 mM que contiene 0,4% Triton x100.

25 El esteril glicósido se dispersa por agitación durante 30 minutos a 40°C. Se tratan 5 x 100 µl muestras del sustrato de esteril glicósido con la enzima de interés siguiendo el siguiente protocolo.

Tabla 1

Muestra número		1	2
Sustrato de esteril glicósido	µl	100	100
Agua	µl	10	
Enzima de interés	µl		10

Se transfiere 100 µl de sustrato de esteril glicósido a un tubo Eppendorf y se coloca en un incubador vibratorio a 40°C. La enzima o agua se añade y la mezcla de reacción se incuba a 40°C durante 16 horas.

30 La mezcla de reacción se extrae con 1 ml de cloroformo. La fase de cloroformo se aisló y evaporó hasta secar bajo un vapor de nitrógeno.

La muestra se redisolvió en 200 µl de cloroformo:metanol 2:1 y después se analizó mediante HPTLC (según se muestra en el ejemplo 1). Para confirmar la formación de esterol las muestras también se analizaron mediante GLC (según se muestra en el ejemplo 1) usando esterol de plantas como material de referencia.

35 La formación de esterol libre a partir de esteril glicósido cuando se trata con una enzima de interés confirma que la enzima es capaz de unir el enlace glicosídico de un esteril glicósido y/o un esteril glicósido acetilado y se puede usar según la presente invención.

En una realización de la presente invención, la enzima amiloglucosidasa puede ser capaz de unir (o puede unir) el enlace glucosídico de un esteril glucósido y/o un esteril glucósido acetilado.

40 El término "enzima glucosidasa" como se usa en la presente memoria puede significar una enzima que es capaz de unir el enlace glucosídico de un esteril glucósido y/o un esteril glucósido acetilado, preferentemente bajo las condiciones del ensayo que se muestran a continuación.

Ensayo para determinar si una enzima es capaz de unir el enlace glucosídico de esteril glucósido y/o esteril glucósido acetilado según la presente invención:

Se prepara un sustrato de esteril glucósido (que puede estar acetilado o no acetilado), p. ej., esteril glucósido 98% de Matreya, Pennsylvania, usando las siguientes etapas:

- 5 se pesa 1,0 mg de esteril glucósido en un vasito de 7 ml;
- se añade 10 µl de etanol al 99%;
- se añade 200 µl de tampón HEPES 50 mM de pH 7;
- se añade 300 µl de tampón HEPES 10 mM que contiene 0,4% Triton x100.

10 El esteril glucósido se dispersa por agitación durante 30 minutos a 40°C. Se tratan 5 x 100 µl muestras del sustrato de esteril glucósido con la enzima de interés siguiendo el siguiente protocolo.

Tabla 1

Muestra número		1	2
Sustrato de esteril glucósido	µl	100	100
Agua	µl	10	
Enzima de interés	µl		10

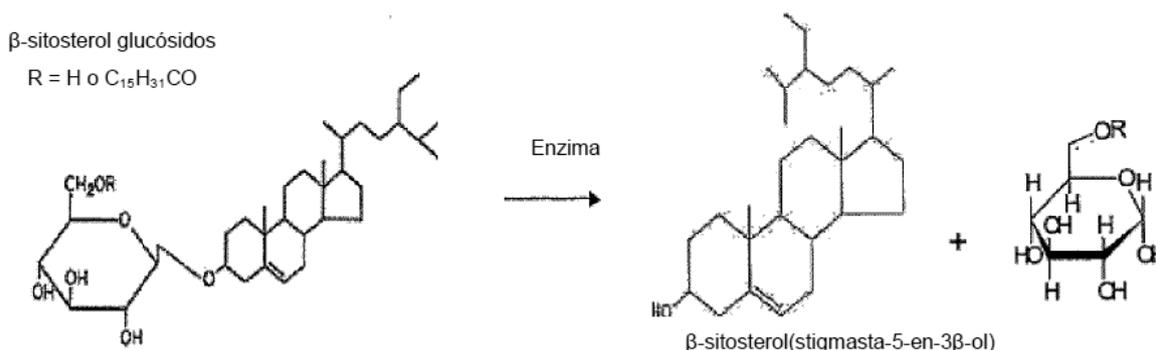
Se transfiere 100 µl de sustrato de esteril glucósido a un tubo Eppendorf y se coloca en un incubador vibratorio a 40°C. La enzima o agua se añade y la mezcla de reacción se incuba a 40°C durante 16 horas.

15 La mezcla de reacción se extrae con 1 ml de cloroformo. La fase de cloroformo se aisló y evaporó hasta secar bajo un vapor de nitrógeno.

La muestra se redisolvió en 200 µl de cloroformo:metanol 2:1 y después se analizó mediante HPTLC (según se muestra en el ejemplo 1). Para confirmar la formación de esterol las muestras también se analizaron mediante GLC (según se muestra en el ejemplo 1) usando esterol de plantas como material de referencia.

20 La formación de esterol libre a partir de esteril glucósido cuando se trata con una enzima de interés confirma que la enzima es capaz de unir el enlace glicosídico de un esteril glucósido y/o un esteril glucósido acetilado y se puede usar según la presente invención.

El término “enzima glucosidasa” como se usa en la presente memoria significa una enzima que es capaz de llevar a cabo la siguiente reacción (donde el esterol glucósido está en una forma acetilada o no acetilada):



25 La enzima o más para usar en la presente invención comprende una enzima amiloglucosidasa (E.C. 3.2.1.3 (según la nomenclatura de enzimas – recomendaciones del Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular y Clasificación de Enzimas de 1992)).

30 La amiloglucosidasa (E.C. 3.2.1.3) es una enzima industrial importante que usan los fabricantes de jarabe de maíz rico en fructosa (HFCS). La amiloglucosidasa también se puede referir en la presente memoria como glucano 1,4-α-glucosidasa.

La enzima para usar en la presente invención puede hidrolizar enlaces 1,4- y 1,6-alfa en almidón licuado y/o enlaces β. Durante la hidrólisis con amiloglucosidasas, se eliminan las unidades de glucosa de un modo escalonado desde el extremo no reducido de la molécula del sustrato. El grado de hidrólisis depende del tipo de enlace así como de la

longitud de la cadena, p. ej., enlaces 1,4-alfa se hidrolizan más fácilmente que los enlaces 1,6-alfa, y maltotriosa y maltosa se rompen en un menor grado que oligosacáridos de cadena más larga.

La enzima para usar en la presente invención puede unir el enlace glicosídico de un esteril glicósido como su principal actividad o como una actividad secundaria.

- 5 Una enzima adecuada para usar en la presente invención puede ser una amiloglucosidasa fúngica, tal como una amiloglucosidasa que se puede obtener (obtenida) de cepas de hongos de *Arpergillus niger*. Enzimas adecuadas para usar en la presente invención pueden ser enzimas que se dan de manera natural (y opcionalmente aislar) o enzimas modificadas genéticamente.

- 10 Enzimas glicosidasas (o enzimas amiloglicosidasas adecuadas para usar en la presente invención) pueden tener un pH óptimo de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 7,0, preferentemente aproximadamente 4,0-7,0 y una temperatura óptima de aproximadamente 55 a aproximadamente 80°C, adecuadamente aproximadamente 75°C.

En una realización una enzima amiloglucosidasa adecuada puede ser AMG 8000™ (que se obtiene de Danisco A/S – Dinamarca).

- 15 La enzima para usar en la presente invención se puede usar a una dosis de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 50 mg de proteína enzima por kg de aceite, preferentemente aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg de proteína enzima por kg de aceite.

Desgomado

El propósito del refinado de aceite comestible es eliminar impurezas indeseables que afectan a la calidad (sabor, olor y apariencia por ejemplo) y almacenamiento.

- 20 Debido a la amplia variedad de estas impurezas – ácidos grasos libres, iones metálicos, compuestos de color, olores, gomas, etc.- convencionalmente se emplean una serie de procesos de naturaleza química y física para refinar.

Tradicionalmente se han usado dos procesos para desgomar aceite que son procesos de desgomado físico y de desgomado químico.

- 25 En el llamado refinado químico, casi todo el contenido de ácidos grasos libres se elimina mediante tratamiento inicial con amplio exceso de NaOH. También el contenido de fosfolípidos disminuye a un nivel de fósforo típicamente por debajo de 10 ppm. Posteriormente el aceite se blanquea y desodoriza. El llamado refinado físico generalmente consiste en una etapa de desgomado con agua seguido de desgomado con ácido, neutralización, blanqueado, arrastre por vapor para eliminar ácidos grasos libres y desodorización.

- 30 En vez de usar desgomado con ácido durante el refinamiento físico se hicieron desarrollos para usar desgomado enzimático.

El proceso de desgomado enzimático se desarrolló en base al uso de fosfolipasa pancreática. Debido a que esta enzima no era kosher la fosfolipasa finalmente se sustituyó por una fosfolipasa A1 microbiana (Lecitase Ultra™ – Novozymes, Dinamarca) (Oil Mill Gazetteer, vol 111 julio 2005 pp 2-4).

- 35 El proceso enzimático tenía varias ventajas sobre el proceso de desgomado químico o el físico incluyendo ahorro, mayor rendimiento y un proceso más respetuoso medioambientalmente.

El proceso de desgomado de aceite enzimático se basaba en la adición de una fosfolipasa a un aceite que ya se había desgomado en agua.

- 40 En la patente WO2006/008508 se muestran aciltransferasas lipídicas para usar en desgomado enzimático de aceites comestibles. La patente WO2006/008508 muestra la adición de una aciltransferasa lipídica a un aceite desgomado con agua o la adición de una aciltransferasa lipídica a un aceite crudo sin la necesidad de que el aceite se someta a un proceso de desgomado con agua.

- 45 “Aceite desgomado con agua” típicamente se puede obtener mediante un “proceso de desgomado con agua” convencional que comprende mezclar 1-2% p/p de agua blanda caliente con aceite crudo templado (70-90°C) (AOCS Introduction to the Processing of Fats and Oils – tabla 8- Degumming Processes- <http://www.aocs.org/meetings/education/mod3sample.pdf>). Una regla general es que la cantidad de agua añadida al aceite crudo es típicamente aproximadamente igual a la cantidad de fosfolípidos en el aceite crudo. Periodos de tratamiento normales son 30-60 minutos. La etapa de desgomado con agua elimina las gomas fosfatadas y mucilaginosas que se hacen insolubles en el aceite cuando se hidratan. Los fosfátidos y gomas hidratados se pueden separar del aceite por decantación, filtración o centrifugación, siendo la centrifugación la práctica más prevaeciente. El objeto esencial en dicho proceso de desgomado con agua es separar los fosfátidos hidratados del aceite. El mezclado de agua caliente en el aceite, descrito anteriormente, debería entenderse en la presente
- 50

memoria ampliamente como mezclado de una disolución acuosa en el aceite según los procedimientos normales de desgomado con agua de la técnica.

5 En el proceso convencional de desgomado con agua se elimina la principal parte de fosfátidos en una fase de goma pesada. Al final del proceso de desgomado con agua se separa una fase de aceite de una fase de goma. Aunque la fase de goma se puede procesar posteriormente para productos comerciales esencialmente se ve como un subproducto del refinado de aceite. Es la fase de aceite la que es comercialmente importante. Sin embargo, debido a que los fosfátidos pueden ser buenos emulsionantes algo de aceite se pierde inevitablemente en la fase de goma durante el desgomado con agua.

10 La presente invención (es decir, la adición de una amiloglucosidasa para eliminar esteril glicósido) se puede usar en combinación con desgomado (tal como desgomado químico, desgomado con agua o desgomado enzimático). La enzima o más que se añaden para eliminar esteril glicósido se pueden añadir antes, durante o después del proceso de desgomado.

Combinación con otras enzimas

15 La enzima amiloglucosidasa usada en la presente invención adecuadamente se puede usar en combinación con más enzimas.

20 En una realización la enzima amiloglucosidasa usada en la presente invención adecuadamente se puede usar en combinación con una o más de las siguientes enzimas: un enzima que tiene actividad aciltransferasa lipídica (E.C. 2.3.1.43); una enzima que tiene actividad glicolipasa (E.C. 3.1.1.26), un enzima que tiene actividad fosfolipasa A2 (E.C. 3.1.1.4), un enzima que tiene actividad fosfolipasa A1 (E.C. 3.1.1.32). Adecuadamente, enzimas que tienen estas actividades son bien conocidas en la técnica e incluyen a modo de ejemplo las siguientes lipasas: una fosfolipasa A1 LECITASE[®] ULTRA (Novozymes A/S, Dinamarca), fosfolipasa A2 (p. ej., fosfolipasa A2 de LIPOMOD[™] 22L de Biocatalysts, LIPOMAX[™] y LysoMax PLA2[™] de Genencor), LIPOLASE[®] (Novozymes A/S, Dinamarca).

25 En algunas realizaciones puede ser beneficioso combinar la enzima para usar en la presente invención con un lípido acetiltransferasa y/o una fosfolipasa, tal como fosfolipasa A1, fosfolipasa A2, fosfolipasa B, fosfolipasa C y/o fosfolipasa D.

Aislado

En un aspecto, la enzima(s) usada en la presente invención es/son una enzima recuperada/aislada. Por tanto, la enzima puede estar en una forma aislada.

30 El término "aislado" significa que la secuencia o proteína está al menos significativamente libre de al menos uno u otro componente con el que la secuencia o proteína está naturalmente asociada en la naturaleza y como se encuentra en la naturaleza.

Purificado

En un aspecto, la enzima(s) usada en la presente invención puede estar en una forma purificada.

35 El término "purificado" significa que la secuencia está en un estado relativamente puro – p. ej., al menos aproximadamente 51% puro, o al menos aproximadamente 75%, o al menos aproximadamente 80%, o al menos aproximadamente 90% puro, o al menos aproximadamente 95% puro o al menos aproximadamente 98% puro.

La invención se describirá ahora, solo a modo de ejemplo, con referencia a las siguientes figuras y ejemplos.

Figuras

40 La figura 1 muestra un HPTLC de esteril glicósido (SG) incubado con 1) agua, 2) Grindamyl Ca 150, 3) AMG 8000 (Danisco A/S).

Ejemplo 1

Eliminación/degradación de esteril glicósido con enzimas.

Materiales

45 Esteril glicósido, 98% de Matreya, Pennsylvania.

Enzimas:

Pectinasa, Grindamyl Ca 150, artículo número 1222616

Amiloglucosidasa, AMG 8000, artículo número 1205013

ES 2 615 271 T3

HPTLC

Aplicador: aplicador CAMAG AST4.

Placa HPTLC: 20 x 10 cm (Merck número 1.05641)

- 5 La placa se activó antes de usar por secado en un horno a 160°C durante 20-30 minutos. Aplicación: 8,0 µl de lípidos extraídos disueltos en cloroformo:metanol (2:1) se aplicaron en la placa HPTLC usando el aplicador AST4. También se aplicaron 0,1, 0,3, 0,5, 0,8, 1,5 µl de una disolución estándar de componentes estándar con concentración conocida a la placa HPTLC.

Tampón de corrida: 1: P-eter:MTBE:ácido acético (50:50:1)

Tiempo de aplicación/elución: 12 minutos.

- 10 Tampón de corrida: 4: cloroformo:metanol:agua (65:25:4)

Desarrollo: 7 cm usando cámara de desarrollo automático ADC 2.

Fluido de derivatización: 6% cupriacetato en H₃PO₄ 16%.

Después de elución la placa se secó en un horno a 160°C durante 10 minutos, se enfrió y se sumergió en el fluido de desarrollo y después se secó 5 minutos adicionales a 160°C. La placa se evaluó visualmente.

- 15 Análisis GLC

Cromatógrafo de gases por capilaridad Perkin Elmer Autosystem 9000 equipado con columna de sílice fumante WCOT 12,5 mm x 0,25 mm ID x 0,1 µ espesor de la película 5% fenil-metil-silicona (CP Sil 8 CB de Chrompack).

Gas vehículo: helio.

- 20 Inyector: inyección de división por frío PSSI (temp inicial 50°C calentado a 385°C), volumen 1,0 µl. Detector FID: 395°C.

Programa del horno (usado desde 30.10.2003)	1	2	3
Temperatura horno, °C	90	280	350
Isotermal, tiempo, min	1	0	10
Velocidad temperatura, °C/min	15	4	

Preparación de la muestra: se disolvieron muestras extraídas en 0,5 ml heptano:piridina, 2:1 que contenía heptadecano estándar interno, 0,5 mg/ml. Se transfieren 300 µl de disolución de la muestra a un vial tipo ampolla, se añade 300 µl MSTFA (N-metil-N-trimetilsilil-trifluoroacetamida) y reacciona durante 20 minutos a 60°C.

Cálculo: se determinaron factores respuesta para esterol de material de referencia puro.

- 25 Procedimiento y resultados

Se preparó sustrato de esteril glucósido usando las siguientes etapas:

se pesa 1,0 mg de esteril glucósido en un vasito de 7 ml;

se añade 10 µl de etanol al 99%;

se añade 200 µl de tampón HEPES 50 mM de pH 7;

- 30 se añade 300 µl de tampón HEPES 10 mM que contiene 0,4% Triton x100.

El esteril glucósido se dispersa por agitación durante 30 minutos a 40°C. Se tratan 5 x 100 µl muestras del sustrato de esteril glucósido con las diversas enzimas descritas en la tabla 1 siguiendo el siguiente protocolo.

Tabla 1

Muestra número	1	2	3
Sustrato de esteril glucósido	µl 100	100	100
Agua	µl 10		
Grindamyl Ca 150	µl	10	

ES 2 615 271 T3

Muestra número	1	2	3
AMG 8000, 10% en agua	μl		10

Se transfiere 100 μl de sustrato de esteril glucósido a un tubo Eppendorf y se coloca en un incubador vibratorio a 40°C. La enzima o agua se añade y la mezcla de reacción se incuba a 40°C durante 16 horas.

La mezcla de reacción se extrae con 1 ml de cloroformo. La fase de cloroformo se aisló y evaporó hasta secar bajo un vapor de nitrógeno.

- 5 La muestra se redisolvió en 200 μl de cloroformo:metanol 2:1 y después se analizó mediante HPTLC. Una figura de la placa TLC se muestra en la figura 1.

El cromatograma TLC de la figura 1 indica que pectinasa (Grindamyl Ca 150) y amiloglucanasa (AMG 8000) son capaces de producir un componente con tiempo de retención equivalente a esterol, que muestra que estas enzimas degradan esteril glucósido.

- 10 Para confirmar la formación de esterol las muestras también se analizaron mediante GLC usando esterol de plantas como material de referencia. El análisis GLC confirmó la formación de esterol libre con los resultados que se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Análisis GLC de esterol. % basado en la cantidad de esteril glucósido.

Muestra nº	Tratamiento enzima	Esterol, %
1	Agua	0,54
2	Grindamyl Ca 150	15,3
3	AMG 8000, 10% en agua	12,8

- 15 El análisis GLC (tabla 2) confirma la formación de esterol libre a partir de estero glucósido cuando se trata o bien con una pectinasa o con una amiloglucosidasa.

REIVINDICACIONES

1. Un método para reducir la cantidad de esteril glicósido en un aceite o grasa y/o un biocombustible, el método comprende administrar una o más enzimas con un aceite o grasa que comprende esteril glicósido, en el que una o más enzimas comprende una amiloglucosidasa; de modo que dicha una o más enzimas degrada el esteril glicósido y en el que al menos 20% del esteril glicósido en el aceite o grasa y/o biocombustible se elimina.
2. El método según la reivindicación 1 en el que el aceite es un aceite vegetal.
3. El método según la reivindicación 2 en el que el aceite se selecciona de: aceite de colza, aceite de canola, aceite de soja (semilla de soja), aceite de salvado de arroz, aceite de palma, aceite de maíz, aceite de algodón, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de capuchina, aceite de mostaza, aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de cacahuete, aceite de babasu, aceite de ricino, aceite de nuez de palma, aceite de colza pobre en ácido erúxico, aceite de altramuz, aceite de jatropha, aceite de coco, aceite de linaza, aceite de primula, aceite de jojoba, aceite de karité o aceite de camelina.
4. El método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el biocombustible es un biodiesel.
5. El método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el método además comprende una etapa de desgomado.
6. El método según la reivindicación 5 en el que dicho desgomado es desgomado enzimático.
7. El método según la reivindicación 6 en el que el esteril glicósido se degrada antes, durante o después de la etapa de desgomado.
8. El método según cualquiera de las reivindicaciones 5-7 en el que la una o más enzimas se mezclan con el aceite o grasa y agua durante la etapa de desgomado.
9. El método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el método además comprende una etapa de interesterificación.
10. El método según la reivindicación 9 en el que dicha etapa de interesterificación es una etapa de interesterificación enzimática.
11. El método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el método además comprende una etapa de centrifugación.
12. El método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el método además comprende una enzima seleccionada de una aciltransferasa lipídica, una fosfolipasa, o sus combinaciones.
13. El método según la reivindicación 12, en el que la fosfolipasa es una fosfolipasa A1, una fosfolipasa A2, una fosfolipasa B, una fosfolipasa C, una fosfolipasa D o una de sus combinaciones.
14. Uso de una o más enzimas en un aceite o grasa y/o un biocombustible para reducir la cantidad de esteril glicósido, en el que una o más enzimas comprende una amiloglucosidasa y en el que al menos 20% del esteril glicósido en el aceite o grasa y/o biocombustible se elimina.
15. El uso según la reivindicación 14 en el que al menos 50% del esteril glicósido del aceite o grasa se elimina.
16. El uso según la reivindicación 14 en el que al menos 80% del esteril glicósido del aceite o grasa se elimina.
17. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 14-16 en el que el aceite es un aceite vegetal.
18. El uso según la reivindicación 17 en el que el aceite vegetal es aceite de soja.
19. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 14-17 en el que el biocombustible es un biodiesel.
20. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 14-18 en el que el uso además comprende una enzima seleccionada de una aciltransferasa lipídica, una fosfolipasa, o sus combinaciones.
21. El uso según la reivindicación 20, en el que la fosfolipasa es una fosfolipasa A1, una fosfolipasa A2, una fosfolipasa B, una fosfolipasa C, una fosfolipasa D o una de sus combinaciones.
22. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 14 a 21 en el que el uso es una combinación con desgomado.
23. El uso según la reivindicación 22 en el que dicho desgomado es desgomado enzimático.

Figura 1

