

PROCESO PARA PRODUCIR ACEITE DE PALMA CRUDO

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona generalmente con un proceso para producir
5 aceite de palma crudo. Más particularmente, con un proceso para producir aceite de palma crudo con tasa de extracción de aceite aumentada de los racimos de fruta fresca de palma de aceite.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 La palma de aceite (*Elaeis guineensis jacq.*) es un cultivo importante de alimentos que se origina de África Occidental y fue introducido en Malasia por los Británicos a comienzos de 1870 como una planta ornamental. La palma de aceite tiene un rendimiento por hectárea que está entre 7 a 10 veces mayor al del aceite de soya y de colza. El aceite de palma se ha convertido en el aceite vegetal más
15 importante en el mundo y la producción de aceite de palma ha aumentado por más de 4 veces en los últimos 20 años. Se proyecta que en 2020, por lo menos 78 millones de toneladas de aceite de palma serán requeridos para cumplir con la demanda global (Mielke, 2013).

La palma de aceite es importante debido a su alto rendimiento, que es el cultivo
20 de alimento con mayor rendimiento con un rendimiento promedio reciente de 3.67 toneladas por hectárea por año y con progenies conocidos por producir aproximadamente 10 toneladas por hectárea por año. La palma de aceite también es la planta más eficiente conocida por aprovechar la energía de la luz solar para producir aceite. La palma de aceite es cultivada para aceite de palma (el cual es
25 producido en el mesocarpio) y aceite de semilla de palma (el cual es producido en núcleo). La producción combinada actual de aceite de palma y aceite de semilla de palma es aproximadamente 50 millones de toneladas por año, y se espera que la demanda aumente sustancialmente en el futuro con la población global en aumento

y el consumo per cápita de aceites y grasas. El aceite de palma representa aproximadamente 33% del consumo global de principales aceites y grasas.

Un indicador de desempeño clave para la industria del aceite de palma es su tasa de extracción de aceite (OER) la cual es usada como una unidad de evaluación para medir el desempeño de una planta o plantación y está esencialmente influenciado por la cantidad de aceite realizado por cada hectárea de tierra bajo cultivo. Un mayor porcentaje en el OER significaría que se puede extraer más aceite de los frutos de la palma de aceite. El OER ha permanecido estancado por los últimos 20 años y ha sido una principal preocupación en Malasia, a pesar de tener una alta producción de aceite de palma. El Gobierno de Malasia tuvo varias iniciativas para ayudar a mejorar el OER nacional, incluyendo mejorar los molinos de aceite de palma existentes los cuales fueron establecidos en los años 1960, por lo cual, estos molinos aún están operando con un OER de menos de 18%. Los Proyectos de Punto de Entrada (EPP) también fueron establecidos por el Gobierno de Malasia con el objetivo de aumentar el OER del país a 23% en 2020 (el OER promedio en 2016 fue aproximadamente 20.18%). La Junta de Aceite de Palma de Malasia (MPOB) ha puesto más de 200 de sus oficiales en molinos seleccionados a lo largo del país para suministrar asesoría y servicios de ejecución sobre la calidad de racimos de frutas frescas (FFB) (*Kamalrudin, MS y Ramli Abdullah, 2014*). Por lo tanto, la industria del aceite de palma necesita urgentemente mejorar sus eficiencias de producción o están en riesgo de perder su posición en el mercado de aceite vegetal global competitivo. Las mejoras en el rendimiento también asegurarían el crecimiento sostenible de la industria de la palma de aceite.

En el proceso de molienda de aceite de palma, el proceso de extracción de aceite también ha permanecido el mismo sin cambios importantes por los últimos 20 años. Todas las iniciativas de mejoras hechas hasta ahora en el proceso de extracción de aceite se enfocan principalmente en el proceso de extracción mecánico, tal como usando mayor presión en la prensa de tornillo, adicionando

prensas de tornillo adicionales para racimos de frutos vacíos (EFB) y usando mayor tiempo de retención en el clarificador y decantadores con velocidad aumentada. Estas mejoras propuestas se traducen en mayor inversión de capital y costos de mantenimiento y así, no vale la pena seguir (a largo plazo) ya que las limitaciones del proceso de extracción que usa medios de extracción mecánica actualmente han alcanzado sus límites. En vista de esto, se requieren otros medios de mejoras o innovaciones con el fin de mejorar el proceso de extracción de aceite actual en los molinos de aceite de palma.

En un proceso de molienda de aceite de palma típico, varias operaciones están involucradas en la extracción de aceite de palma de FFB fresco, las cuales son esterilización, pelado, digestión y presión, clarificación, purificación, secado y almacenamiento. Los racimos de frutos recién cortados y los frutos sueltos desprendidos son transportados al molino de aceite de palma donde ellos son esterilizados para inactivar las enzimas lipolíticas, aflojar los frutos en el racimo, suavizar los frutos, acondicionar los núcleos, y hacer que la proteína se coagule. El proceso de esterilización utiliza flujo vivo de aproximadamente 3 bar por un cierto periodo de tiempo. En el proceso de molienda convencional, los racimos y los frutos sueltos son cargados en cajas y son empujados en esterilizadores, por lo cual los racimos son cocinados en lotes. La cocción de los frutos ocurre usando vapor el cual se deja ingresar por medio de la abertura de las válvulas de entrada, lo cual puede ser controlado fácilmente por un programa automatizado. Una vez los frutos han sido cocinados en las cajas o jaulas, el vapor es extraído del esterilizador y las cajas con frutos son jaladas fuera del esterilizador. El esterilizador es usualmente un recipiente de presión con la parte inferior revestida con revestimientos de acero suave o acero inoxidable para reemplazo fácil por propósitos de desgaste y desgarros. El cuerpo del esterilizados es aislado de modo que se minimiza la pérdida de calor.

El pelado el fruto de los racimos esterilizados (trillado) es llevado a cabo en una jaula giratoria con barras que permiten que los frutos pasen a través de éstas, pero retiene los racimos vacíos. Los frutos sueltos son recolectados por un transportador por debajo de la jaula y los racimos vacíos emergen al final de la jaula.

5 El fruto separado luego es alimentado a un digestor, el cual es un recipiente cilíndrico enchaquetado con vapor mantenido de 90°C a 100°C mediante la inyección de vapor en vivo. Este se ajusta con brazos batidores que quiebran el fruto y liberan el aceite. Los contenidos del digestor luego son alimentados continuamente a una prensa de tornillo que produce una corriente de líquido que
10 consiste de aceite, finos y fase acuosa, y una torta de prensa que contiene el residuo de fibra del fruto y las semillas de palma. La corriente de líquido se pasa a un tanque de asentamiento por medio de una pantalla vibratoria que devuelve lo que retiene al digestor. El aceite recuperado del tanque de asentamiento primero que todo se pasa a través de un purificador para remover las impurezas del aceite y luego se
15 seca usando un secador de vacío. El lodo que se recolecta en el tanque de asentamiento se pasa a un decantador que separa este lodo en una fase de efluente pesado y una fase liviana acetosa que se devuelve al tanque de almacenamiento. Este proceso convencional se resume en la Figura 1.

El aceite de palma crudo se somete a varios procesos de refinación para
20 producir aceite de palma refinado. Dependiendo de su el aceite de palma refinado es producido por refinación química (alcalina) o por refinación física, estos pasos de refinación incluyen desgomado, neutralización, blanqueado y desodorización por encima de 200°C (refinación química) o desgomado, blanqueado y desodorización a 240-260°C (refinación física). Se han encontrado ésteres de 3-monocloropropano-
25 1,2-diol (3-MCPD) en todos los aceites vegetales refinados tales como margarina y aceites, y en alimentos que contienen grasa incluyen fórmulas de bebés. Los ésteres de 3-MCPD se forman a altas temperaturas durante la refinación de grasas y aceites comestibles, principalmente durante el paso de desodorización. Los

principales factores para la formación de ésteres de 3-MCPD son la presencia de iones de cloruro, glicerol, tri, di o monoacilglicéridos, así como la temperatura y el tiempo (*ILSI Serie de Reporte de Europa, 2009*).

Estudios han identificado ésteres de ácido graso de 3-MCPD en aceites refinados, tal como aceite de palma refinado, por lo cual los ésteres de ácido graso de 3-MCPD se consideran que se forman a altas temperaturas en la presencia de agua después de una reacción entre grasas y iones de cloruro. En la refinación de aceite de palma y fracciones de aceite de palma, se considera que los ésteres de ácido graso de 3-MCPD se forman predominantemente durante la desodorización (donde el aceite es calentado hasta más de 200°C), la última etapa en la refinación en donde las sustancias olorosas y de sabor desagradable son removidas. Los ésteres de 3-MCPD se forman durante la desodorización debido a una descomposición catalizada térmica de compuestos organoclorados que ocurren naturalmente en el aceite de palma en compuestos clorados reactivos tal es como cloruro de hidrógeno. Estos compuestos pueden reaccionar con acilglicerol para producir diésteres de MCPD y también liberar los ácidos grasos libres de la molécula intacta de triglicérido (*Destailats, y otros, 2012*). Aparte de los ésteres de ácido graso de 3-MCPD, también se han identificado ésteres de ácido graso de 2-MCPD y ésteres de ácido graso de glicidilo en estos aceites de palma refinados.

La Solicitud de Patente Internacional Publicada WO 2016/162510 se relaciona con un proceso para la extracción de aceite de palma crudo a partir de frutos de palma que comprende poner en contacto los frutos de palma con una composición de enzima a una temperatura por encima de 65°C y extraer el aceite de palma crudo. La invención también se relaciona con un método para la extracción de aceite de palma crudo que comprende poner en contacto los frutos de palma con una composición de enzima y con el uso de dichas composiciones enzimáticas para la extracción de aceite de palma crudo.

La Solicitud de Patente Internacional Publicada WO 2019/068850A1 describe un proceso para la extracción o separación de aceite de palma crudo (CPO), que comprende poner en contacto un sustrato que comprende aceite de palma con una composición enzimática, extraer o separa el aceite de palma crudo (CPO) y en donde el contenido de agua del sustrato que comprende aceite de palma es mayor a 40% p/p.

La Solicitud de Patente Internacional Publicada describe un método para mejorar los rendimientos de aceite de palma para mezclar una composición enzimática que comprende actividad de celulasa con un fruto de palma o una porción del mismo o un líquido de fruto de palma, en donde dicho fruto de palma o porción del mismo o líquido de fruto de palma cuando se mezcla comprende máximo 40% de contenido de agua p/p; incubar la mezcla por entre 0.5 y 8 horas (preferiblemente 4-8 horas) a una temperatura entre 50°C y 95°C; y separar el aceite de otros componentes de la mezcla.

La Patente Europea No. 2716746 A1 describe un método para producir aceite de palma crudo a partir del cual se remueve cloro libre (el cual es una sustancia que crea la formación de ésteres de ácido graso de 3-monocloropropano-1,2-diol (3-MCPD)) antes del proceso de refinado por medio del lavado con agua, tal como agua ultrapura, agua destilada, y/o agua desionizada, la cual no contiene iones de cloro y la cual permite la supresión de la formación de ésteres de 3-MCPD. Este método produce aceite de palma crudo con contenido de cloro libre de 2 ppm o menos y el aceite de palma refinado producido tiene un contenido de ésteres de ácido graso de 3-MCPD de 1 mg/kg o menos.

Aún existe una necesidad en el estado del arte por suministrar un proceso para abordar los anteriores problemas o por lo menos para suministrar una alternativa que resulte en la producción mejorada de aceite de palma crudo, aumentando el OER del FFB y la reducción del contenido de 3-MCPD en el aceite de palma refinado.

RESUMEN DE LA INVENCION

En consecuencia, la presente invención suministra un proceso para producir aceite de palma crudo a partir de racimos de fruto fresco (FFB), el proceso
5 comprende los pasos de esterilizar y trillar los frutos de palma para producir digestor que pasa masa (MPD) a un rango de temperatura entre 90°C y 150°C a presión atmosférica, presionar el MPD para producir aceite de palma crudo sin diluir (UDCO) a un rango de temperatura entre 70°C y 100°C a una presión entre 30 bar y 80 bar, mezclar el UDCO con agua de dilución para producir aceite de palma crudo diluido
10 (DCO) que contiene una fase acuosa entre 5% en peso a 70% en peso y una fase de aceite entre 30% en peso a 95% en peso por medio de centrifugación a una temperatura entre 70°C y 100°C a presión atmosférica, clarificar el DCO en un aceite de palma crudo, mesocarpio y clarificador de desborde y recuperar el aceite de palma crudo del mesocarpio y el clarificador de desborde por medio de un
15 decantador o cetrífuga, producir un sólido de decantador y lodo diluido, caracterizado porque una composición enzimática se mezcla al DCO para formar aceite de palma crudo, por lo cual la tasa de extracción del FFB se incrementa por más o igual a 0.4% en un rango entre 0.4% y 2.0%.

20 BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

La Figura 1 ilustra un proceso de molienda convencional de aceite de palma.

La Figura 2 el proceso de molienda de aceite de palma con composición de enzima que es mezclada en el aceite de palma crudo (1), aceite de palma crudo diluido (2), clarificador de desborde (3), tanque de lodo de salida (4), sólido de
25 decantador (5), y pluralidad de corrientes de lodo (6).

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Aunque la presente invención se describe acá a modo de ejemplo usando figuras y modalidades ilustrativas, se debe entender que la descripción detallada no pretende limitar la invención a las modalidades de figura o figuras descritas y no pretende limitar la invención a la forma particular divulgada, sino que, por el contrario, la invención cubre todas las modificaciones, equivalentes y alternativas que caen dentro del alcance de la presente invención.

La presente invención se describe acá por medio de varias modalidades con referencia a las figuras adjuntas en donde los números de referencia usados en las figuras adjuntas corresponden a las características a través de la descripción. Sin embargo, la presente invención puede ser configurada en varias formas diferentes y no se debe construir como limitada a la modalidad indicada acá. Por lo tanto, las modalidades son provistas de modo que esta divulgación será completa y mostrará completamente el alcance de la invención a los expertos en la materia. Los valores y rangos numéricos y materiales provistos en la descripción detallada deben ser tratados como ejemplos únicamente y no pretenden limitar el alcance de las reivindicaciones de la presente invención.

La terminología y fraseología usada acá es únicamente usada para propósitos descriptivos y no pretende ser limitante en el alcance. Las palabras tales como “que incluye”, “que comprende”, “que tiene”, “que contiene” o “que involucra” y otras variaciones, pretenden ser amplias y cubrir la materia objeto como se describe, incluyendo equivalentes y materia objeto adicional no definida, tal como otros componentes o pasos.

El término “aceite” cuando es usado acá, abarca aceites que son líquidos, semisólidos o sólidos a 20°C. Típicamente, el aceite de palma crudo usado en el presente proceso contiene por lo menos 80% en peso de triglicéridos, más preferiblemente por lo menos 90% en peso de triglicéridos. Ejemplos de aceite de palma crudo que pueden ser refinados por el presente proceso incluyen aceite de palma crudo, fracción de aceite de palma crudo, aceite de semilla de palma crudo,

fracción de aceite de semilla de palma crudo o cualquier combinación de éstos. Preferiblemente, el aceite de palma crudo es aceite de palma crudo o fracción de aceite de palma crudo.

La invención en un aspecto se relaciona con el aceite de palma crudo obtenido u obtenible por el proceso de acuerdo con la presente invención.

La invención en otro aspecto se relaciona con aceite de palma refinado obtenido u obtenible por los procesos de acuerdo con la presente invención.

“Tasa de extracción de aceite (OER” para esta presente invención se refiere a la medición del desempeño de un molino de aceite de palma (rentabilidad en una gran medida es influenciada por la cantidad de aceite obtenido por hectárea), y por lo tanto, está en referencia a la tasa de extracción de aceite de racimos de fruto fresco (FFB). Para los propósitos de esta presente invención OER se calcula al multiplicar la tasa de recuperación de aceite (ORR) con la relación de aceite de palma crudo diluido (DCO) a FFB y la gravedad específica del aceite de palma crudo. ORR es el número obtenido de la lectura del medido de tanque de aceite puro dividido por la lectura del medidor de flujo de DCO. ORR en pruebas a pequeña escala es calculado al dividir la capa de aceite en pruebas de giro (método para medir la composición de DCO usando centrífuga) a las muestras probadas. Hay varios factores que afectan la medición de OER en molinos de aceite de palma, tal como peso de cultivo y peso de la jaula, sin embargo, en general el OER se define como el porcentaje de aceite recuperado del FFB de palma de aceite en los molinos de aceite de palma.

La presente invención se relaciona generalmente con un proceso para producir aceite de palma crudo el cual resulta en OER aumentado del FFB de palma de aceite por al menos 0.4% y/o en donde el contenido de 3-monocloropropanediol (3-MCPD) del aceite de palma refinado muestra una disminución de por lo menos 10%.

Como se mencionó anteriormente, el proceso de extracción de aceite actual requiere mejoras adicionales, moviéndose lejos de las mejoras convencionales que

se enfocan en el proceso de extracción mecánico lo que esencialmente se traduce en mayor inversión de capital y mantenimiento a la larga, lo que no valdría la pena para la industria con el fin de mejorar el proceso de extracción de aceite actual en los molinos de aceite de palma. Así, con referencia a la Figura 2, se propone un
5 proceso usando una composición de silicato y/o composición de enzima para este propósito.

En un proceso de molienda de aceite de palma típico, están involucradas varias operaciones en la extracción de aceite del FFB de palma de aceite, las cuales son esterilización, pelado, digestión y prensado, clarificación, purificación, secado y
10 almacenamiento.

Esencialmente, presionar los frutos de la palma de aceite crea un líquido que es una mezcla de aceite de palma, agua, escombros celulares, material fibroso y sólidos no aceitosos. Estos sólidos no aceitosos hacen que la mezcla sea altamente viscosa, por lo tanto, requieren la adición de agua. La adición de agua hace que los sólidos
15 pesados se asienten en el fondo mientras que las gotas de aceite más livianas se elevarán hacia la parte superior. En otras palabras, presionar los frutos de la palma de aceite produce aceite de palma crudo sin diluir (UDCO), por lo cual, el UDCO es altamente viscoso.

La separación del aceite de lodo del UDCO sería difícil sin la adición de agua.
20 Por lo tanto, se adiciona agua al UDCO para diluirlo, lo cual produce DCO. La adición de agua hace que los sólidos pesados caigan al fondo mientras que las gotas de aceite más livianas aparecerán en la parte superior. La composición de DCO generalmente consisten de aceite, agua, sólidos no aceitosos (es decir, lodo) y material fibroso fino.

25 El proceso de clarificación es el primer paso para recuperar aceite de DCO y requiere agua de dilución para producir aceite y lodo. El lodo contiene aceite en el rango de 2% a 15% el cual puede ser recuperado usando un decantador de 2 fases que produce aceite y suspensión o un decantador de 3 fases que produce aceite,

agua y torta de decantador o una centrífuga de lodo que produce aceite y suspensión.

El contenido de lodo en el DCO varía de aproximadamente 20% a 60%. El alto contenido de lodo requeriría tiempo de retención largo y tanque clarificador más grande para lograr la pureza de aceite requerida obtenida a través del asentamiento por gravedad debido a la presencia de mayor porcentaje de sólidos. El alto contenido de lodo atraparía el aceite dentro de la matriz de sólido del clarificador y se asentaría en el fondo del tanque clarificador lo que resultaría en pérdida de aceite ya que el aceite viajaría hacia el decantador o centrífuga y algo del aceite se perderá en el efluente de molino de aceite de palma (agua de desperdicio).

El paso final en el proceso de extracción de aceite se basa en la fuerza centrífuga del decantador o centrífuga para recuperar el aceite del lodo. La tasa de recuperación depende de la velocidad de rotación del equipo, por lo cual entre mayor sea la rotación, mayor será el ORR. Sin embargo, este enfoque de nuevo resulta en el aumento en costos de mantenimiento y no es la forma más eficiente de proceder (a largo plazo) con el fin de mejorar el ORR (resultando en OER aumentado). En consecuencia, necesita haber un equilibrio entre ORR y costo de mantenimiento.

Los objetivos del proceso de clarificación son separar tanto aceite como sea posible del DCO, para recuperar aceite clarificado a pérdida de aceite mínima, para la separación y disposición eficiente de agua libre y para la separación de impurezas sólidas. Arena y otras impurezas pesadas son drenadas periódicamente del fondo del clarificador. El agua de desperdicio del clarificador, la cual es el desborde de clarificado, luego es enviada al tanque de lodo (tanque de almacenamiento). El aceite clarificado procede al tanque de aceite puro, por lo cual, el tanque de aceite puro es usado para almacenar y mantener las temperaturas del aceite clarificado antes de ser enviado al purificador y al secador de vacío. La función de un purificador es remover el contenido de suciedad del aceite clarificado y la función

de un secador de vacío es remover la humedad el aceite clarificado. El aceite luego es transferido a un tanque de almacenamiento antes de ser despachado del molino. El lodo aún contiene pequeñas cantidades de aceite y, por lo tanto, para optimizar y recuperar tanto aceite como sea posible, el lodo procede a un decantador (separador de 3 fases) o centrífuga. El decantador o centrífuga es para separar más el aceite de las impurezas. El decantador eficientemente separa el lodo en fases de aceite, agua y torta de sólido, mientras que una centrífuga separa la suspensión en aceite y lodo.

En un proceso de molienda estándar de aceite de palma, se requiere tiempo de retención largo y altas temperaturas de aproximadamente 90°C a 95°C en la estación de clarificación para purificar el DCO. El tiempo de retención largo y las altas temperaturas aunque son requeridas para reducir la viscosidad lo cual ayudará en el proceso de clarificación y para permitir un tiempo amplio para asentamiento del aceite para lograr la calidad de aceite deseada, eventualmente degradará la calidad del aceite con el tiempo. Así, con el fin de producir el aceite requerido con la calidad deseada sin tener que invertir en clarificadores grandes para mayor tiempo de retención, se propone por medio de la presente invención el uso de composición de silicato y/o composición de enzima.

Actualmente, la mayoría de molino de alta capacidad (con tasa de procesamiento de 40 mt/hr de FFB procesado y mayor) utiliza decantador (el cual tiene una velocidad de rotación de aproximadamente 3000 rpm) como su selección de equipo para remover lodo del DCO. 3000 rpm se consideraría un rango normal a ser usado en el molino de aceite de palma, lo cual en el momento suministra un equilibrio entre recuperación de aceite y costo de mantenimiento (es decir, máquina, electricidad, etc.), sin embargo, cualquier mayor a esto resultaría en costos de mantenimiento mayores.

El decantador funciona con base en la diferencia entre la gravedad específica del aceite, agua y sólidos. Entre mayor sea la diferencia entre la gravedad específica

de aceite, agua y sólidos, mejor será la recuperación de aceite. La gravedad específica esencialmente es la relación de la densidad de una sustancia a la densidad de una sustancia de referencia (usualmente agua). La composición de silicato y/o composición de enzima es propuesta para la presente invención debido a que la composición de silicato y/o composición de enzima pueden aumentar la gravedad específica de los sólidos y contribuyen al efecto de coalescencia del aceite, lo que se traduce en ORR/OER aumentado.

Las fibras son parte de la porción sólida del DCO. La composición de enzima que contiene celulasas y xilanasa son capaces de degradar las fibras, reduciendo así los sólidos en el DOC. El resultado es un ORR mayor dado que resultan menos sólidos en menor matriz de sólido para atrapar aceite, lo que disminuye las probabilidades de asentamiento de aceite en el fondo del tanque de clarificación. Las proteasas no actúan directamente sobre las fibras, sino que pueden contribuir a menos matriz de sólido.

Las enzimas pueden ayudar en la coalescencia de aceite al formar particulados más grandes, lo que resulta en clarificación más rápida. UDCO y/o DCO se selecciona para el mezclado de la composición de silicato y/o composición de enzima para los mejores resultados posibles para este propósito, ya que es bien conocido que el mezclado con líquido es el mejor modo de mezclar, suministrando buen contacto entre las sustancias (es decir, DCO) y la composición de silicato y/o composición de enzima.

Dado que el aceite puede ser recuperado de la fase de lodo que contiene material fibroso, por lo tanto, se encontró que la composición de silicato y/o composición de enzima adicionada en estas corrientes (tal como lodo de desborde, tanque de lodo, sólido de decantador y varias corrientes de lodo) actúa como catalizadores para liberar el aceite atrapado en los materiales fibrosos, aumentando así el rendimiento/OER de aceite.

El OER de FFB de la presente invención se aumenta por al menos 0.4%, o en el rango entre 0.4% y 6%, preferiblemente 0.5% a 3.0% y más preferiblemente de 0.8% a 2.0%.

El CPO se somete a desgomado, blanqueado y desodorización para producir un aceite de palma refinado. Los presentes inventores demás investigaron sobre el contenido de los niveles de 3-MCPD en el aceite de palma refinado y se sorprendieron por lo resultados que muestran una disminución de por lo menos 10% o entre 10% y 60%. De nuevo, sin desear atarse por la teoría, se cree que esto pasa porque la composición de silicato y/o composición de enzima mezclada en el DCO crea una solución alcalina. La solución alcalina se encuentra que lixivia cloro del aceite de palma crudo. El cloro es conocido como precursor para 3-MCPD, así, la reducción en cloro resultará en reducción en el contenido de 3-MCPD en el aceite de palma refinado.

Ventajosamente, la presente invención no sólo suministra un medio para aumentar OER del FFB, sino que también el aceite de palma refinado muestra una reducción en los niveles de 3-MCPD.

Las definiciones generales son las siguientes para los propósitos de la presente invención:

“Mezclado” o “mezclar” para la presente invención significa una sustancia (es decir, composición de enzima y/o composición de silicato) adicionada, o mezclada en otra sustancia (es decir, MPD, el UDCO (1), el DCO (2), el mesocarpio, el clarificador de desborde (3), un tanque de lodo de salida (4), el sólido de decantador (5), una pluralidad de corrientes de lodo (6) o cualquier combinación) bajo una cierta velocidad de un agitador.

“UDCO” para la presente invención se refiere a una mezcla que contiene aceite de palma, agua, escombro celular, material fibroso y sólidos no aceitosos. Para los propósitos de la presente invención, UDCO se mezcla con agua de dilución para producir DCO que contiene fase acuosa entre 5% en peso y 70% en peso y fase de

aceite entre 20% en peso y 95% en peso. Preferiblemente, la fase acuosa (es decir, el contenido de agua en el DCO9 está entre 15% en peso y 35% en peso y la fase de aceite está entre 30% en peso y 45% en peso. El mezclado de agua como medio de dilución permite que la mezcla (DCO) fluya a través del canal transferido así al clarificador por medio de bombeo. Aparte de esto, la adición de agua reducirá la viscosidad, permitiendo así la separación eficiente de aceite en el clarificador.

“Lodo” para la presente invención se refiere a una mezcla de sólido, agua y algún residuo de aceite. El lodo es generalmente producido cuando el DCO se somete al proceso de clarificación lo cual separa el DCO en dos capas que consisten de aceite, torta de decantador con algún residuo de aceite y aceite (si se usa un decantador de dos fases) o tres capas que consisten de aceite, emulsión (mezcla estable de sólido, agua y aceite la cual sólo puede ser separada por medio de centrifugación a alta velocidad) y lodo (si se utiliza un decantador de tres fases). El lodo contiene aceite en el rango de 2% a 15%. Cuando el lodo pasa a través de la fase de separación, este se dividirá en tres fases, específicamente, aceite, agua y sólidos (es decir, sólidos de decantador) por medio de la fuerza de centrifugación.

“Tiempo de retención” para la presente invención se refiere al tiempo de contacto y el tiempo de mezclado entre enzimas y/o silicato y el digestor de prensa de masa (MPD), el UDCO (1), el DCO (2), el mesocarpio, el clarificador de desborde (3), un tanque de lodo de salida (4), el sólido de decantador (5), una pluralidad de corrientes de lodo (6) o cualquier combinación de éstos bajo cierta velocidad de agitador. El tiempo de retención puede ser usado de forma intercambiable con términos tales como “incubación”, “tiempo de incubación” o “periodo de incubación”. El tiempo de retención para la composición de enzima está en el rango de entre 15 minutos y 8 horas, preferiblemente 30 minutos a 6 horas y más preferiblemente 45 minutos a 4 horas. El tiempo de retención para la composición de silicato está entre 1 minuto y 8 horas, preferiblemente 30 minutos a 6 horas y más preferiblemente 45 minutos a 4 horas.

El proceso primero empieza con la limpieza de los frutos de palma hasta que todos los objetos extraños tales como basura y polvo, son removidos sustancialmente. Esto es seguido por esterilización de los frutos de palma a temperaturas de entre 80°C y 160°C, preferiblemente a temperaturas de entre 90°C a 150°C y más preferiblemente 100°C a 140°C a presión de entre 1 y 3 bar por un periodo de tiempo de entre 50 y 150 minutos para producir furtos de palma sustancialmente esterilizados. La digestión de los frutos de palma esterilizados luego se lleva a cabo en el tanque de digestión a temperaturas de entre 70°C y 100°C a presión atmosférica por un periodo de tiempo de retención de entre 10 y 30 minutos para producir frutos de palma sustancialmente digeridos. La esterilización y el trillado de los frutos de palma produce MDP.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, el MPD luego procede a la etapa de presión a temperaturas de entre 70°C y 100°C y a presión de entre 30 bar y 80 bar para producir UDCO. El rango de temperatura preferido estaría entre 80°C y 95°C y más preferido, 90°C a 95°C. El UDCO luego es mezclado con agua de dilución para producir DCO que contiene fase acuosa entre 5% en peso y 70% en peso, preferiblemente 15% en peso a 35% en peso y fase de aceite de entre 20% en peso y 95% en peso, preferiblemente 30% en peso a 45% en peso.

ENZIMAS

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, una composición de enzima se mezcla con el MPD, el UDCO (1), el DCO (2), el mesocarpio, el clarificador de desborde (3), el tanque de lodo de salida (4), el sólido de decantador (5) y/o la pluralidad de corrientes de lodo (6), específicamente el DCO (2).

La composición de enzima se selecciona a partir del grupo que consiste de celulasa, hemicelulasa, endo-1,4-β-xilanasas, endoglucanasa de β-xilosidasa, exoglucasa, β-glucosidasa, celobiohidrolasa, alfa-arabinofuranosidasa, pectinasa, proteasas, papaína o cualquier combinación de éstos.

La composición de enzima puede, cuando se mezcla, estar en la forma de una solución acuosa a una temperatura en el rango entre 40°C a 95°C, preferiblemente 50°C a 65 °C, 60 °C a 75 °C, o 65°C a 85°C , 70°C a 85°C o 70°C a 95°C, y preferiblemente 65°C a 95°C, más preferiblemente 80°C a 95°C con concentración
5 entre 50 ppm a 1,500 ppm, preferiblemente 50 ppm a 550 15 ppm o 100 ppm a 550 ppm o 150 ppm a 600 ppm o 200 ppm a 700 ppm más preferiblemente 300 ppm a 500 ppm en peso del MPD, el UDCO (1), el DCO (2), el mesocarpio, el clarificador de desborde (3), el tanque de lodo de salida (4), el sólido de decantador (5) y/o la pluralidad de corrientes de lodo (6).

10 El término “tasa de flujo de dilución de enzimas” para la presente invención se refiere a la relación de enzimas a agua usada en la dilución de las enzimas.

La tasa de flujo de dilución de la composición de enzima con agua en rango de temperatura entre 40°C a 95°C, preferiblemente 65°C a 95°C está en el rango de 1 a 1000 litros/hora, preferiblemente 250 litros/hora a 1000 litros/hora, 300
15 litros/hora a 1000 litros/hora, 500 litros/hora a 1000 litros/hora, más preferiblemente 500 litros/hora a 750 litros/hora y el tiempo de retención para la reacción de la composición de enzima con el MPD, el UDCO (1), el DCO (2), el mesocarpio, el clarificador de desborde (3), el tanque de lodo de salida (4), el sólido de decantador (5) y/o la pluralidad de corrientes de lodo (6) está entre 1 minuto y 8 horas,
20 preferiblemente 30 minutos a 6 horas y más preferiblemente 45 minutos a 4 horas.

El término “material celulósico” para la presente invención significa cualquier material que contiene celulosa. El polisacárido predominante en la pared celular primaria de biomasa es celulosa, el segundo más abundante es hemicelulosa, y el tercero es pectina. La pared celular secundaria, producida después que la célula a
25 parado de crecer, también contiene polisacáridos y se fortalece mediante lignina polimérica reticulada covalentemente con hemicelulosa. La celulosa es un homopolímero de anhidrocelobiosa y, por lo tanto, un beta-(1-4)-D-glucano línea, mientras que las hemicelulosas incluyen una variedad de compuestos, tales como

xilanos, xiloglucanos, arabinoxilanos, y mananos en estructuras ramificadas complejas con un espectro de sustituyentes. Aunque es generalmente polimorfa, la celulosa se encuentra en tejido de planta principalmente como una matriz cristalina insoluble de cadenas de glucano paralelas. Las hemicelulosas usualmente se unen con hidrógeno a la celulosa, así como a otras hemicelulosas, las cuales ayudan a estabilizar la matriz de pared celular.

La celulosa se encuentra generalmente, por ejemplo, en los tallos, hojas, cáscaras, vainas, y tusas de plantas u hojas, ramas, y madera de árboles. El material celulósico puede ser, pero no se limita a, residuo agrícola, material herbáceo (incluyendo cultivos de energía), desperdicio sólido municipal, residuo de planta de pulpa y papel, papel de desperdicio, y madera (incluyendo residuo forestal) (ver, por ejemplo, Wiselogle y otros, 1995, en Manual en Bioetanol (Charles E. Wyman, editor), pp. 105-118, Taylor & Francis, Washington DC; Wyman, 1994, Tecnología de Biorrecurso 50: 3-16; Lynd, 1990, Bioquímica y Biotecnología Aplicada 24/25: 695-719; Mosier y otros, 1999, Progreso Reciente en Bioconversión de Lignocelulósicos, en Avances en Ingeniería Bioquímica/Biotecnología, T. Scheper, editor en jefe, Volumen 65, pp. 23-40, Springer-Verlag, Nueva York). Se entiende acá que la celulosa puede estar en la forma de lignocelulosa, un material de pared celular de planta que contiene lignina, celulosa, y hemicelulosa en una matriz mezclada. En un aspecto, el material celulósico es cualquier material de biomasa. En otro aspecto, el material celulósico es lignocelulosa, la cual comprende celulosa, hemicelulosas, y lignina.

El término “enzima celulolítica” o “celulasa” significa una o más (por ejemplo, varias) enzimas que hidrolizan un material celulósico. Dichas enzimas incluyen endoglucanasas, celobiohidrolasas, beta-glucosidasas, o combinaciones de éstas. Los dos enfoques básicos para medir la actividad de enzima celulolítica incluyen: (1) medir la actividad de enzima celulolítica total, y (2) medir las actividades de enzima celulolítica individual (endoglucanasas, celobiohidrolasas, y beta-

glucosidasas) como es revisado en Zhang y otros, 2006, Avances en Biotecnología 24: 452-481. La actividad de enzima celulolítica total puede ser medida usando sustratos insolubles, incluyendo papel filtro Whatman No. 1, celulosa microcristalina, celulosa bacteriana, celulosa algal, algodón, lignocelulosa pretratada, etc. El ensayo de actividad celulolítica total más común es el ensayo con papel de filtro usando papel de filtro Whatman No. 1 como el sustrato. El ensayo fue establecido por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) (Ghose, 1987, Pure Appl. Chem. 59: 257-68). El término glucanasa es usado acá como un sinónimo de celulasa.

La actividad de enzima celulolítica puede ser determinada al medir el aumento en producción/liberación de azúcares durante la hidrólisis de un material celulósico por medio de enzimas celulolíticas bajo las siguientes condiciones: 1-50 mg de proteína de enzima celulolítica por gramo de celulosa en rastrojo de maíz pretratado (PCS) (u otro material celulósico pretratado) por 3-7 días a una temperatura adecuada tal como 40°C-80°C, por ejemplo, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, o 80°C, y un pH adecuado, tal como 4-9, por ejemplo, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, o 9.0, en comparación a hidrólisis de control sin la adición de proteína de enzima celulolítica. Las condiciones típicas son 1 ml de PCS de reacciones, lavado o sin lavar, 5% de sólidos insolubles (peso seco), 50 mM de acetato de sodio pH 5, 1 mM MnSO₄, 50°C, 55°C, o 60°C, 72 horas, análisis de azúcar por cromatografía de columna AMINEX® HPX-87H (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, EE.UU.)

El término “endoglucanasa” significa una 4-glucanohidrolasa de 4-(1,3;1,4)-beta-D-glucano (E.C. 3.2.1.4) que cataliza endohidrólisis de enlaces 1,4-beta-D-glicosídicos en celulosa, derivados de celulosa (tal como celulosa de carboximetilo y celulosa de hidroxietilo), liquenina, uniones beta-1,4 en glucanos beta-1,3-1,4 mezclados tal como beta-D-glucanos o xiloglucanos de cereal, y otro material de planta que contiene componentes celulósicos. La actividad de endoglucanasa

puede ser determinada al medir la reducción en viscosidad de sustrato o aumento en extremos de reducción determinado por un ensayo de reducción de azúcar (Zhang y otros, 2006, Avances en Biotecnología 24: 452-481). La actividad de endoglucanasa también puede ser determinada usando celulosa de carboximetilo (CMC) como sustrato de acuerdo con el procedimiento de Ghose, 1987, Pure and Appl. Chem. 59: 257-268, a pH 5, 40°C.

El término “celobiohidrolasa” significa una celobiohidrolasa de 1,4-beta-D-glucano (E.C. 3.2.1.91 y E.C. 3.2.1.176) que cataliza la hidrólisis de enlaces 1,4-beta-D-glucosídicos en celulosa, celooligosacáridos, o cual glucosa enlazada en beta-1,4 que contiene polímero, liberando celobiosa del extremo reductor (celobiohidrolasa I, también conocida como exoglucanasa I) o extremo no reductor (celobiohidrolasa II, también conocida como Exoglucanasa II) de la cadena (Teeri, 1997, Tendencias en Biotecnología 15: 160-167; Teeri y otros, 1998, Biochem. Soc. Trans. 26: 173-178). La actividad de celobiohidrolasa puede ser determinada de acuerdo con los procedimientos descritos por Lever y otros, 1972, Anal. Biochem. 47: 273-279; val Tilbeurgh y otros, 1982, FEB Letters 149: 152-156; van Tilbeurgh y Claeysens 1985, FEB Letters 187: 283-288; y Tomme y otros, 1988, Eur. J. Biochem. 170: 575-581. Las celobiohidrolasas también con conocidas como exocelulasas.

El término “beta-glucosidasa” significa una glucohidrolasa de beta-D-glucosida (E.C. 3.2.1.21) que cataliza la hidrólisis de residuos terminales de beta-D-glucosa no reductores con la liberación de beta-D-glucosa. La actividad de beta-glucosidasa puede ser determinada usando p-nitrofenil-beta-D-glucopiranosida como sustrato de acuerdo con el procedimiento de Venturi y otros, 2002, J. Basic Microbiol. 42: 55-66. Una unidad de beta-glucosida es definida como 1.0 µmol de anión de p-nitrofenolato producido por minuto a 25°C, pH 4.8 de 1 mM de p-nitrofenil-beta-D-glucopiranosida como sustrato en 50 mM de citrato de sodio que contiene 0.01% de Tween® 20.

El término “enzima hemicelulolítica” o “hemicelulasa” significa una o más “por ejemplo, varias) enzimas que hidrolizan un material hemicelulósico. Ver, por ejemplo, Shallom y Shoham, 2003, Opinión Actual en Microbiología 6(3): 219-228). Las hemicelulasas son componentes claves en la degradación de biomasa de planta. Ejemplos de hemicelulasas incluyen, pero no se limitan a, una esterasa de acetilmanan, una esterasa de acetilxilano, una arabinasa, una arabinofuranosidasa, una esterasa de ácido curámico, una esterasa de feruloil, una galactosidasa, una glucuronidasa, una esterasa de glucuronoil, una mananasa, una manosidasa, una xilanasa, y una xilosidasa. Los sustratos para estas enzimas, hemicelulosas, son un grupo heterogéneo de polisacáridos ramificados y lineales que se unen por medio de uniones de hidrógeno a las microfibrillas de celulosa en la pared celular de planta, reticulándolas en una red robusta. Las hemicelulosas también son unidas covalentemente a lignina, formando juntas con celulosa una estructura altamente compleja. La estructura y organización variable de hemicelulosas requiere la acción concertada de varias enzimas para su degradación completa. Los módulos catalíticos de hemicelulasas son hidrolasas de glucósido (GH) que hidrolizan uniones glicosídicas, o esterasas de carbohidrato (CE), las cuales hidrolizan enlaces de éster de acetato o grupos laterales de ácido ferúlico. Estos módulos catalíticos, basados en la homología de su secuencia primaria, pueden ser asignados en familias GH y CE. Algunas familias, con un doblez general similar, pueden ser además agrupadas en clanes, marcados alfabéticamente (por ejemplo, GH-A). una clasificación más informativa y actualizada de estas y otras enzimas activas de carbohidrato están disponibles en la base de datos de Enzimas Activas de Carbohidrato (CAZy). Las actividades de enzima hemicelulolítica pueden ser medidas de acuerdo con Ghose y Bisaria, 1987, Pure & Appl. Chem. 59: 1739-1752, a una temperatura adecuada tal como 40°C a 80°C, por ejemplo, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, o 80°C, y un pH adecuado tal como 4-9, por ejemplo, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, o 9.0.

El término “mananasa” significa una enzima que hidroliza residuos terminales no reductores de beta-D-manosa (EC 3.2.1.25). Estos son parte de hemicelulasas. Por ejemplo, la mananasa puede ser determinada por hidrólisis de goma de algarrobo a pH 5.3 y 50°C, y el azúcar reductor resultante puede ser determinado por método DNSA.

El término “material hemicelulósico” significa cualquier material que comprende hemicelulosas. Las hemicelulosas incluyen xilano, glucuronoxilano, arabinoxilano, glucomanano, y xiloglucano. Estos polisacáridos contienen varios monómeros de azúcar diferentes. Los monómeros de azúcar en hemicelulosa pueden incluir xilosa, manosa, galactosa, ramnosa, y arabinosa. Las hemicelulosas contienen la mayoría de los azúcares de D-pentosa. La xilosa es en la mayoría de los casos el monómero de azúcar presente en la mayor cantidad, aunque en manosa de madera suave puede ser el azúcar más abundante. El xilano contiene una estructura de residuos de xilosa enlazados en beta-(1-4). Los xilanos de plantas terrestres son heteropolímeros que poseen una estructura de beta-(1-4)-D-xilopiranosas, la cual es ramificada por cadenas de carbohidrato cortas. Ellas comprenden ácido D-glucurónico o su éter de 4-O-metilo, L-arabinosa, y/o varios oligosacáridos, compuestos de D-xilosa, L-arabinosa, D- o L-galactosa, y D-glucosa. Los polisacáridos tipo xilano se pueden dividir en homoxilanos y heteroxilanos, los cuales incluyen glucuronoxilanos, (arabino)glucuronoxilanos, (glucurono)arabinoxilanos, arabinoxilanos, y heteroxilanos complejos. Ver, por ejemplo, Ebringerova y otros, 2005, Adv. Polym. Sci. 186: 1-67. El material hemicelulósico también es conocido acá como “material que contiene xilano”.

El término “actividad degradadora de xilano” o “actividad xilanolítica” significa una actividad biológica que hidroliza material que contiene xilano. Los dos enfoques básicos para medir la actividad xilanolítica incluyen: (1) medir la actividad xilanolítica total, y (2) medir las actividades xilanolíticas individuales (por ejemplo, endoxilanasas, beta-xilosidasas). El progreso reciente en ensayos de enzimas

xilanolíticas se resume en varias publicaciones incluyendo Biely y Puchard, 2006, Diario de la Ciencia de Alimentos y Agricultura 86(11): 1636-1647; Spanikova y Biely, 2006, FEBS Letters 580(19): 4597-4601; Herrimann y otros, 1997, Diario de Bioquímica 321: 375-381.

5 La actividad degradadora de xilano total puede ser medida al determinar los azúcares reductores formados a partir de varios tipos de xilano, incluyendo, por ejemplo, avena espelta, madera de haya, y xilanos de alerce, o por determinación fotométrica de fragmentos secos de xilano liberados de varios xilanos tinturados covalentemente. Un ensayo de actividad xilanolítica total común se basa en la
10 producción de azúcares reductores glucuronoxilano de 4-O-metilo polimérico como se describe en Bailey y otros, 1992, Prueba de interlaboratorio de métodos para ensayo de actividad xilanasa, Diario de Biotecnología 23(3): 257-270. La actividad de xilanasa también puede ser medida con 0.2% AZCL-arabinoxilano como sustrato en 0.01% TRITON® X-100 y 200 mM fosfato de sodio pH 6 a 37°C. Una unidad de
15 actividad de xilanasa se define como 1.0 µmol de azurina producida por minuto a 37°C, pH 6 a partir de 0.2% AZCL-arabinoxilano como sustrato en 200 mM fosfato de sodio pH 6.

 La actividad degradadora de xilano puede ser determinada al medir el aumento en hidrólisis xilano de madera de abedul (Sigma Chemical Co., Inc., St. Louis, MO, EE.UU.) por exima de degradación de xilano bajo las siguientes condiciones típicas:
20 1 ml de reacciones, 5 mg/ml de sustrato (sólidos totales), 5 mg de proteína xilanolítica/g de sustrato, 50 mM de acetato de sodio pH 5, 50°C, 24 horas, análisis de azúcar usando ensayo de hidrazida de ácido p-hidroxibenzoico (PHBAH) como se describe por Lever, 1972, Anal. Biochem. 47: 273-279.

25 El término “xilanasa” significa una 1,4-beta-D-xilano-xilohidrolasa (E.C. 3.2.1.8) que cataliza la endohidrólisis de enlaces 1,4-beta-D-xilosídico en xilanos. La actividad de xilanasa puede ser determinada con 0.2% AZCL-arabinoxilano como sustrato en 0.01% TRITON® X-100 y 200 mM de fosfato de sodio pH 6 a 37°C. Una

unidad de actividad de xilanasa se define como 1.0 μ mol de azurina producida por minuto a 37°C, pH 6 a partir de 0.2% AZCL-arabinoxilano como sustrato en 200 mM de fosfato de sodio pH 6. El término xilanasa como es usado acá también se refiere a endo-1,4- β -xilanasa.

5 El término “beta-xilosidasa” significa una xilohidrolasa de beta-D-xilosida (E.C. 3.2.1.37) que cataliza la exo-hidrólisis de (1-4)-xilooligosacáridos beta cortos para remover los residuos sucesivos de D-xilosa de terminales no reductores. La actividad de beta-xilosidasa puede ser determinada usando 1 mM de p-nitrofenil-beta-D-xilosida como sustrato en 100 mM de citrato de sodio que contiene 0.01% de TWEEN® 20 a pH 5, 40°C. Una unidad de beta-xilosidasa se define como 1.0
10 μ mol de anión de p-nitrofenolato producido por minuto a 40°C, pH 5 a partir de 1 mM de p-nitrofenil-beta-D-xilosida en 100 mM de citrato de sodio que contiene 0.01% TWEEN® 20.

El término “exoglucanasa” significa una celobiohidrolasa de 1,4-beta-D-
15 glucano (E.C. 3.2.1.91).

El término alfa-arabinofuranosidasa significa una α -L-arabinofuranosidasa (E.C. 3.2.1.55), y es un ejemplo de una hemicelulasa. Esta también se puede clasificar como una pectinasa.

El término “pectinasa” se define como cualquier enzima que degrada
20 sustancias pécticas. Las sustancias pécticas incluyen homogalacturonanos, xilogalacturonanos, y ramnogalacturonanos así como derivados de éstos. El tratamiento de pectinasa puede ser logrado por una o más pectinasas, tal como dos o más pectinasas del mismo tipo (por ejemplo, dos metilesterasas de pectina diferentes) o de dos tipos diferentes (por ejemplo, una metilesterasa y una arabinasa
25 de pectina). La pectinasa puede, por ejemplo, seleccionarse del grupo que consiste de arabinasa (cataliza la degradación de cadenas laterales de arabinano de sustancias pécticas), arabinofuranosidasa (remueve sustituyentes de arabinosilo de arabinanos y arabinogalactanos), galactanasa (cataliza la degradación de

arabinogalactano y cadenas laterales de galactano de sustancias pécticas), pectato liasa (escinde uniones glicosídicas en ácido poligalacturónico por eliminación beta), acetilesterasa de pectina (cataliza la remoción de grupos acetilo de pectina acetilada), liasa de pectina (escinde las uniones glicosídicas de pectinas altamente metiladas por eliminación beta), metilesterasa de pectina (cataliza la remoción de metanol de pectina, resultando en la formación de ácido péctico, ácido poligalacturónico), poligalacturonasa (hidroliza los enlaces glicosídicos en la cadena de ácido poligalacturónico), acetilesterasa de ramnogalacturonano (cataliza la remoción de grupos acetilo de ramnogalacturonanos acetilados), y liasa de ramnogalacturonasa y ramnogalaturonano (degrada ramnogalacturoranos).

Los inventores han encontrado sorprendentemente que los procesos de acuerdo con la presente invención llevan a un aumento en la tasa de extracción de aceite, así como a la reducción de la formación de 3-MCPD cuando el aceite de palma crudo es refinado. Más recientemente, se han empleado enzimas para mejorar la extracción de aceite de palman por medio de desintegración enzimática del fruto de palma. Las enzimas adecuadas para la presente invención son enzimas que son capaces de quebrar las paredes celulares de la plana, por ejemplo, material celulósico y/o hemicelulósico, para aumentar el rendimiento de extracción de aceite, y en particular, el residuo de planta que permanece en las diferentes etapas del proceso de extracción de aceite (por ejemplo, lodo, clarificador de desborde, fibras que forman parte de la porción sólida del DCO, sólido de decantador, mesocarpio, material fibroso fino). Así, por lo menos una enzima se selecciona del grupo que consiste de la celulasa, hemicelulasa, endo-1,4- β -xilanasa, β -xilosidasa, endoglucanasa, β -glucosidasa (es decir, beta-glucosidasa), celobiohidrolasa, alfa-arabinofuranosidasa, pectinasa, proteasas, papaína y cualquier combinación de éstas.

Una modalidad adicional se relaciona con que por lo menos una enzima es seleccionada del grupo que consiste de celulasa, hemicelulasa, endi-1,4- β -xilanasa,

endoglucanasa, exoglucasa, β -glucosidasa, celobiohidrolasa, alfa-arabinofuranosidasa, pectinasa o cualquier combinación de éstas.

Una modalidad adicional se relaciona con que por lo menos una enzima es seleccionada del grupo que consiste de celulasa, hemicelulasa, xilanasa o cualquier
5 combinación de éstas.

En una modalidad, la por lo menos una enzima es mananasa y/o xilanasa. Una modalidad adicional se relaciona con que la por lo menos una enzima es una composición enzimática que comprende una o más de celulasa, hemicelulasa, pectinasa y xilanasa.

10 En una modalidad, la por lo menos una enzima es una composición enzimática que comprende celulasa, hemicelulasa, pectinasa, mananasa y/o xilanasa.

De forma adecuada, la por lo menos una enzima de acuerdo con la invención está en la forma de una composición enzimática que comprende celulasa. La celulasa puede ser una endoglucanasa (por ejemplo, una beta-glucanasa).

15 En una modalidad, la composición enzimática, adicional a comprender celulasa, comprende una o más de las siguientes enzimas: mananasa, pectinasa, xilanasa y una combinación de éstas.

La composición de enzima de acuerdo con la presente invención puede ser un extracto crudo o purificado de un fermentado de *Trichoderma resei*.

20 En una modalidad, la composición enzimática comprende celulasa como se describió anteriormente y mananasa.

En una modalidad, la composición enzimática comprende celulasa como se describió anteriormente y xilanasa.

Una modalidad particular se relaciona con que la por lo menos una enzima
25 (por ejemplo, en una composición enzimática) comprende o consiste de xilanasa como se describe en WO 2019/068850, en particular una o más GH10 Xilanasa como se define en la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 4 de WO 2019/068850.

Una modalidad particular se relaciona con que la por lo menos una enzima está en la forma de una composición enzimática que comprende una o más GH10 Xilanasa como se define en la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 4 de WO 2019/068850.

5 Modalidades adicionales se relacionan con que la por lo menos una enzima está en la forma de una composición enzimática que comprende celulasa, por ejemplo, un extracto crudo o purificado de un fermentado de *Trichoderma resei*, y una o más xilanasa, por ejemplo, una o más GH10 Xilanasa, tal como GH10 xilanasa como se define en la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 4 de WO
10 2019/068850, en particular GH10 de la SEQ ID NO: 1 (que es una xilanasa termoestable).

Modalidades adicionales se relacionan con que la por lo menos una enzima está en la forma de una composición enzimática que comprende celulasa, por ejemplo, un extracto crudo o purificado de un fermentado de *Trichoderma resei*, y
15 una o más mananasa. Una modalidad particular se relaciona con que la por lo menos una enzima está en la forma de una composición enzimática como se describe en MY 2018/09010 (P00-2018-03505).

Una modalidad particular se relaciona con que la por lo menos una enzima está en la forma de una composición enzimática. Modalidades particulares de la
20 presente invención se relacionan con que la por lo menos una enzima es una enzima termoestable (como se define acá). Así, una modalidad particular de la composición enzimática comprende o consiste de celulasa como se describió anteriormente y una mananasa termoestable.

En una modalidad particular adicional, la composición de enzima comprende
25 o consiste de celulasa como se describió anteriormente y una xilanasa termoestable, tal como, por ejemplo, una o más GH10 xylanasa, tal como GH10 xilanasa como se define en la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 4 de WO

2019/068850, en particular GH10 de la SEQ ID NO: 1 (que es una xilanasas termoestable).

Enzimas Termoestables

5 Como se usa acá, “termoestabilidad” se refiere a la estabilidad de una enzima cuando la enzima es probada o se deja a una temperatura alta específica, tal como 70°C. La termoestabilidad puede ser determinada al incubar la enzima en un amortiguador adecuado (por ejemplo, 0.1 M de amortiguador Na-AOAc pH 5.0) a una temperatura elevada, por ejemplo, 70°C por periodos de tiempo variantes (es decir, 10 0 min, 20 min, 40 min y 60 minutos) seguido por transferencia de las muestras a hielo, y luego determinar la actividad de enzima residual. Por ejemplo, la actividad de celulasas residual puede ser determinada en Konelab usando el siguiente protocolo:

- 15 • Sustrato: carboximetilcelulosa (CMC), 5 g/L en amortiguador Na-AOAc pH 5.0.
- Disolución de muestra y amortiguador de dilución: 0.1 M amortiguador Na-AOAc pH 5.0
- Reactivo de detención y detección: PAHBAH, 50 g/L de tartrato de K-Na, 20 g/L de PAHBAH, 5.52 g/L de acetato de bismuto (III), 0.5 M NaOH
- 20 • Principio de ensayo: Se hidroliza celulosa y forma carbohidrato reductor. El sustrato de carboximetilcelulosa (CMC) es una forma sustituida de celulosa. La reacción se detiene por medio de un reactivo alcalino que contiene PAHBAH y bismuto que forma complejos con azúcar reductor. La formación de complejo resulta en producción de color que se puede leer a 25 405 nm por un espectrofotómetro. El color producido es proporcional a la actividad de celulosa.
- La actividad residual es calculada y trazada contra el tiempo del tratamiento de calor

Debido a las temperaturas a las cuales se realizan los diferentes pasos de extracción de aceite de palma, es una ventaja si la por lo menos una enzima es termoestable. Preferiblemente, la por lo menos una enzima es termoestable en una medida que por lo menos 15% de la actividad de enzima (por ejemplo, actividad de
5 celulasa, hemicelulasa, y/o xilanasa) es retenida después de incubación a 70°C por 20 minutos, a una medida tal que por lo menos 20% de la actividad de enzima es retenida después de incubación a 70°C por 20 minutos, a una medida tal que por lo menos 25% de la actividad de enzima es retenida después de incubación a 70°C por 20 minutos, a una medida tal que por lo menos 30% de la actividad de enzima
10 es retenida después de incubación a 70°C por 20 minutos, a una medida tal que por lo menos 35% de la actividad de enzima es retenida después de incubación a 70°C por 20 minutos, a una medida tal que por lo menos 40% de la actividad de enzima es retenida después de incubación a 70°C por 20 minutos, a una medida tal que por lo menos 20% de la actividad de enzima es retenida después de incubación a 50°C
15 por 20 minutos, a una medida tal que por lo menos 60% de la actividad de enzima es retenida después de incubación a 70°C por 20 minutos, o a una medida tal que por lo menos 70% de la actividad de enzima es retenida después de incubación a 70°C por 20 minutos.

La termoestabilidad puede, en particular, ser determinada por incubación a
20 70°C por 20 minutos en un amortiguador de 0.1 M Na-OAc pH 5.0, seguido por transferencia a hielo y determinación de actividad de enzima residual (es decir, actividad de celulasa residual, hemicelulasa, y/o xilanasa) en Konelab por un método que comprende: hidrolizar sustrato (por ejemplo, carboximetilcelulosa (CMC)) que forma carbohidrato reductor; detener la hidrolización por un reactivo
25 alcalino que contiene PAHBAH y bismuto, el cual forma complejos con azúcar reductor; y medir la producción de color por formación de complejo a 405 nm en un espectrofotómetro.

Los inventores han encontrado sorprendentemente que los procesos de acuerdo con la invención llevan a un aumento en la tasa de extracción de aceite, así como a la reducción de formación de 3-MCPD cuando el aceite de palma crudo es refinado, cuando la por lo menos una enzima es mezclada con el UDCO (1), y/o el DCO (2).

El mezclado de la enzima es típicamente mediante la adición de una composición de enzima acuosa al UDCO (1) y/o el DCO (2) seguido por mezclado. En una modalidad particular, la por lo menos una composición enzimática es mezclada y luego incubada con el UDCO, y/o el DCO bien sea justo antes (por ejemplo, mezclando con UDCO, o con DCO) o durante la clarificación (DCO).

Después de mezclar la por lo menos una composición enzimática, la composición enzimática es incubada con el UDCO o el DCO por un periodo de tiempo. Un experto en la materia estará en capacidad de seleccionar un tiempo y una temperatura adecuada para incubación empíricamente con base en experimentación de rutina.

La incubación puede ser a una temperatura en el rango entre 40°C y 95°C, tal como 50°C a 65°C, 60°C a 75°C, o 65°C a 85°C, 70°C a 85°C o 70°C a 95°C y preferiblemente 65°C a 95°C y más preferiblemente 80°C a 95°C.

El tiempo de retención/incubación para la composición enzimática está en el rango de entre 15 minutos y 8 horas, preferiblemente 30 minutos a 6 horas y más preferiblemente 45 minutos a 4 horas. La incubación puede ser por ejemplo por un periodo de tiempo de 20 minutos a aproximadamente 9 horas, por ejemplo, tal como de 20 minutos a 8 horas, por ejemplo, de 20 minutos a 7 horas, de 20 minutos a 6 horas, tal como, por ejemplo, de 0.5 horas a 8 horas, por ejemplo, de 0.5 horas a 7 horas, 0.5 horas a 6 horas.

En una modalidad, la invención se relaciona con un proceso de acuerdo con la presente invención, en donde la por lo menos una enzima comprende o consiste de celulasa como se describió anteriormente, una mananasa termoestable y/o una

xilanasa termoestable, tal como, por ejemplo, una o más GH10 xilanasa, tal como GH10 xilanasa como se define en la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 4 de WO 2019/068850, en particular GH10 de la SEQ ID NO: 1 (que es una xilanasa termoestable) y en donde dicha enzima o composición enzimática se mezcla con el

5 UDCO (1), y/o el DCO (2).

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para mejorar la recuperación de aceite a partir de MPD, UDCO (1), DCO (2), clarificador de desborde (3), tanque de lodo de salida (4), sólido de decantador (5), una pluralidad

10 de corrientes de lodo (6) o cualquier combinación de éstos, dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con el MPD, UDCO (1), DCO (2), clarificador de desborde (3), tanque de lodo de salida (4), sólido de decantador (5), pluralidad de corrientes de lodo (6) o cualquier combinación de éstos, seguido por clarificación para formar aceite de palma crudo.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para mejorar la recuperación de aceite a partir de MPD, UDCO (1) y/o DCO (2), dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con el MPD, UDCO (1) y/o

15 DCO (2), seguido por clarificación para formar aceite de palma crudo.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para mejorar la recuperación de aceite a partir de MPD, dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con el MPD, seguido por clarificación para formar

20 aceite de palma crudo.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para mejorar la recuperación de aceite a partir de UDCO (1), dicho uso incluye mezclar la por lo

25

menos una composición enzimática con el UDCO (1), seguido por clarificación para formar aceite de palma crudo.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para mejorar la
5 recuperación de aceite a partir de DCO (2), dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con el DCO (2), seguido por clarificación para formar aceite de palma crudo.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para mejorar la
10 recuperación de aceite a partir de UDCO (1) y DCO (2), dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con el UDCO (1) y DCO (2), seguido por clarificación para formar aceite de palma crudo.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para mejorar la
15 recuperación de aceite a partir de MPD y UDCO (1), dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con el MPD y UDCO (1), seguido por clarificación para formar aceite de palma crudo.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para mejorar la
20 recuperación de aceite a partir de MPD y DCO (2), dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con el MPD y DCO (2), seguido por clarificación para formar aceite de palma crudo.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para mejorar la
25 recuperación de aceite a partir de MPD, UDCO (1) y DCO (2), dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con el MPD, UDCO (1) y DCO (2), seguido por clarificación para formar aceite de palma crudo.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para reducir el contenido de 3-MCPD de un aceite de palma refinado, dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con un MPD, UDCO (1), DCO (2), clarificador de desborde (3), tanque de lodo de salida (4), sólido de decantador (5), una pluralidad de corrientes de lodo (6) o cualquier combinación de éstos, seguido por desgomado, blanqueado y desodorización del aceite de palma para obtener el aceite de palma refinado.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para reducir el contenido de 3-MCPD de un aceite de palma refinado, dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con MPD, UDCO (1) y/o DCO (2), seguido por desgomado, blanqueado y desodorización del aceite de palma para obtener el aceite de palma refinado.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para reducir el contenido de 3-MCPD de un aceite de palma refinado, dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con UDCO (1), seguido por desgomado, blanqueado y desodorización del aceite de palma para obtener el aceite de palma refinado.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para reducir el contenido de 3-MCPD de un aceite de palma refinado, dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con DCO (2), seguido por desgomado, blanqueado y desodorización del aceite de palma para obtener el aceite de palma refinado.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para reducir el

contenido de 3-MCPD de un aceite de palma refinado, dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con MPD, seguido por desgomado, blanqueado y desodorización del aceite de palma para obtener el aceite de palma refinado.

5 De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para reducir el contenido de 3-MCPD de un aceite de palma refinado, dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con MPD, UDCO (1) y DCO (2), seguido por desgomado, blanqueado y desodorización del aceite de palma para obtener el
10 aceite de palma refinado.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para reducir el contenido de 3-MCPD de un aceite de palma refinado, dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con MPD y UDCO (1), seguido por
15 desgomado, blanqueado y desodorización del aceite de palma para obtener el aceite de palma refinado.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para reducir el contenido de 3-MCPD de un aceite de palma refinado, dicho uso incluye mezclar la
20 por lo menos una composición enzimática con MPD y DCO (2), seguido por desgomado, blanqueado y desodorización del aceite de palma para obtener el aceite de palma refinado.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la presente invención suministra un uso de por lo menos una composición enzimática para reducir el
25 contenido de 3-MCPD de un aceite de palma refinado, dicho uso incluye mezclar la por lo menos una composición enzimática con UDCO (1) y DCO (2), seguido por desgomado, blanqueado y desodorización del aceite de palma para obtener el aceite de palma refinado.

Se ha mostrado sorprendentemente que mezclar la composición enzimática de acuerdo con la presente invención con MPD, UDCO (1) y/o DCO lleva a OER aumentado, así como a formación reducida de 3MCPD en la refinación de aceite de palma crudo.

5 Además, se han mostrado resultados sorprendentes que mezclar la composición enzimática de acuerdo con la presente invención con DCO lleva a OER aumentado, así como a formación reducida de 3MCPD en la refinación de aceite de palma crudo.

10

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Evaluación sobre el uso de composición de enzima (dosificación en DCO) en un molino de aceite de palma con capacidad de procesamiento de 60mt FFB
15 procesado/hora en el incremento de OER y reducción de 3-MCPD

Racimos de frutos frescos (FFB) primero fueron esterilizados usando un esterilizador horizontal convencional – esterilización de pico triple convencional con presión máxima de 3 bar. El FFB esterilizado luego se procedió a un medio de trillado doble convencional para la separación de los frutos sueltos de palma de
20 aceite de los racimos, lo cual produjo la corriente MPD. La corriente MPD luego se procedió dentro del digestor para el proceso de digestión, por lo cual, el periodo de digestión se mantuvo a 12 minutos a la temperatura de 90°C. El MPD digerido se presionó usando una prensa de doble tornillo lo que resultó en el UDCO, el cual fue diluido usando agua caliente para crear el DCO. La parte acuosa del aceite de palma
25 crudo diluido se mantuvo en el rango de 25% a 35%, como fue evaluado usando la prueba de giro. La prueba de giro es un método para medir la composición de DCO usando centrífuga con velocidad de 3500 rpm por 5 minutos.

El DCO se dividió en dos líneas idénticas en el molino de aceite de palma para evaluar el uso de la composición de enzima, con una línea que es usada como la línea de control y la otra fue adicionada con la composición de enzima.

Se utilizó un total de 20 muestras para las pruebas – 10 tratadas y 10 muestras de control.

La temperatura del tanque DCO se mantuvo en lo mejor posible a 90°C, sin embargo, la temperatura no es constante durante el proceso de molienda y generalmente se mueve entre 85°C y 95°C.

La bomba DCO se automatizó durante la evaluación para asegurar que ambas líneas recibieron la misma alimentación del tanque DCO.

Se utilizó un agitador a una velocidad de 5 rpm para mezclar homogéneamente la composición de enzima con el DCO.

La tasa de flujo de ambas líneas fue monitoreada y se aseguró que la variación fuera no más de 2m³/día. La alimentación de composición para ambas líneas se analizó usando la prueba de giro la cual mostró que ambas líneas tuvieron composición y cantidad similar.

Ambas líneas también fueron probadas en paralelo para asegurar que el desempeño fuera comparable antes de comenzar la prueba (según la siguiente tabla)

No	Parámetros	Línea 1 (con adición de la composición de enzima)	Línea 2 (control)
1	Velocidad de agitador de clarificador	5 rpm	5 rpm
2	Altura de capa de aceite en clarificador	0.61 m (2 ft)	0.61 m (2 ft)

3	Temperatura de clarificador	90°C	90°C
4	Volumen de clarificador	120 mt	120 mt
5	Velocidad de decantador	2950 rpm	2950 rpm

La línea 1 (DCO) fue dosificada con la composición de enzima a una concentración de 400 ppm en peso de DCO, mientras que la línea 2 fue la línea de control.

5 La temperatura de DCO para este experimento es 90°C, la tasa de dilución es 1:3 (enzima: agua caliente) o 18 litros/hora y el tiempo de retención para reacción de enzimas con el DCO es 6 horas. La composición de enzima fue clase complejo de hidrolasa comercialmente disponible en forma diluida (400 ppm) con la relación de dilución de 1:3 (composición de enzima: agua caliente). La relación del volumen de composición de enzima a composición de DCO es 0.4 litros: 1000 litros (0.0004 m³: 1 m³). La composición de enzima fue además diluida con agua de molino en la

10 relación de dilución de 1:4 (composición de enzima diluida: agua caliente).

Se utilizó la siguiente fórmula para calcular el OER:

$$Tasa\ de\ Recuperación\ de\ Aceite\ (ORR)_{1,2} = \frac{Volumen\ a\ POT}{Volumen\ a\ Clarificador}$$



15

$$Tasa\ de\ Extracción\ de\ Aceite\ (OER)_{1,2}$$

$$= ORR_{1,2} \times \frac{DCO\ Total}{FFB\ Total}$$



$Ganacia\ de\ OER = OER_1 - OER_2$

Las mezclas se sometieron a desgomado, blanqueado y desodorización para producir aceite de palma refinado. Se recolectó una muestra para 3-monocloropropanediol (3-MCPD) en el desnatador de aceite clarificador para cada

5 línea. Los resultados de 3-MCPD fueron obtenidos usando el método del Método Oficial Cd 29a-13 de la Sociedad Americana de Químicos de Aceite (AOCS).

El resumen de los resultados se muestra en la siguiente Tabla 2.

	% Incremento OER	% Reducción 3-MCPD
Min	0.71	4.12
Max	2.96	55.43
Promedio	1.86	20.63

Tabla 2

A partir de la tabla anterior se puede ver que las muestras tratadas con la

10 composición de enzima llevaron a un incremento (promedio) de 1.86% en OER y a una reducción en la formación de 3-MCPD en el aceite refinado final (promedio: 21%).