



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 173 036**

② Número de solicitud: 200002392

⑤ Int. Cl.⁷: A23J 3/34, A23J 3/14

C07K 1/12, A23L 1/305

A61K 38/01, A23K 1/16

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑫ Fecha de presentación: **04.10.2000**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **01.10.2002**

⑭ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
01.10.2002

⑦ Solicitante/s: **PEPTONAS VEGETALES, S.L.**
Plaza Ruiz de Alda, 6 - 8°C
41004 Sevilla, ES

⑧ Inventor/es: **Sanz Gutiérrez, Pedro**

⑨ Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

⑮ Título: **Procedimiento de solubilización proteica directa en continuo de residuos industriales vía enzimática.**

⑯ Resumen:

Procedimiento de solubilización proteica directa en continuo de residuos industriales vía enzimática. La invención consiste en la obtención de peptonas (mezcla de proteínas, péptidos y aminoácidos) a partir de residuos industriales de origen vegetal. El proceso se lleva a cabo en 2 etapas. En la primera se somete a los residuos a sucesivos lavados con agua acidulada para arrastrar alcaloides (polifenoles), azúcares, fibras insolubles, etc., obteniéndose un concentrado rico en proteínas. Posteriormente, en continuo, se somete a dicho concentrado proteico a una segunda fase de hidrólisis enzimática (25-40%) con endoproteasas, obteniéndose las peptonas que suponen un grado de solubilización del orden del 60-80% de las proteínas insolubles de partida.

ES 2 173 036 A1

DESCRIPCION

Procedimiento de solubilización proteica directa en continuo de residuos industriales vía enzimática.

Campo técnico de la invención

La presente invención se encuadra dentro del campo técnico de la Industria Alimentaria, la Industria Médico -Farmacéutica y la Industria Química. El producto resultante de la modificación de las proteínas de residuos orgánicos industriales denominados peptonas tendrá uso en las siguientes aplicaciones:

- Alimentación humana, animal.
- Alimentación clínica
- Fuente nitrogenada de fermentación en la Industria Farmacéutica
- Fertilizantes orgánicos solubles

Estado de la técnica anterior a la invención

La generación de residuos industriales ricos en proteínas es muy elevada (solamente en girasol del orden del millón de toneladas en España). Estos residuos no se utilizan o se infrautilizan en forma de productos de bajo valor añadido.

Este tipo de subproductos constituyen un reservorio de proteínas con un gran potencial económico.

El principal obstáculo en su utilización directa lo constituyen por un lado la presencia de sustancias anti -nutricionales (pigmentos, alcaloides) y por otro las deficientes propiedades físicas de las proteínas. Una de estas deficiencias es la insolubilidad motivada fundamentalmente por los tratamientos sufridos por estas materias primas en los procesos industriales (altas temperaturas, tratamientos con disolventes orgánicos, etc.)

La utilización de estas peptonas en la industria alimentaria humana y animal, así como en otros tipos de industria como en la farmacéutica (fuente nitrogenada de fermentación) o la química (fertilizantes orgánicos), pasa por el desarrollo de procesos adecuados:

- a) Para la eliminación de sustancias no deseables: azúcares solubles, fibras, alcaloides etc.
- b) Para la extracción proteica que conduzca a una recuperación de la proteína en el subproducto obteniendo un nuevo producto, proteico en su totalidad, y que sea soluble en cualquier condición (temperatura, pH y en presencia de iones metálicos).

La solubilidad del producto proteico recuperado permitirá su utilización en productos líquidos dentro de los sectores industriales antes citados (nutrición clínica, dietas enterales y parenterales y de mantenimiento, fermentaciones, fertilizantes orgánicos, etc.).

La solución a este problema será el desarrollo de procesos de preparación de los residuos agroindustriales para su conversión en sustratos idóneos proteicamente solubilizados.

La solubilización de estas proteínas se realizará mediante vía enzimática utilizando proteasas, que modificarán las proteínas a través de una ruptura hidrolítica de sus cadenas polipeptídicas con la consiguiente producción de hidrolizados proteicos (peptonas).

La investigación en el campo de la nutrición humana, actualmente está enfocada a la obtención de productos que puedan utilizarse para controlar, mediante la dieta, enfermedades crónicas tales como la arteroesclerosis, cáncer, SIDA, fallos hepático y renal, así como para la obtención de productos para el control del peso y el control nutricional de pacientes hospitalizados (Fürst, P (1989) Use of short chain peptides in clinical nutrition. J Clin. Nutr. Gastroenterol., 205-211) y en la alimentación animal hacia la obtención de dietas específicas para animales de cría (terneros, cebones, lechales, etc).

La utilización de hidrolizados proteicos tiene una serie de ventajas:

- a) Los péptidos componentes son absorbidos de forma muy eficiente en el tracto digestivo ya que la proteína original ha sufrido una predigestión, por lo cual la absorción es rápida y completa (Matthews, M. D. Protein absorption. Then and now. Gastroenterology 73, 1267 -1279; 1977).
- b) A nivel fisiológico presenta una mayor utilización que mezclas equivalentes de aminoácidos libres y la presión osmótica producida es mucho menor que la mezcla aminoacídica correspondiente.

En este contexto la preparación de hidrolizados es útil en la producción de alimentos fisiológicamente funcionales para necesidades específicas, tales como aquellas destinadas para pacientes con malnutrición asociada a un cáncer, grandes quemados, traumatismos múltiples, y enfermedades hepáticas (Keith, M.E. and Jeejeebhoy K.N. Enteral nutrition in wasting disorders. Curr. Opin, Gastroenterol. 15, 159-166; 1999; Fischer J.E. *Branched-chain enriched amino acid solution in patients with liver failure: An early example of nutritional pharmacology.* J. Parenter -Enteral Nutri. 14, 249S-256S.; 1990) y como soporte nutricional de niños con diarrea aguda y crónica o bien alergia a proteínas lácteas (Buzinco L. et al *Anaphylactic reaction to a cow's milk whey protein hydrolysate in infants with cow's milk allergy.* Ann Allergy 62, 333-335, 1989).

Con respecto a otros procedimientos similares patentados (WO98/23170 y WO92/11771) la principal diferencia con el proceso de la invención es que en aquellas patentes la hidrólisis enzimática se lleva a cabo sobre proteína soluble que se ha obtenido con un tratamiento químico previo de los residuos. Este tratamiento previo generalmente consiste en utilizar sosa a pH 10. En la presente invención la solubilización de las proteínas se hace por medio de una extracción directa enzimática sin tratamiento químico previo. Además, WO98/23170 utiliza también una extracción con alcohol previa, para eliminar los polifenoles presentes en los residuos. En la presente

invención los polifenoles se eliminan por arrastre con lavados sucesivos con agua acidulada. La no utilización de sosa, o de pasos de extracción alcohólica, conlleva un ahorro considerable en equipos, instalaciones y solventes. Además, se vierte al medio ambiente agua en vez de otros disolventes más agresivos y que conllevan procesos de depuración previa más complicados y costosos.

En Parrado et al. (J. Agric. Food. Chem. 1991), se describe un proceso similar pero limitado a harina de girasol desengrasada, utilizando una proteasa específica (Kerasa[®]). En dicho artículo, además, el proceso se lleva a cabo de forma discontinua en el laboratorio, en lotes, mientras que la invención se realiza de forma continua industrialmente, utilizando cualquier proteasa existente en el mercado y aplicado a una amplia gama de residuos industriales de origen vegetal.

Descripción detallada de la invención

La presente invención, se refiere a procedimientos conducentes a la solubilización proteica directa de residuos industriales orgánicos, en concreto la producción de peptonas solubles a partir de dichos residuos.

Los residuos industriales orgánicos a los que se puede aplicar la siguiente invención son entre otras:

- a) Tortas desengrasadas de semillas oleaginosas (girasol, colza, soja, etc.)
- b) Tortas desengrasadas de otras semillas (algodón, maíz, etc.)
- c) Residuos procedentes de las materias primas (cebada, maíz, trigo, arroz, etc.) utilizadas en la industrias de fermentación (Producción de bioalcohol, cerveza, etc.).

A continuación se describe este proceso de solubilización directa, el cual consta de dos fases bien diferenciadas:

- 1) Pretratamiento de los residuos industriales orgánicos. Todos estos residuos industriales orgánicos presentan características comunes:
 - Composición proteica entre 20-35% de su peso.
 - Proteínas de muy baja solubilidad debido a los tratamientos industriales previos.
 - Presencia de sustancias no deseadas en los productos finales ya que condicionaría el uso de las peptonas.

Entre estos contaminantes podemos mencionar:

- Fibras insolubles. Al tener una gran capacidad de absorción de compuestos tales como aminoácidos, péptidos pequeños y proteínas, lo cual disminuye la biodisponibilidad de éstos. Además, al ser las fibras insolubles, alterarían las propiedades organolépticas de las peptonas impidiendo su utilización en productos líquidos.

- Azúcares solubles. Por motivos nutricionales y de interacción con las proteínas.

- Alcaloides. Suelen ser inhibidores de proteasas, y cambian las propiedades organolépticas de los productos obtenidos, etc.

Los residuos industriales orgánicos pasarán pues el primer proceso de pretratamiento que viene esquematizado en la Figura. 1.

Los residuos (R) se tratarán en un proceso de flotación-sedimentación (TES) acidulada, pH 4-5,5 (en el rango de 20/1 a 10/1 volumen/peso seco del residuo) lo que permitirá un arrastre de las sustancias no deseadas en el producto a solubilizar y que podrían contaminar las peptonas finales.

El residuo se homogeniza en este ambiente acuoso ácido y se deja decantar.

En dicho proceso la fibra insoluble de baja densidad (FLC) se separa de los pellets proteicos insolubles de alta densidad y es eliminada mediante arrastre mecánico de la superficie del tanque de separación. Por último la parte acuosa (FS) es eliminada ya que contiene principalmente azúcares y alcaloides mediante decantadores (D1).

Este mismo proceso se repite con la fracción proteica insoluble (FP) ya que todavía quedan restos de sustancias no deseadas, el número de repeticiones (TN(i)) dependerá de la naturaleza del residuo, así en la torta de girasol a partir del quinto lavado, los análisis químicos nos muestran en las aguas aciduladas de los lavados una carencia de azúcares y/o alcaloides. Es en esta fase donde se eliminan principalmente los polifenoles, alcaloides mayoritarios especialmente en la semilla del girasol. Los polifenoles al pH 5 del agua acidulada presentan una menor interacción con las proteínas y son arrastrados durante los lavados. A partir del quinto lavado su presencia en las aguas aciduladas de arrastre es muy escasa.

Se obtiene así un residuo industrial orgánico en condiciones óptimas para ser solubilizado y extraídas sus proteínas, por vía enzimática.

- 2) Fase de solubilización directa de las proteínas insolubles del concentrado proteico libre de polifenoles, azúcares solubles y fibra insoluble.

Este proceso de extracción se realizará en un reactor enzimático (1) a temperatura y pH controlado. La reacción hidrolítica de solubilización será llevada a cabo por una endoproteasa. Se podrá emplear cualquier endoproteasa presente en el mercado.

Durante la reacción el sustrato presentará un cambio físico muy importante. Al comienzo hay dos fases físicas bien diferenciadas, una sólida y otra líquida, pero durante el transcurso de la reacción la fase sólida va desapareciendo debido a la extracción enzimática.

Al finalizar la extracción, se obtiene una pasta líquida, la cual es clarificada mediante centrifugación y/o filtrado, obteniendo por una parte un precipitado (pasta sólida -P.S.-) formado por los

restos del sustrato insoluble: almidones, fibras insolubles y parte de proteína sin digerir y por otra un líquido (fase líquida) de aspecto obscuro compuesto por proteínas, péptidos y aminoácidos, que es la peptona (P).

Las peptonas se filtran y posteriormente se evaporan y concentran hasta obtener la peptona en polvo.

La fase o pasta sólida se utiliza en alimentación animal.

Los resultados obtenidos llegan a un grado de hidrólisis de 25-40% dependiendo de la temperatura y endoproteasa elegida, y una solubilización del 60% al 80% de la proteína original presente ahora en forma de peptona frente al 35% que se alcanza con otros procesos alternativos, tales como el descrito en WO98/23170.

Un esquema del proceso se representa en la figura 2.

Se puede utilizar cualquier endoproteasa existente en el mercado, ya que las proteínas a solubilizar presentes en los residuos son muy susceptibles de ser hidrolizadas debido a los tratamientos sufridos por las materias primas de las que proceden dichos residuos, durante los procesos industriales donde se utilizan: altas temperaturas,

tratamientos con disolventes, etc.

La elección del enzima/s a utilizar dependerá de su coste, disponibilidad, etc. Respecto al rango de temperaturas de reacción se operará en un rango de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ de la temperatura a la cual cada enzima tenga su actividad máxima con respecto al sustrato a hidrolizar.

Descripción de las figuras

Figura 1: Tanque de separación (TES) con aireación, control de pH y separación mecánica de elementos flotantes; Fracción lignocelulósica o fracción insoluble de baja densidad (FLC); Fracción Soluble (FS); Fracción Proteica (FP); Decantador (D1) donde se separan los sólidos por centrifugación; Aire (A); residuo orgánico (R); Tanques separadores (TN1), TN(i), donde (i) representa el número de etapas de lavado donde se produce el arrastre con lavados de agua acidulada. Concentrados proteicos (S11, S12, S13); FS + RP reciclados (E11, E12, E13); FS eliminados de cada ciclo (L11, L12, L13).

Figura 2: Enzimas endoproteasas (E); Reactor enzimático (1); Cámara térmica (2); Ultra-Centrífuga (3); Sistema de Filtros (4-5); Evaporador/Concentrador (6); Atomizador (7); Pasta sólida (PS); Agitador (9); Peptonas (P).

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de solubilización proteica directa en continuo de residuos industriales de origen vegetal **caracterizado** por comprender:

- a) Una primera fase de lavados sucesivos de los residuos con agua acidulada, en un rango de pH de 4 a 5,5, para arrastrar alcaloides, tales como los polifenoles, azúcares y fibras, seguido, en continuo por
- b) Una segunda fase de reacción enzimática con endoproteasas que alcancen un grado de hidrólisis que oscila entre el 25-40%, hasta obtener por una parte una fase líquida constituida mayoritariamente por peptonas solubilizadas, en una concentración que oscila entre 60-80% de la proteína de partida insoluble y que, con posterioridad, se filtran, esterilizan, evaporan y concentran en forma de polvo, de forma convencional y por otra parte una fase sólida constituida mayorita-

riamente por proteínas no solubilizadas, almidones y azúcares insolubles.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque los residuos de origen vegetal son preferentemente tortas desengrasadas de semillas particularmente de plantas oleaginosas tales como el girasol, la colza o la soja.

3. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque los residuos de origen vegetal consisten en tortas desengrasadas de semillas de algodón o maíz.

4. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque los residuos de origen vegetal provienen de materias primas utilizadas en fermentaciones industriales, tales como producción de bioalcohol o las inherentes a la industria cervecera, y que consisten preferentemente en cebada, maíz, trigo o arroz.

5. Uso de la fase sólida obtenida en la etapa (b) del procedimiento como pienso en alimentación animal, particularmente de herbívoros.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

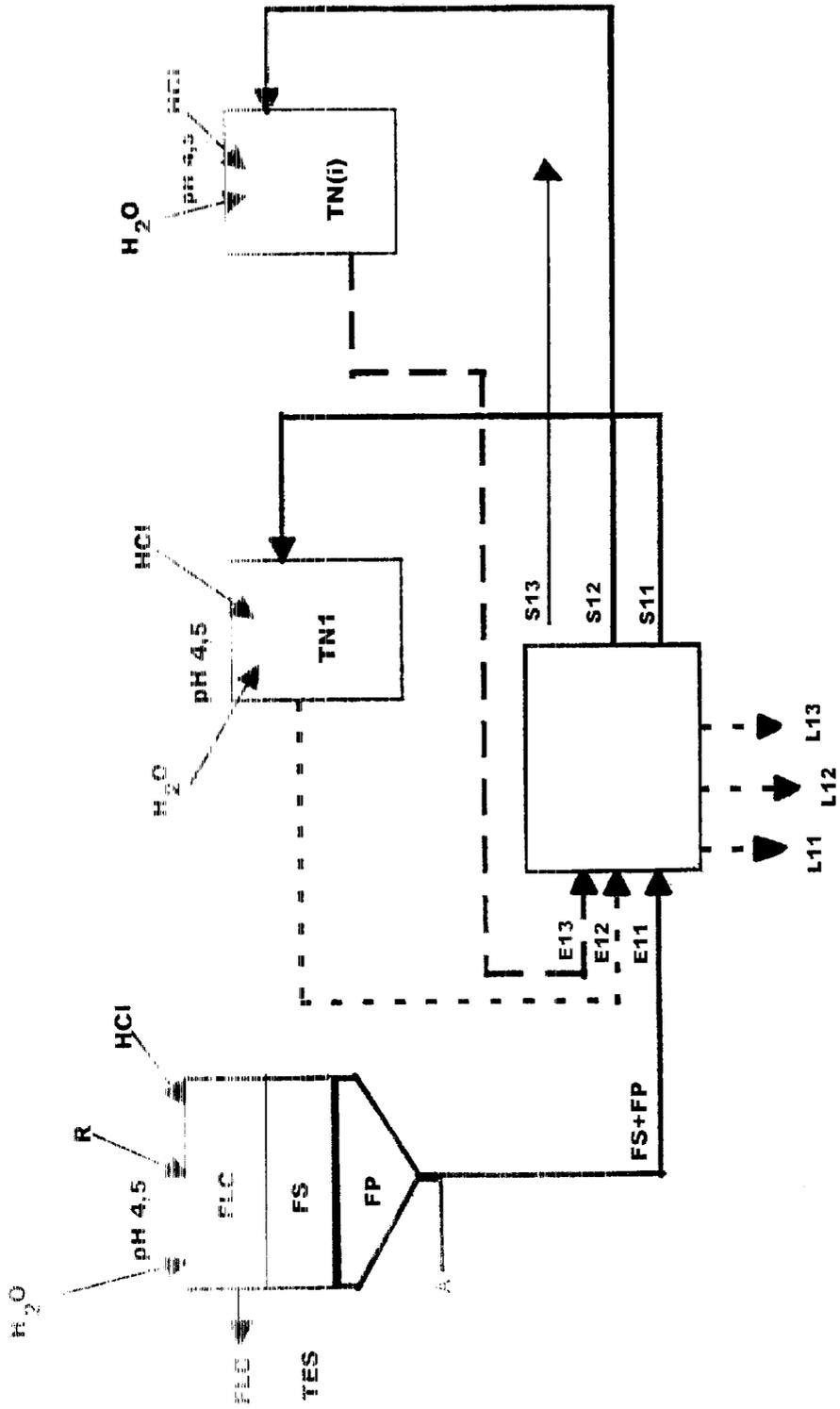


FIGURA 1

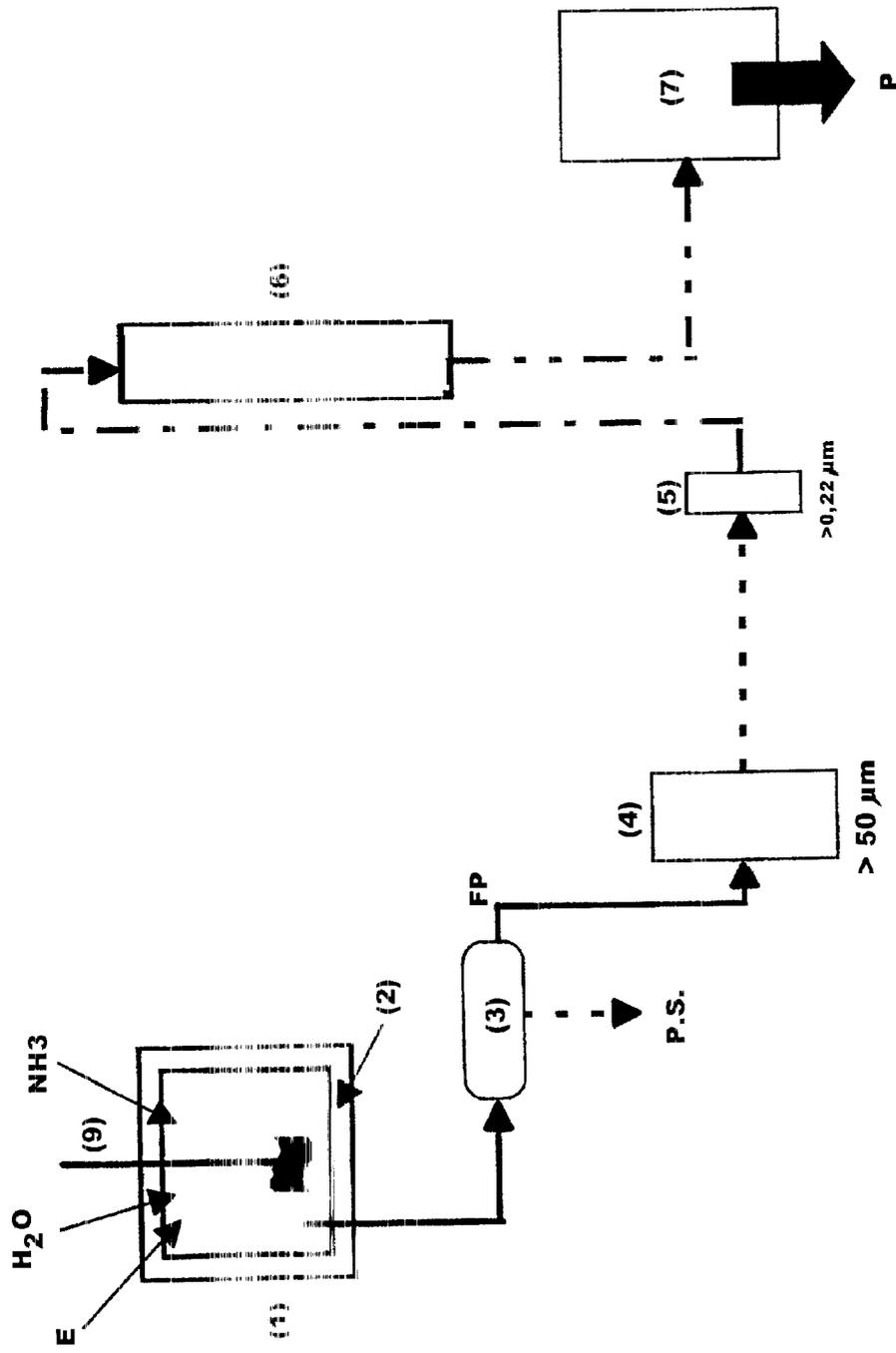


FIGURA 2



INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤ Int. Cl.⁷: A23J 3/34, 3/14, C07K 1/12, A23L 1/305, A61K 38/01, A23K 1/16

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
Y	PARRADO, J. et al.: "Production of soluble enzymatic protein hydrolysate from industrially defatted nondehulled sunflower meal", J. Agricultural Food Chem., Vol. 39 (3), 1991, páginas 447-450, ISSN: 0021-8561, todo el documento.	1-4
Y	WO 9823170 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS et al.) 04.06.1998, reivindicaciones 1-5.	1-4
Y	DE 19640992 A1 (MITTEX ANLAGENBAU GmbH et al.) 10.04.1997, columna 3, línea 63 - columna 4, línea 1; columna 5, líneas 54-65; columna 9, líneas 9-20,62-65; reivindicaciones 1-20.	5
A	WO 9211771 A1 (NOVO NORDISK A/S) 23.07.1992, reivindicaciones 1-14.	1-5
A	US 5520935 A (S. ERIKSEN et al.) 28.05.1996, columna 2, línea 58 - columna 3, línea 12; reivindicaciones 1-13.	1-5
A	US 3741771 A (A. POUR-EL et al.) 26.06.1973, reivindicaciones 1-13.	1-5
A	EP 700641 A2 (BRAUNSCHWEIGISCHE MASCHINENBAUANSTALT AG) 13.03.1996, reivindicaciones 1-11.	1-5

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe

02.09.2002

Examinador

A. Maquedano Herrero

Página

1/1