

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 543 782**

51 Int. Cl.:

A23J 1/14 (2006.01)
A23J 3/14 (2006.01)
A23J 3/30 (2006.01)
C07K 1/14 (2006.01)
C12P 21/06 (2006.01)
A23J 1/00 (2006.01)
C07K 14/415 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.05.2009 E 09745349 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2015 EP 2293685**

54 Título: **Concentrados y aislados de proteínas de semillas oleaginosas y procedimientos para la producción de los mismos**

30 Prioridad:

16.05.2008 US 53858 P
24.09.2008 US 99783 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.08.2015

73 Titular/es:

SIEBTE PMI VERWALTUNGS GMBH (100.0%)
Neuer Jungfernstieg 5
20354 Hamburg, DE

72 Inventor/es:

TANG, QINGNONG NELSON

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 543 782 T3

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

DESCRIPCIÓN

Concentrados y aislados de proteínas de semillas oleaginosas y procedimientos para la producción de los mismos

5 Campo de la divulgación

La invención se refiere a concentrados de proteína y aislados de proteína. En el presente documento también se describe un proceso para eliminar la fibra de una harina de semillas oleaginosas para producir productos proteicos comestibles y un proceso para la producción de los concentrados y aislados de proteínas.

10 Antecedentes

Las semillas oleaginosas contienen normalmente aproximadamente desde 20 por ciento de aceite hasta aproximadamente 50 por ciento de aceite, variando el porcentaje con el tipo de semilla oleaginosa. Generalmente, la semilla se prensa, con o sin una etapa de tratamiento térmico previa, para obtener un aceite prensado y una torta de la semilla prensada. Generalmente, la torta de la semilla prensada se extrae después en disolvente para eliminar o reducir el aceite restante. Después de eliminar el disolvente de la torta de la semilla prensada y secar la torta de semilla, generalmente queda una harina desgrasada, que contiene de 25 % a 55 % de proteínas basado en el peso en seco.

Algunas semillas oleaginosas desengrasadas, dependiendo de la semilla oleaginosa, contienen niveles altos de fibra, así como otros factores antinutricionales y compuestos indeseables, tales como glucosinolatos, ácido fítico o fitatos, sinapina y sinigrina. La fibra y los factores antinutricionales presentes en la proteína hacen que la harina desgrasada no sea atractiva para usos comerciales.

En el caso de la harina de canola desgrasada, un método de separar la proteína de la fibra, los factores antinutricionales y otros compuestos indeseables ha sido disolver la proteína de canola en una solución acuosa de alta fuerza iónica (es decir, alto contenido en sales). Esto da como resultado la disolución de la proteína de canola en la solución acuosa, mientras que la fibra es insoluble. Sin embargo, la sal es difícil y cara de eliminar de la solución de proteína de canola resultante. Sigue habiendo una necesidad de procesos para eliminar la fibra que no afecten a la calidad de la proteína.

Food Chemistry 107 (2008) 32 - 39 enseña una extracción alcalina de semillas de colza desengrasadas. La proteína total se extrae a pH ligeramente alcalino y una fracción de proteína se precipitó a pH ligeramente ácido. Este documento enseña que la proteína precipitada se centrifuga con el sobrenadante sometido a ultrafiltración con un corte de peso molecular de más de 10.000 Da. Como se muestra en la Figura 2 de este documento, el aislado de proteína tiene una solubilidad de 90 % a pH neutro, que es significativamente menor que la solubilidad del aislado de proteína de la presente solicitud.

Los documentos WO 02/089598 A1, US 2006/0286281 A1, WO 03/075673 A1 y US 8,470,385 B2 se refieren todos a un proceso micelar de masas (PMM) similar, que proporciona un aislado de proteína soluble con una composición muy definida, al menos el 85 % de la proteína 2S. El documento US 8.470.385 B2 B2 divulga un aislado de proteína que contiene al menos 85 % en peso de una proteína 2S y al menos 2 % en peso de una proteína 7S.

ASIA PACIFIC FOOD INDUSTRY April 2001, páginas 30 - 34 informa de que la colza es una potencial fuente de proteína vegetal de alta calidad. JAOCS Vol. 77, no. 4 (2000), páginas 447 - 450 informa sobre aislados de proteína hidrolizada parcialmente de colza con propiedades mejoradas. Food Research International 39 (2006) 945 - 963 es un artículo de revisión de la funcionalidad de los productos de proteína de semillas oleaginosas.

50 Sumario de la invención

La materia objeto de la invención es un aislado de proteína de canola o de colza que tiene un contenido de proteína de al menos 90 % (p/p) que comprende

- i) una primera clase de proteínas que tienen un peso molecular de 60 kDa a 80 kDa, comprendiendo la primera clase de proteínas de 60 % a 90 % (p/p) del aislado;
- ii) una segunda clase de proteínas que tienen un peso molecular de 10 kDa a 30 kDa, comprendiendo la segunda clase de proteínas de 10 % a 30 % (p/p) del aislado; y iii) una tercera clase de proteínas que tienen un peso molecular de menos de 10 kDa, comprendiendo la tercera clase de proteínas de 2 % a 10 % (p/p) del aislado,

dicho aislado tiene una solubilidad de al menos 95 % (p/p) y un contenido de fibra de menos de 1 %, en el que el peso molecular de las proteínas se obtiene usando cromatografía de permeación en gel y en el que la solubilidad del aislado se mide en una solución de tampón de borato-fosfato que tiene un pH de 6,5 a 7,5 y el aislado está a una concentración de 1 % (p/p).

Descripción de las realizaciones preferidas de la invención

Preferiblemente, el aislado de proteína de acuerdo con la invención comprende

- 5 i) una primera clase de proteínas que tienen un peso molecular de 60 kDa a 80 kDa, comprendiendo la primera clase de proteínas de 60 % a 70 % (p/p) del aislado;
- ii) una segunda clase de proteínas que tienen un peso molecular de 10 kDa a 30 kDa, comprendiendo la segunda clase de proteínas de 20 % a 30 % (p/p) del aislado; y
- 10 iii) una tercera clase de proteínas que tienen un peso molecular de menos de 10 kDa, comprendiendo la tercera clase de proteínas de 5 % a 10 % (p/p) del aislado.

En una realización adicional preferida de la invención, el aislado de proteína comprende

- 15 i) una primera clase de proteínas que tienen un peso molecular de 65 kDa a 75 kDa, comprendiendo la primera clase de proteínas de 60 % a 90 % (p/p) del aislado;
- ii) una segunda clase de proteínas que tienen un peso molecular de 10 kDa a 20 kDa, comprendiendo la segunda clase de proteínas de 10 % a 30 % (p/p) del aislado; y
- 20 iii) una tercera clase de proteínas que tienen un peso molecular de menos de 10 kDa, comprendiendo la tercera clase de proteínas de 2 % a 10 % (p/p) del aislado.

Preferiblemente, el aislado de proteína de acuerdo con la invención comprende,

- 25 i) una primera clase de proteínas que tienen un peso molecular de 65 kDa a 70 kDa, comprendiendo la primera clase de proteínas de 60 % a 70 % (p/p) del aislado;
- ii) una segunda clase de proteínas que tienen un peso molecular de 10 kDa a 20 kDa, comprendiendo la segunda clase de proteínas de 20 % a 30 % (p/p) del aislado; y
- iii) una tercera clase de proteínas que tienen un peso molecular de menos de 10 kDa, comprendiendo la tercera clase de proteínas de 5 % a 10 % (p/p) del aislado.

- 30 En una realización preferida adicional de la invención, el aislado de proteína puede tener un contenido de treonina de al menos 4,1 % (p/p) y un contenido de valina de al menos 5,1 % (p/p) basado en el aislado.

El aislado de proteína de acuerdo con la invención se puede obtener mediante un proceso que comienza con una harina de canola o colza desgrasada enriquecida en proteína, dicho procedimiento comprende:

- 35 i) mezclar la harina parcialmente desgrasada, totalmente desgrasada o enriquecida en proteínas con agua, para formar una mezcla;
- ii) separar la fibra de la mezcla para formar una primera proteína, en el que la primera suspensión de proteína comprende.
- 40 a) una fracción de proteína soluble; y
- b) una fracción de proteína insoluble;

- y en el que la separación de la mezcla comprende centrifugación a una velocidad de 1.000 a 2.000 rpm;
- 45 iii) separación de la primera suspensión de proteína para formar una fracción de sólidos de proteínas y una fracción de proteína soluble;
- iv) mezclar la fracción de sólidos de proteína con agua para formar una segunda suspensión de proteína;
- v) separar las fracciones de proteína solubles para recuperar una fracción de proteína soluble clarificada y una fracción de proteína insoluble residual;
- 50 vi) separar la fracción de proteína soluble clarificada mediante filtración en membrana de la fracción de proteína soluble clarificada;
- y
- vii) opcionalmente secar la fracción de proteína soluble clarificada para obtener el aislado de proteína.

- 55 La relación de la harina y el disolvente de mezclado puede ser de 1:6 a 1:10 (p/p), en particular de 1:6 a 1:8 (p/p). La centrifugación de la mezcla se puede realizar a una velocidad de 1.400 a 1.600 rpm. La centrifugación de la mezcla se puede realizar en una centrífuga decantadora. Al centrifugar la primera suspensión de proteína de la fracción de sólidos de proteína se puede separar de la fracción de proteína soluble. El proceso puede comprender secar la fracción de proteína soluble clarificada en una de un secador de vacío, un secador de lecho fluidizado, un secador de anillo o un secador por pulverización para formar el aislado de proteína. En el proceso antes mencionado entre la etapa iv) y la etapa v), la segunda suspensión de proteína se puede separar para formar una segunda fracción de sólidos de proteína y una segunda fracción de proteína soluble.
- 60

- 65 En el presente documento también se mencionan preparaciones de proteínas descritas como concentrado de proteínas e hidrolizado de proteínas que no forman parte de la invención.

En otra realización, la etapa de molturación opcional comprende la utilización de un molino en húmedo.

En una realización, la mezcla se centrifuga utilizando una centrífuga de decantación. En una realización, la mezcla se centrifuga con una centrífuga de decantación a una velocidad de 500 rpm a 1500 rpm.

En otra realización de la divulgación, el disolvente de extracción es agua, metanol, etanol o isopropanol, y mezclas de los mismos. En una realización adicional, el disolvente de extracción es agua o etanol, y mezclas de los mismos. En una realización, el disolvente de extracción es agua. En una realización, el precipitado de proteína se lava al menos dos veces con el disolvente de extracción.

En una realización de la presente divulgación, el precipitado de proteína lavado se centrifuga con una centrífuga de discos a una velocidad de 7.500 rpm a 8.500 rpm.

En una forma de realización de la divulgación, el precipitado de proteína purificada se seca en un secador de vacío, un secador de lecho fluidizado, un secador de anillo o un secador por pulverización para formar el concentrado de proteína. En una realización adicional, el concentrado de proteína se seca hasta un contenido de humedad de 1 % a 10 %. En otra realización, el concentrado de proteína se seca hasta un contenido de humedad de aproximadamente 6 %.

En otra realización de la presente divulgación, se divulga un proceso para la producción de un aislado de proteína que posee un contenido de proteína superior a 90 %.

Por consiguiente, la divulgación incluye un proceso para la producción de un aislado de proteína a partir de una harina desgrasada o enriquecida con proteínas, que comprende:

eliminar la fibra de la harina desgrasada o enriquecida con proteínas, que comprende:

i) mezclar la harina desgrasada o enriquecida en proteínas con una mezcla de disolvente para formar una mezcla;

separar la fibra de la mezcla para eliminar la fibra, opcionalmente ajustando el pH de la mezcla a un pH de 6,0 a 8,0, opcionalmente de 6,5 a 7,5 u opcionalmente aproximadamente 7; opcionalmente moler la mezcla; separar la fibra, opcionalmente mediante centrifugación de la mezcla, para eliminar la fibra, formando de ese modo una suspensión de proteína;

ii) separar la suspensión de proteína, opcionalmente mediante centrifugación de la suspensión de proteína, para formar un precipitado de proteínas y una fracción de proteína soluble;

iii) filtrar la fracción de proteína soluble para separarla de precipitado de proteína; y

iv) opcionalmente secar la proteína soluble para formar el aislado de proteína.

En otra realización, la harina desgrasada o enriquecida en proteínas comprende una harina de canola, semilla de colza, semilla de mostaza, semilla de brécol, semilla de lino, semilla de algodón, semilla de cáñamo, semilla de cártamo, semilla de sésamo o harina de soja. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de canola. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de soja. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de semilla de mostaza. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de semilla de lino.

En otra realización de la divulgación, el disolvente de mezcla comprende agua o una solución de sal. En una realización, la solución de sal comprende menos de 5 %, opcionalmente de 3 % a 4 %, o 3,5 % en peso de sal en solución. En una realización adicional, el disolvente de mezcla comprende agua. En otra realización, la relación de harina desgrasada o enriquecida con proteínas y el disolvente de mezcla es 1:3 a 1:20. En una realización adicional, la relación es de 1:6 a 1:10. En una realización, la relación es de 1:6 a 1:8.

En otra realización de la presente descripción, el pH de la mezcla se ajusta con hidróxido de sodio acuoso. En una realización, el hidróxido de sodio acuoso tiene una concentración de 1 % a 40 % en peso de hidróxido de sodio. En una realización adicional, la concentración de hidróxido de sodio es de 5 % a 30 % de hidróxido de sodio.

En otra realización de la divulgación, se describe también un proceso para la producción de un aislado de proteína a partir de una harina de semillas oleaginosas, que comprende:

i) mezclar la harina parcialmente desgrasada, totalmente desgrasada o enriquecida en proteínas con un disolvente mezcla, opcionalmente agua o agua alcalina, para formar una mezcla;

ii) opcionalmente ajustar el pH de la mezcla a un pH de 7,0 a 10,0;

iii) separar la fibra de la mezcla para formar una primera suspensión de proteína, en el que la primera suspensión de proteína comprende una fracción de proteína soluble y una fracción de proteína insoluble;

iv) separar la primera suspensión de proteína para formar una fracción de sólidos de proteínas y una fracción de

proteína soluble;

v) mezclar opcionalmente la fracción de sólidos de proteína con un segundo disolvente de mezcla, opcionalmente agua, para formar una segunda suspensión de proteína;

vi) separar opcionalmente la segunda suspensión de proteína para formar una segunda fracción de sólidos de proteína y una segunda fracción de proteína soluble;

vii) opcionalmente repetir las etapas v) y vi) al menos una vez;

viii) separar las fracciones de proteína solubles para formar una fracción de proteína soluble clarificada y una fracción de proteína insoluble residual;

ix) opcionalmente ajustar el pH de la fracción de proteína soluble clarificada a un pH de 6 a 9,

x) separar la fracción de proteína soluble clarificada, opcionalmente mediante filtración de la fracción de proteína soluble clarificada con filtración en membrana; y

xi) opcionalmente secar la fracción de proteína soluble clarificada.

En otra realización de la divulgación, la proporción de harina parcialmente desgrasada, totalmente desgrasada o enriquecida en proteínas con el agua o agua alcalina es de 1:4 a 1:30 (p/p). En otra realización, la proporción de harina parcialmente desgrasada, totalmente desgrasada o enriquecida en proteínas con el agua o agua alcalina es de 1:5 a 01:20 (p/p). En una realización, la proporción es de 1:6 a 1:12 (p/p). En una realización, la proporción es de 1:8 a 01:10 (p/p).

En una forma de realización de la divulgación, el pH del agua alcalina es de 7 a 12. En otra realización, el pH de la primera suspensión de proteína se ajusta a 8,0 a 9,5. En una realización adicional, el pH de la primera suspensión de proteína se ajusta a 8,5 a 9,0.

En otra realización de la divulgación, la mezcla se separa por centrifugación, sedimentación por gravedad, una mesa de gravedad o hidrociclón para separar la fibra de la mezcla y formar la suspensión de proteína. En una realización adicional, la mezcla se separa por centrifugación para separar la fibra de la mezcla y formar la suspensión de proteína. En una realización, la mezcla se centrifuga a una velocidad de 1.000 rpm a 2.000 rpm. En una realización adicional, la mezcla se centrifuga a una velocidad de 1.400 rpm a 1.600 rpm. En una realización, la mezcla se centrifuga utilizando una centrífuga de decantación.

En otra realización, la primera suspensión de proteína se centrifuga, utilizando opcionalmente una centrífuga de disco, para separar la fracción de sólidos de proteína de la fracción de proteína soluble. En una realización adicional, la suspensión de proteína se centrifuga a una velocidad de 4.000 rpm a 8.000 rpm. En una realización adicional, la suspensión de proteína se centrifuga a una velocidad de 6.500 rpm a 7.500 rpm.

En otra realización de la divulgación, la proporción de la fracción de sólidos de proteína y el agua es 1,0:0,5 a 1,0:3,0 (p/p). En una realización adicional, la proporción de la fracción de sólidos de proteína y el agua es 1,0:1,0 a 1,0:2,0 (p/p).

En una realización, las fracciones de proteínas solubles se centrifugan para formar la fracción de proteína soluble clarificada y la fracción de proteína insoluble residual. En una realización, las fracciones de proteínas solubles se centrifugaron usando una centrífuga de discos a una velocidad de 7.000 rpm a 10.000 rpm. En una realización adicional, las fracciones de proteínas solubles se centrifugaron usando una centrífuga de discos a una velocidad de 7.500 rpm a 8.500 rpm.

En otra realización de la divulgación, el pH de la fracción de proteína soluble clarificada se ajusta con álcali. En una realización adicional, el pH de la fracción de proteína soluble clarificada se ajusta con hidróxido de sodio.

En una realización, la fracción de proteína soluble clarificado se filtra utilizando un aparato de ultrafiltración. En una realización adicional, el aparato de ultrafiltración comprende una membrana para filtrar proteínas más grandes de 10.000 dalton.

En otra realización de la divulgación, el proceso comprende además la etapa de filtrar la fracción de proteína soluble clarificada utilizando un aparato de diafiltración.

En otra realización, la fracción de proteína soluble clarificada se seca en un secador de vacío, un secador de lecho fluidizado, un secador de anillo o un secador por pulverización para formar el aislado de proteína.

En una realización de la divulgación, la harina desgrasada parcialmente, desgrasada completamente o enriquecida en proteínas comprende una harina de canola, semilla de colza, semilla de mostaza, semilla de brécol, semilla de lino, semilla de algodón, semilla de cáñamo, semilla de cártamo, semilla de sésamo o harina de soja. En otra realización, la harina desgrasada parcialmente, desgrasada completamente o enriquecida en proteínas comprende una harina de canola.

En otra realización de la divulgación, el aislado de proteína comprende un contenido de proteínas superior a 90 % basado en el peso en seco.

En el presente documento también se describe un proceso para la producción de un concentrado de proteína hidrolizada a partir de una harina de semillas oleaginosas, que comprende:

- i) mezclar la harina de semillas oleaginosas con un disolvente de mezcla, opcionalmente agua, para formar una primera mezcla;
- ii) opcionalmente ajustar el pH de la primera mezcla a un pH de 7,0 a 10,0;
- iii) separar la primera mezcla para eliminar la fibra de la primera mezcla y formar una suspensión de proteínas y una fracción de fibra insoluble, en la que la suspensión de proteína comprende una fracción de proteína soluble y una fracción de proteína insoluble y la fracción de fibra insoluble comprende fibra insoluble y una segunda fracción de proteína insoluble;
- iv) opcionalmente mezclar la fracción de fibra insoluble con un segundo disolvente de mezcla, opcionalmente agua, para formar una fracción de fibra insoluble lavada y un extracto;
- v) separar la fracción de fibra insoluble lavada a partir del extracto;
- vi) opcionalmente mezclar la fracción de fibra insoluble lavada con una mezcla de disolvente, opcionalmente agua, para formar una segunda mezcla;
- vii) ajustar opcionalmente el pH de la segunda mezcla a un pH adecuado para la actividad enzimática;
- viii) mezclar la segunda mezcla con al menos una proteasa para formar un extracto de proteína hidrolizada;
- ix) separar el extracto de proteína hidrolizada de la segunda mezcla para formar el concentrado de proteína hidrolizada y una segunda fracción de fibra insoluble; y
- x) opcionalmente secar el concentrado de proteína hidrolizada.

En el proceso descrito en el presente documento, la proporción de harina parcialmente desgrasada, totalmente desgrasada o enriquecida en proteínas con el agua es de 1:4 a 1:30 (p/p). En otro caso, la proporción de harina parcialmente desgrasada, totalmente desgrasada o enriquecida en proteínas con el agua es de 1:5 a 01:20 (p/p). En un caso adicional, la proporción es de 1:6 a 1:12 (p/p). En una realización, la proporción es de 1:8 a 01:10 (p/p).

En un caso, la relación de la segunda mezcla y la segunda proteasa es de 100:1 a 5000:1 (p/p).

En un caso adicional, la segunda mezcla se mezcla con una proteasa a una temperatura de 40 °C a 60 °C. En otra realización, la segunda mezcla se mezcla con una proteasa a una temperatura de 45 °C a 55 °C.

La al menos una proteasa comprende una proteasa de *Bacillus licheniformis*.

El proceso puede comprender además la etapa de mezclar la segunda mezcla con una segunda proteasa.

La relación de la segunda mezcla y la segunda proteasa es de 250:1 a 5000:1 (p/p).

La segunda mezcla se puede mezclar con la segunda proteasa a una temperatura de 50 °C a 70 °C. En una realización, la segunda mezcla se mezcla con la segunda proteasa a una temperatura de 55 °C a 65 °C.

En un caso adicional, la segunda proteasa comprende un complejo de proteasa / peptidasa fúngicas de *Aspergillus oryzae*.

Las primera y la segunda fracciones de proteínas solubles se pueden filtrar usando un aparato de ultrafiltración. El aparato de ultrafiltración puede comprender una membrana para filtrar proteínas más grandes de 10.000 dalton. El proceso puede comprender además la etapa de filtrado de la primera y la segunda fracciones de proteínas solubles usando un aparato de diafiltración.

En otra realización, el aislado de proteína de semillas oleaginosas tiene una concentración de antinutricionales menor de 0,5 % (p/p), opcionalmente menor de 0,1 %. En una realización adicional, el aislado de proteína de semilla oleaginosa tiene un contenido de treonina de al menos 4,1 % (p/p) y un contenido de valina de al menos 5,1 % (p/p).

El concentrado de proteína tiene un contenido de glucosinolatos de menos de 1 µmol/g del concentrado de proteína, y, opcionalmente, menos de 0,5 µmol/g.

Breve descripción de las figuras

La FIG. 1 es una representación esquemática que muestra una preparación de harina desgrasada de una semilla oleaginosa;

La FIG. 2 es una representación esquemática que muestra una preparación de una harina enriquecida con proteínas de la harina desgrasada de una semilla oleaginosa;

La FIG. 3 es una representación esquemática que muestra la preparación de un concentrado de proteína a partir de una harina enriquecida con proteínas;

La FIG. 4 es una representación esquemática que muestra la eliminación de fibra durante una preparación de un concentrado de proteína a partir de una harina enriquecida con proteínas;

La FIG. 5 es una representación esquemática que muestra la eliminación de fibra durante una preparación de un concentrado de proteína a partir de una harina enriquecida con proteínas;

La FIG. 6 es una representación esquemática que muestra la eliminación de fibra durante una preparación de un concentrado de proteína a partir de una harina enriquecida con proteínas;

La FIG. 7 es una representación esquemática que muestra la eliminación de fibra durante la preparación de un concentrado de proteína a partir de una harina enriquecida con proteínas;

La FIG. 8 es una representación esquemática que muestra la preparación de un concentrado de proteína y un aislado de proteína a partir de una harina enriquecida con proteínas;

La FIG. 9 es una representación esquemática que muestra la preparación de un concentrado de proteína y un aislado de proteína a partir de una harina enriquecida con proteínas;

La FIG. 10 es una representación esquemática que muestra la preparación de un aislado de proteína a partir de una harina enriquecida con proteínas;

La FIG. 11 es una representación esquemática que muestra la preparación de un aislado de proteína a partir de una harina enriquecida con proteínas;

La FIG. 12 es una representación esquemática que muestra la molturación y cribado de harina desgrasada de *Juncea*;

La FIG. 13 es una representación esquemática que ilustra una separación y eliminación de la fibra a partir de una suspensión de proteína que contiene proteínas insolubles y solubles;

La FIG. 14 es una representación esquemática que ilustra la preparación de un aislado de proteína y un extracto de proteína hidrolizada;

La FIG. 15 es una representación esquemática que ilustra una preparación de un extracto de proteína hidrolizada;

La FIG. 16 es una representación esquemática que ilustra un proceso de eliminación de fibra húmeda;

La FIG. 17 es un gráfico que muestra el volumen de espuma de un aislado de proteína producido de acuerdo con un proceso de la presente divulgación;

La FIG. 18 es un gráfico que muestra la temperatura de formación de gel de un aislado de proteína producido de acuerdo con un proceso de la presente divulgación;

La FIG. 19 es un gráfico que muestra las pruebas de oscilación de geles de un aislado de proteína producido de acuerdo con un proceso de la presente divulgación; y

La FIG. 20 es un gráfico que muestra las pruebas de oscilación de geles de diferentes concentraciones de un aislado de proteína producido de acuerdo con la presente divulgación.

Descripción detallada de la divulgación

(I) DEFINICIONES

La expresión "harina parcialmente desgrasada" (llamada alternativamente "torta de la semilla" o "torta prensada") tal como se utiliza en el presente documento se refiere a una harina de semillas oleaginosas en la que la semilla oleaginosa se ha prensado para eliminar el aceite contenido en el interior. El prensado de las semillas oleaginosas tiene como resultado un aceite prensado y una harina parcialmente desgrasada, que contiene de 15 % a 50 % de proteína basado en el peso en seco y de 10 % a 20 % de aceite, opcionalmente de 14 % a 16 %, en una base de peso en seco.

La expresión "harina desgrasada" (llamada alternativamente "harina totalmente desgrasada") tal como se utiliza en el presente documento se refiere a una semilla oleaginosa que se ha ii) prensado para eliminar el aceite, que forma una torta de semilla y aceite prensado y ii) sometido a extracción con disolvente, utilizando, por ejemplo, disolventes hidrófobos y de bajo punto de ebullición, tales como butano, pentano, hexano y / u otros refrigerantes tales como yodotrifluorometano (ITFM) y R134a (1,1,1,2-tetrafluoroetano), para eliminar o reducir el aceite residual de la torta de semilla y formar la harina desgrasada. Una harina desgrasada tendrá normalmente un contenido de proteína de 25 % a 55 %, opcionalmente de 30 % a 50 %, adecuadamente de 35 % a 50 %, basado en el peso en seco, y de 0 % a 4 % de aceite, opcionalmente de 0,5 % a 4 %, opcionalmente de 1 % a 3 %, basado en el peso en seco.

La expresión "harina enriquecida con proteínas" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a una harina desgrasada como se ha descrito anteriormente, que posteriormente se ha tratado para eliminar la fibra de la harina desgrasada. En consecuencia, la harina desgrasada se somete normalmente a una etapa de molturación y a una etapa de cribado para eliminar la fibra y obtener una harina enriquecida con proteínas que tiene un contenido de proteína de 30 % a 60 %, opcionalmente de 40 % a 55 %, adecuadamente de 50 % a 55 % basado en el peso en seco, y de 5 % a 6,5 % de fibra, opcionalmente menos de 6 %. Colectivamente, una harina parcialmente desgrasada, harina totalmente desgrasada y una harina enriquecida con proteínas pueden denominarse "harina".

La expresión "concentrado de proteína" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a una harina desgrasada o enriquecida con proteínas que se ha tratado utilizando los procedimientos de la presente divulgación para aumentar el contenido de proteína, donde el concentrado de proteína tiene más de 65 % de contenido de proteínas, pero menos de 90 % de contenido de proteína basado en el peso en seco.

La expresión "concentrado de proteína hidrolizada" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a un concentrado de proteína que se ha tratado con proteasas para hidrolizar las proteínas dentro de la concentrado de proteína en aminoácidos y péptidos más pequeños.

5 La expresión "aislado de proteína" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a una harina desgrasada o enriquecida con proteínas que se ha tratado utilizando los procedimientos de la presente divulgación para aumentar el contenido de proteína, donde el concentrado de proteína tiene más de 90 % de contenido de proteínas basado en el peso en seco.

10 La expresión "aislado de proteína hidrolizada" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a un aislado de proteína que se ha tratado con proteasas para hidrolizar las proteínas dentro de la concentrado de proteína en aminoácidos y péptidos más pequeños.

15 El término "disolvente de mezcla", como se usa en el presente documento, se refiere a un disolvente que forma una suspensión o mezcla de proteína cuando se mezcla con una harina parcialmente desgrasada, totalmente desgrasada o enriquecida con proteínas. Además, la fibra presente en la harina posee solubilidad mínima en el disolvente de mezcla (por ejemplo, normalmente menos de 1 % (p/p) de solubilidad, o aproximadamente 0 % de solubilidad), y adecuadamente, no es soluble en el disolvente de mezcla. Ejemplos de disolventes de mezcla incluyen, entre otros, agua, alcoholes, tales como metanol, etanol o isopropanol, soluciones de polisacáridos tales como solución de goma guar, soluciones salinas, o mezclas de cualquiera de los anteriores.

20 El término "disolvente de mezcla", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier disolvente acuoso (normalmente al menos: 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o 99 % de agua en peso) que forma una suspensión o mezcla cuando se mezcla con una harina parcialmente desgrasada, totalmente desgrasada o enriquecida con proteínas. Normalmente, el disolvente de mezcla está libre de disolventes orgánicos, tales como metanol, etanol, propanol, isopropanol, tetrahidrofurano, ya que estos disolventes no son deseables como residuos en un aislado, concentrado o hidrolizado de proteína para el consumo humano, sin embargo, si hay presentes disolventes orgánicos, que están en el disolvente de mezcla en pequeña cantidad (por ejemplo, normalmente igual o inferior a: 20 %, 10 %, 10 %, 5 % o 1 %) de modo que su presencia en el producto final es insignificante. Ejemplos de disolventes de mezcla incluyen agua, agua ácida, agua alcalina, soluciones salinas de sales (tales como cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio), soluciones de polisacáridos (tales como goma guar), y soluciones acuosas de proteínas.

35 La invención contempla el uso de diversos disolventes, que podrían incluir disolventes de mezcla, disolventes de mezcla u otras combinaciones o alcoholes (por ejemplo, etanol al 80 %), agua y / o disolventes acuosos. El uso de la expresión disolventes de mezcla no debe interpretarse como excluyente de la utilización de disolventes orgánicos en los procesos como se divulgan en el presente documento.

40 La expresión "disolvente de extracción" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a un disolvente que es capaz de solubilizar compuestos antinutricionales, u otros componentes, que están presentes en la semilla oleaginosa y que se eliminan de manera deseable. Ejemplos de antinutricionales incluyen, pero no se limitan a, glucosinolatos, ácido fítico, fitatos y otros compuestos que reducen el valor nutricional o comercial del concentrado de proteína o aislado de proteína. Los compuestos antinutricionales son compuestos que son, por ejemplo, no digeribles por los mamíferos (por ejemplo, seres humanos), tienen efectos adversos, tales como toxicidad o son de sabor amargo, y se eliminan de forma deseable a partir del producto proteico. En consecuencia, la concentración de antinutricionales en un producto proteico producido de acuerdo con un proceso de la presente divulgación es menos de 1 % (p/p), opcionalmente menos de 0,5 % (p/p), opcionalmente menos de 0,1 % (p/p), y opcionalmente menos de 0,05 % (p/p). Ejemplos de otros compuestos incluyen, pero no se limitan a, materiales que indeseablemente afectan a la calidad, el color, el sabor, el olor, el aspecto o las características del producto final. Los ejemplos incluyen compuestos que causan un oscurecimiento o variación en el color, causan un sabor amargo o un olor acre, tal como sinapina o sinigrina, o afectan a la manipulación o la aglomeración del producto final. Aunque los antinutricionales u otros componentes no son deseables en los concentrados o aislados de proteínas pueden constituir productos secundarios comercialmente valiosos que pueden tener utilidad como ingredientes o productos finales medicinales o industriales una vez separado del concentrado o aislado de proteína. Los ejemplos de disolventes de extracción incluyen, pero no se limitan a, agua, alcoholes, tales como metanol, etanol, isopropanol, o mezclas de cualquiera de los anteriores. Otros disolventes de extracciones que son útiles incluyen tetrahidrofurano (THF), dimetilformamida (DMF) y éteres, tales como éter de metil-t-butilo. Sin embargo, los expertos en la técnica conocerán que los disolventes tales como THF, DMF o éteres, como resultado de su mayor toxicidad en comparación con, por ejemplo, etanol, requieren límites más bajos en el producto proteico.

60 La expresión "agitación homogénea" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a la mezcla de una harina de la proteína, tal como una harina parcialmente desgrasada, una harina totalmente desgrasada o una harina enriquecida con proteínas con un disolvente para formar una mezcla o suspensión homogénea. Dicha agitación se lleva a cabo, por ejemplo, mediante la mezcla de la suspensión o de la mezcla a una velocidad de 30 rpm a 300 rpm en un mezclador estándar.

El término "lavado" usado en el presente documento se refiere a una fracción de proteína que se ha mezclado con un disolvente de extracción, tal como etanol, para eliminar los compuestos antinutricionales, u otros constituyentes, de la fracción de proteína.

5 La expresión "suspensión de proteína" tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a la proteína, por ejemplo, la proteína en una harina desgrasada o enriquecida con proteínas, que se ha mezclado con un disolvente de mezcla para formar una suspensión de proteínas, y opcionalmente fibra y otros compuestos antinutricionales, en el disolvente de mezcla.

10 Las expresiones "fracción de proteína soluble" y "fracción de proteína insoluble" tal como se utiliza en el presente documento, se refieren a las fracciones de proteínas específicas que son solubles o insolubles, respectivamente, en un disolvente particular, tal como un disolvente de mezcla o un disolvente de extracción.

El término "agua" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier fuente de agua, por ejemplo, agua corriente, agua destilada o agua de ósmosis inversa.

La expresión "agua alcalina" tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a agua que tiene un pH básico de más de 7,0, opcionalmente de 7,0 a 12,0. La alcalinidad del agua es el resultado de la adición de una base al agua, por ejemplo, un hidróxido alcalino tal como hidróxido de sodio. Por ejemplo, una solución de hidróxido de sodio a una concentración de 5 % a 15 % (p/p), opcionalmente 11 %.

La expresión "adecuado para la actividad enzimática" tal como se utiliza en el presente documento, se refiere al pH de una solución en la que

25 (II) CONCENTRADOS Y AISLADOS DE PROTEÍNA

La presente divulgación se refiere a proceso para la producción de un concentrado de proteína o un aislado de proteína a partir de semillas oleaginosas. Un concentrado de proteína es un extracto de proteína aislada de semillas oleaginosas prensadas, en el que el extracto tiene más del 65 % de contenido de proteínas, pero menos del 90 % de contenido de proteína sobre la base de peso en seco. Un concentrado de proteína se ha tratado para separar la proteína en la semilla oleaginosa a partir de la fibra y otros factores antinutricionales no deseados. Un aislado de proteína es un extracto de proteína aislada de semillas oleaginosas prensadas, en el que el extracto tiene más de o igual a 90 % de contenido de proteína en una base de peso en seco. Normalmente, el aislado de proteína tiene hasta 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % de contenido de proteína basado en el peso en seco. Ejemplos de semillas oleaginosas prensadas incluyen torta de semilla, harina desgrasada o harina enriquecida con proteínas, como se explica a continuación. Normalmente, el contenido no proteico incluye compuestos no proteicos tales como sustancias antinutricionales, fibra y otros componentes o impurezas tales como agentes colorantes.

En una realización, la divulgación proporciona un proceso para la eliminación de fibra, antinutricionales y otros componentes, que están presentes dentro de la semilla oleaginosa. Una persona experta en la técnica reconocería que los antinutricionales incluyen glucosinolatos, ácido fítico, fitatos y otros compuestos que reducen el valor nutricional o comercial del concentrado de proteína o aislado de proteína. Por ejemplo, los compuestos antinutricionales pueden no ser digeribles por los mamíferos (por ejemplo, seres humanos), tener efectos adversos, tales como toxicidad o ser de sabor amargo, y se eliminan de forma deseable del producto proteico. Ciertos antinutricionales tienen otras propiedades indeseables, tales como propiedades organolépticas indeseables. Ejemplos de tales compuestos son sinapina, que tiene un sabor amargo, y sinigrina, que tiene un sabor acre y muy amargo. Además, otro constituyente antinutricional de las semillas oleaginosas que se eliminan normalmente incluyen, pero no se limitan a, agentes colorantes y / u otros compuestos inertes. En una realización, los constituyentes que se eliminan o se reducen a niveles seguros o aceptables, son constituyentes indeseables o impurezas utilizando los procesos de la presente divulgación. Un experto en la técnica reconocería los niveles seguros y / o aceptables de antinutricionales particulares en el producto proteico final.

La expresión harina enriquecida con proteínas se refiere a una harina que posee un contenido de proteína de 30 % a 60 %, opcionalmente de 30 % a 55 %, adecuadamente de 50 % a 55 %, basado en el peso en seco. Tales harinas enriquecidas en proteínas son útiles para preparar los concentrados y aislados de la divulgación, que pueden procesarse adicionalmente.

En otra realización de la descripción, también se incluyen concentrados de proteína y aislados de proteínas, producidos de acuerdo con los procesos de la divulgación. Por consiguiente, en una realización de la divulgación, se proporciona un aislado de proteína de semillas oleaginosas que tiene un contenido de proteína de al menos 90 %, en el que el aislado de proteína de canola tiene una solubilidad de al menos 85 % (p/p) a una concentración de 1 % y un pH de 6,5 a 7,5 en una solución tampón de borato-fosfato. En otra realización, el aislado de proteína de semillas oleaginosas tiene una solubilidad de al menos 95 % (p/p) en una solución tampón de borato-fosfato. En una realización adicional, el aislado de proteína de semillas oleaginosas tiene una solubilidad de al menos 99 % (p/p) en una solución tampón de borato-fosfato. En una realización adicional, el aislado de proteína de semillas oleaginosas tiene una solubilidad de al menos 99,5 % (p/p) en una solución tampón de borato-fosfato.

En una realización adicional de la divulgación, el aislado de proteína de semillas oleaginosas tiene una solubilidad de al menos 85 % (p/p) a una concentración de aproximadamente 1 % y un pH de 6,5 a 7,0 en una solución tampón de borato-fosfato. En una realización adicional, el aislado de proteína de semillas oleaginosas tiene una solubilidad de al menos 85 % (p/p) a una concentración de aproximadamente 1 % y un pH de 6,7 a 7,0 en una solución tampón de borato-fosfato.

En otra realización de la divulgación, el aislado de proteína de semillas oleaginosas tiene una solubilidad de al menos 85 % (p/p) a una concentración de aproximadamente 1 % y un pH de 6,5 a 7,0 en una solución tampón de borato-fosfato a una temperatura de 35 °C a 45 °C. En otra realización de la divulgación, el aislado de proteína de semillas oleaginosas tiene una solubilidad de al menos 85 % (p/p) a una concentración de aproximadamente 1 % y un pH de 6,5 a 7,0 en una solución tampón de borato-fosfato a una temperatura de 38 °C a 40 °C.

En otra realización, el aislado de proteína de semillas oleaginosas comprende,

- i) una primera clase de proteínas que tienen un peso molecular de 60 kDa a 80 kDa, comprendiendo la primera clase de proteínas de 60 % a 90 % (p/p) del aislado de semillas oleaginosas;
- ii) una segunda clase de proteínas que tienen un peso molecular de 10 kDa a 30 kDa, comprendiendo la segunda clase de proteínas de 10 % a 30 % (p/p) del aislado de semillas oleaginosas; y
- iii) una tercera clase de proteínas que tienen un peso molecular de menos de 10 kDa, comprendiendo la tercera clase de proteínas de 2 % a 10 % (p/p) del aislado de semillas oleaginosas.

En otra realización, el aislado de proteína de semillas oleaginosas comprende,

- i) una primera clase de proteínas que tienen un peso molecular de 60 kDa a 80 kDa, comprendiendo la primera clase de proteínas de 60 % a 70 % (p/p) del aislado de semillas oleaginosas;
- ii) una segunda clase de proteínas que tienen un peso molecular de 10 kDa a 30 kDa, comprendiendo la segunda clase de proteínas de 20 % a 30 % (p/p) del aislado de semillas oleaginosas; y
- iii) una tercera clase de proteínas que tienen un peso molecular de menos de 10 kDa, comprendiendo la tercera clase de proteínas de 5 % a 10 % (p/p) del aislado de semillas oleaginosas.

En una realización adicional, el aislado de proteína de semillas oleaginosas comprende

- i) una primera clase de proteínas que tienen un peso molecular de 65 kDa a 75 kDa, comprendiendo la primera clase de proteínas de 60 % a 90 % (p/p) del aislado de semillas oleaginosas;
- ii) una segunda clase de proteínas que tienen un peso molecular de 10 kDa a 20 kDa, comprendiendo la segunda clase de proteínas de 10 % a 30 % (p/p) del aislado de semillas oleaginosas; y
- iii) una tercera clase de proteínas que tienen un peso molecular de menos de 10 kDa, comprendiendo la tercera clase de proteínas de 2 % a 10 % (p/p) del aislado de semillas oleaginosas.

En otra realización, el aislado de proteína de semillas oleaginosas comprende

- i) una primera clase de proteínas que tienen un peso molecular de 65 kDa a 70 kDa, comprendiendo la primera clase de proteínas de 60 % a 70 % (p/p) del aislado de semillas oleaginosas;
- ii) una segunda clase de proteínas que tienen un peso molecular de 10 kDa a 20 kDa, comprendiendo la segunda clase de proteínas de 20 % a 30 % (p/p) del aislado de semillas oleaginosas; y
- iii) una tercera clase de proteínas que tienen un peso molecular de menos de 10 kDa, comprendiendo la tercera clase de proteínas de 5 % a 10 % (p/p) del aislado de semillas oleaginosas.

En una forma de realización de la divulgación, el aislado de proteína producido de acuerdo con un proceso de la presente divulgación contiene más del 90 % de contenido de proteína (p/p) basado en el peso en seco, opcionalmente de 90 % a 99 % (p/p), opcionalmente de 90 % a 98 % (p/p), y opcionalmente de 90 % a 95 % (p/p). En otra realización, un aislado de proteína producido de acuerdo con un proceso de la presente divulgación contiene menos de 1 % (p/p) de fibra, opcionalmente menos de 0,5 % (p/p) de fibra, y opcionalmente menos de 0,1 % (p/p) de la fibra.

Los aislados de proteína de semillas oleaginosas, tal como un aislado de proteína de canola, tienen excelentes propiedades emulsionantes y espumantes. Por ejemplo, con respecto a la capacidad emulsionante, un 0,5 % (p/p) de la solución de aislado de proteína de canola poseía una capacidad emulsionante similar en comparación con una solución de yema de huevo al 5 %. Además, los aislados de proteína de la presente divulgación, tal como un aislado de proteína de canola, poseen una excelente capacidad de formación de espuma. Además, los aislados de proteína de semillas oleaginosas, tal como un aislado de proteína de canola, producido de acuerdo con los procesos de la presente divulgación, tienen excelentes propiedades de formación de gel e inmovilización en agua, y por lo tanto, actúan como estabilizadores.

En otra realización, el aislado de proteína que posee un contenido de proteína de más de 90 % producido de acuerdo con los procesos de la presente divulgación es útil como un ingrediente proteico en las bebidas

nutricionales, tales como refrescos reforzados con proteínas, bebidas deportivas, zumos de frutas y otras bebidas ricas en proteínas. Además, este aislado de proteína es útil como un ingrediente proteico para los suplementos nutricionales, productos dietéticos especiales y las tabletas nutricionales ricas en proteínas. Además, el aislado de proteína es útil como un ingrediente de proteína en fórmulas para lactantes, así como un ingrediente en carnes trituradas y emulsionadas, carnes simuladas, productos cárnicos de combinación y productos cárnicos curados o sin curar. Además, el aislado de proteína es útil como un ingrediente de proteína en la pasta (por ejemplo, macarrones), el pan y otros productos de panadería, tortitas, obleas, galletas saladas, donuts, masa de pasteles, sopas, sustitutos de huevo, sustitutos de leche en polvo y análogos lácteos. De nuevo, un experto en la técnica entenderá que este aislado de proteína también es útil para otras aplicaciones en las que es suficiente un grado inferior de proteína, tales como en los alimentos acuícolas, alimentos para mascotas, y productos cárnicos, como se ha descrito anteriormente.

En otra realización, el aislado de proteína hidrolizada que posee un contenido de proteína de más de 90 % producido de acuerdo con los procesos de la presente divulgación es útil como un ingrediente proteico en las bebidas nutricionales, tales como refrescos reforzados con proteínas, bebidas deportivas, zumos de frutas y otras bebidas ricas en proteínas. Además, el aislado de proteína hidrolizada es útil como un ingrediente cosmético. Además, el aislado de proteína hidrolizada es útil como un ingrediente de proteína para aplicaciones en alimentos saludables para mejorar la absorción y digestibilidad. De nuevo, un experto en la técnica entenderá que este aislado de proteína hidrolizada también es útil para otras aplicaciones en las que es suficiente un grado inferior de proteína, tales como en los alimentos acuícolas, alimentos para mascotas, productos de panadería y productos cárnicos, como se ha descrito anteriormente.

(III) PROCESOS DE LA DIVULGACIÓN

Una persona experta en la técnica sería capaz de producir una harina enriquecida con proteínas utilizando métodos que son bien conocidos en la técnica. Un método general para la obtención de una harina enriquecida con proteínas se muestra en las Figuras 1 y 2. Por ejemplo, cuando se comienza con una semilla oleaginosa, tal como canola, semilla de colza, semilla de mostaza, semilla de brécol, semilla de lino, semilla de algodón, semilla de cáñamo, semillas de cártamo, semillas de sésamo o harina de soja, en particular canola, el contenido de humedad de la semilla oleaginosa se ajusta. La semilla oleaginosa en la que se ha ajustado la humedad se expone opcionalmente a un tratamiento térmico. En una forma de realización de los procesos de la presente divulgación, la semilla oleaginosa se trata térmicamente a una temperatura de 60 °C a 120 °C, opcionalmente de 70 °C a 100 °C, o de 80 °C a 90 °C, o 80 °C. En otra realización, el tratamiento térmico se lleva a cabo a una temperatura de 100 °C. El tratamiento térmico de las semillas oleaginosas tiene como resultado la inactivación de las enzimas presentes en la semilla oleaginosa, por ejemplo, mirosinasa, lipasa, fosfolipasa. Si la oleaginosa no se trata con calor, las enzimas (tales como mirosinasa, lipasa, fosfolipasa), como resultado de su acción enzimática, pueden degradar el aceite y la descomposición de los glucosinolatos y liberan azufre al aceite. Sin embargo, un tratamiento térmico también puede desnaturar las proteínas en el concentrado o aislado. A una temperatura de 75-100 °C, las enzimas se desactivan, y por lo tanto no son capaces de degradar el aceite y la descomposición de los glucosinolatos que liberan azufre en el aceite, mientras que la proteína dentro de la semilla oleaginosa no se desnatura. La selección de una temperatura de tratamiento térmico es un compromiso entre los efectos opuestos sobre la calidad del aceite, la calidad de la harina y la economía. Por consiguiente, en una realización, una temperatura de tratamiento térmico de 75-100 °C tiene como resultado un índice de dispersabilidad de las proteínas (IDP) razonablemente alto (PDI), azufre menor, AGL y fósforo en los aceites extraídos con butano / R134a prensados.

Alternativamente, en una realización, la semilla oleaginosa no está expuesta a un tratamiento térmico y su contenido de humedad no se ajusta. Una persona experta en la técnica entenderá que el contenido de humedad de la semilla es normalmente en el intervalo de 7 % a 10 % para una operación de prensado. Si el contenido de humedad de la semilla no está en este intervalo, la humedad de la semilla está opcionalmente ajustada a de 7 % a 10 % mediante la adición de agua o secado, seguido de mezcla y atemperado.

Después, la semilla oleaginosa se prensa para eliminar el aceite del interior de la semilla oleaginosa. Generalmente, una semilla oleaginosa tal como canola, semilla de colza, semilla de mostaza, semilla de brécol, semilla de lino, semilla de algodón, semilla de cáñamo, semilla de cártamo, semilla de sésamo o semilla soja, contiene de 15 % a 50 % de aceite (p/p), dependiendo de la semilla oleaginosa concreta. Normalmente, el aceite se extrae de una semilla oleaginosa prensando el aceite de la semilla oleaginosa para formar una semilla oleaginosa prensada. Ejemplos de las semillas oleaginosas prensadas son una torta de semilla (o una torta prensada), mientras que una harina desgrasada o una harina enriquecida con proteínas comienzan a partir de una torta de semilla (o torta prensada), como se explica a continuación. Se entenderá que una torta de semilla y una torta prensada definen la misma harina de semilla prensada. Los métodos de prensado del aceite de una semilla oleaginosa son bien conocidos en la técnica. Un prensado típico eliminará del 30 % al 70 % del aceite en la semilla oleaginosa, y tiene como resultado aceite prensado y una torta de semilla prensada (o torta prensada).

En una realización, la eliminación de gran parte del aceite restante de la torta de semilla se logra mediante la extracción con disolvente de la torta de semilla. La extracción con disolventes es un proceso bien conocido en la técnica y utiliza disolventes de punto de ebullición bajo, tales como hexano, pentano metilo o otros refrigerantes tales

como ITFM y R134a (1,1,1,2-tetrafluoroetano), para eliminar el aceite residual de la torta de semilla.

El proceso de extracción con disolvente da como resultado una harina de torta de semilla desgrasada y una solución de disolvente y aceite. El aceite se separa del disolvente y se usa para otros fines. Generalmente, dependiendo del proceso de extracción, la torta de semilla contendrá cantidades residuales de disolvente que se retiran de la torta de semilla. Normalmente, la eliminación del disolvente residual de la torta de semilla se lleva a cabo por calentamiento de la torta de semilla en una tostadora de eliminación de disolvente (DT), desolventizador ultrarrápido (tal como un secador de anillo) o en el horno de vacío, lo que provoca que el disolvente residual se evapore. Posteriormente, la torta de semilla se seca. El proceso anterior elimina gran parte del aceite de la semilla oleaginosa prensada y deja material conocido como harina desgrasada. En una realización, la harina desgrasada contiene menos de 6 % de aceite, opcionalmente de 0,5 % a 3 % (p/p).

La harina desgrasada se somete después a una etapa de molturación y una etapa de molturación para obtener una semilla oleaginosa prensada conocida como harina enriquecida con proteínas.

La harina desgrasada normalmente se muele, por ejemplo con un molino de discos o un molino de martillos, para reducir el tamaño de partícula de la harina desgrasada. Cuando se utiliza un molino de discos, la harina desgrasada se fuerza a través de dos discos giratorios que aplastan la harina desgrasada. Cuando se usa un molino de martillos para reducir el tamaño de partícula de la harina desgrasada, la harina se carga en el molino de martillo, en el que los martillos reducen el tamaño de partícula de la harina desgrasada.

Después de que el tamaño de partícula de la harina desgrasada se ha reducido suficientemente, la harina desgrasada molida se tamiza a través de tamices de malla, lo que resulta en una separación inicial de una fracción de fibra de la harina desgrasada, lo que tiene como resultado una harina enriquecida con proteínas. La fibra tiende a tener un mayor tamaño de partícula que no es capaz de pasar a través del tamiz. Sin embargo, una parte de la fibra será capaz de pasar a través del tamiz, y como tal, sólo una parte de la fibra se elimina mediante cribado. Normalmente, se usa un tamiz de aproximadamente un tamiz de malla nº 45 de EE.UU. para la separación inicial de la fibra. Este es un proceso de cribado en seco que tiene como resultado una harina enriquecida en fibra que no pasa a través del tamiz, y la harina enriquecida con proteínas, que sí pasa a través del tamiz. No obstante, la harina enriquecida con proteínas todavía contiene una cantidad significativa de fibra y otros factores antinutricionales. A partir del material desgrasado molido normalmente se obtiene un 30 % a 60 % en peso de la harina enriquecida con proteínas, mientras que la fracción de fibra constituye de un 40 % a 70 % del peso original del material desgrasado. La harina enriquecida con proteínas posee un contenido de proteína de 40 % a 60 %, opcionalmente de 50 % a 55 %, mientras que la fracción de fibra posee de 35 % a 48 % de contenido de proteína. En una realización de la divulgación, es esta harina enriquecida con proteínas la que se utiliza para producir los concentrados de proteína y aislados de proteína de la presente divulgación. Sin embargo, en otra realización, será evidente para los expertos en la técnica que una torta de semilla, harina desgrasada o harina enriquecida con proteínas se utilizan con los procesos de la presente divulgación. El uso de dicha harina desgrasada o enriquecida con proteínas, y el procesamiento con una cantidad mínima de calor durante el acondicionamiento, prensado, extracción con disolvente, eliminación del disolvente y secado, conduce a mejores concentrados de proteína y aislados de proteínas.

En una realización de la presente divulgación, hay un proceso para la eliminación la fibra de una harina parcialmente desgrasada, totalmente desgrasada o enriquecida con proteínas o "harina"). En particular, el procedimiento se refiere a la separación y eliminación de fibra de una harina basado en las diferencias de densidad y de tamaño de partícula entre las partículas de fibra y las partículas de proteína. La separación y eliminación de la fibra se lleva a cabo mediante el uso de métodos de separación, a velocidades específicas, que pueden separar las partículas en función de su tamaño o su densidad de partícula, tal como centrifugación, sedimentación por gravedad, una mesa de gravedad o hidrociclón para separar la fibra de la mezcla y formar el suspensión de proteína. En una realización, la separación se logra usando centrifugación. En una realización, la separación se logra utilizando una centrífuga de decantación. En una realización, la separación se logra usando una centrífuga de decantación a una velocidad de 1.000 rpm a 2.000 rpm. En otra realización, la separación se logra usando una centrífuga de decantación a una velocidad de aproximadamente 1.500 rpm. En una realización, la centrifugación de una mezcla de harina tiene como resultado tres capas: i) una capa de fibra insoluble y una suspensión de proteína encima de la fibra, que está comprendida por ii) una fracción de proteína insoluble y iii) una fracción de proteína soluble. La separación de las capas superiores y medias (el extracto de proteína soluble y la fracción de proteína insoluble fina) de la capa inferior (sólidos fibra gruesa), tiene como resultado una suspensión de proteína con la fibra eliminada.

En una realización, un proceso general para la producción de un concentrado de proteína que posee un contenido de proteína de aproximadamente 80 % y un aislado de proteína (invención) que tiene un contenido de proteína mayor que 90 % se ilustra en las Figuras 8-9.

Por consiguiente, se divulga proceso para la producción de un concentrado de proteína a partir de una harina desgrasada o enriquecida con proteínas, que comprende:

eliminar la fibra de la harina desgrasada o enriquecida con proteínas, que comprende:

- i) mezclar la harina desgrasada o enriquecida en proteínas con una mezcla de disolvente para formar una mezcla;
opcionalmente tamizar la mezcla a través de un tamiz de malla de nº 10 a 200 de EE.UU. para eliminar la fibra,
- 5 opcionalmente ajustar el pH de la mezcla a un pH de aproximadamente 7;
opcionalmente moler la mezcla;
centrifugar la mezcla para eliminar la fibra;
y formar una suspensión de proteína; y
- 10 ii) centrifugar la suspensión de proteína para formar un precipitado de proteínas y una fracción de proteína soluble;
iii) lavar el precipitado de proteína con una extracción en disolvente menos una vez y centrifugando para formar un precipitado de proteína purificada;
iv) secar el precipitado de proteína purificada para formar el concentrado de proteína.
- 15 El experto en la técnica entenderá que las etapas del proceso no tienen que seguirse exactamente. Por ejemplo, un experto en la técnica reconocería que la etapa de molturación se podría realizar antes de la etapa de cribado.
- En otra realización, la harina desgrasada o enriquecida en proteínas comprende una harina de canola, semilla de colza, semilla de mostaza, semilla de brécol, semilla de lino, semilla de algodón, semilla de cáñamo, semilla de cártamo, semilla de sésamo o harina de soja. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de canola. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de soja. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de semilla de mostaza. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de semilla de lino.
- 20 En una forma de realización de la divulgación, el disolvente de mezcla es cualquier disolvente que forma una suspensión con la harina desgrasada o enriquecida con proteínas y es capaz de suspender la proteína dentro de la mezcla. En otra realización, el disolvente de mezcla comprende agua, metanol, etanol o isopropanol, y mezclas de los mismos. En una realización adicional, el disolvente comprende agua o etanol, y mezclas de los mismos.
- 25 En una realización, la harina desgrasada o enriquecida con proteínas se mezcla con el disolvente de mezcla para formar una mezcla en una proporción de harina desgrasada o enriquecida con proteínas y el disolvente de mezcla de 1:3 a 1:20, opcionalmente de 1:6 a 1:10, o de 1:6 a 1:8.
- 30 En una realización adicional, la mezcla se tamiza en húmedo, lo que resulta en una separación de la fibra de la mezcla que contiene la proteína. En otra realización de la divulgación, el tamiz de malla comprende un tamiz de tamaño de malla Nº 20 a 200 de EE.UU. En una realización adicional, el tamaño de malla es 40 de tamaño de malla de EE.UU. una realización adicional, el tamiz de malla es un tamiz vibratorio. El tamiz de malla impide que la fibra pase a su través, mientras que la proteína en la mezcla pasa a través del tamiz, lo que tiene como resultado una separación de la fibra de la proteína. En una realización, la fracción de fibra se seca y se puede utilizar en productos de fibra dietética. En una realización, la proteína y los carbohidratos están presentes en la fracción de fibra.
- 35 En otra realización, el pH de la mezcla se ajustó a aproximadamente 7 con la adición de hidróxido de sodio acuoso. En una realización adicional, el hidróxido de sodio acuoso es una solución de 1 % a 40 %, opcionalmente de 5 % a 30 %, en peso de hidróxido de sodio en agua.
- 40 En otra realización, la mezcla se muele opcionalmente utilizando un proceso de molturación en húmedo. En una realización, la molturación en húmedo de la mezcla tiene como resultado la mezcla completa de la harina desgrasada o enriquecida con proteínas con el disolvente de mezcla. La mezcla completa de la mezcla dispersa las partículas de proteína y libera compuestos de azúcar naturales que se encuentran atrapados en el interior de las partículas de proteínas insolubles en el disolvente de mezcla. Además, la mezcla suspende los sólidos de la harina enriquecida con proteínas en el disolvente de mezcla.
- 45 En otra realización de la presente divulgación, la mezcla se centrifuga utilizando una centrifuga de decantación. En una realización, la mezcla se centrifuga con una centrifuga de decantación a una velocidad de 1000 rpm a 2000 rpm. En otra realización, la velocidad es de aproximadamente 1.500 rpm.
- 50 En otra realización, la suspensión de proteína se centrifuga a continuación, utilizando una pila de centrifuga de disco para separar las proteínas insolubles de las proteínas solubles, formando un precipitado de proteínas y una fracción de proteína soluble. En una realización, la suspensión de proteína se bombea a una centrifuga de discos. La centrifuga tiene un recipiente que gira a aproximadamente 7500 rpm. A medida que la suspensión entra en el recipiente de la centrifugadora, la suspensión se lleva hasta la misma velocidad que el recipiente, lo que resulta en altas fuerzas centrífugas, aproximadamente 6.500 veces la fuerza de gravedad que actúa sobre la mezcla. El precipitado de proteína más pesado es forzado hacia el exterior del recipiente. La fracción de proteína soluble es forzada hacia el eje del recipiente. El precipitado pesado se acumula alrededor del exterior del recipiente, que se retira de del recipiente periódica o continuamente. La suspensión de proteína se alimenta a la centrifuga de forma continua mientras que la fracción de proteína soluble líquido se bombea hacia fuera continuamente. En una
- 55 60 65

realización, la centrifugadora de disco funciona a una velocidad de 6.500 rpm a 8.500 rpm.

En una realización adicional, el precipitado de proteína se lava con un disolvente de extracción para purificar el precipitado de proteína y disolver los azúcares residuales y otros compuestos no deseables. Se entenderá que un disolvente de extracción será cualquier disolvente que disuelva los hidratos de carbono y otros compuestos no deseables. En una realización, el disolvente de extracción es agua, metanol, etanol o isopropanol, y mezclas de los mismos. En otra realización adicional, el disolvente de extracción es agua o etanol, y mezclas de los mismos. En otra realización, el disolvente de extracción es agua. En una realización, el precipitado de proteína se lava al menos dos veces con el disolvente de extracción.

En otra realización, el precipitado de proteína se lava, después se centrifuga de nuevo con una centrífuga de discos a una velocidad de 6.500 rpm a 8.500 rpm para obtener un precipitado de proteínas. En otra realización, se añaden los extractos de lavado de la centrifugación a la fracción de proteína soluble.

En otra realización, el precipitado de proteína lavada se seca para formar un concentrado de proteína que comprende un contenido de proteína de 75 % a 90 % basado en el peso en seco. En una realización adicional, el precipitado de proteína lavada se seca en un secador de vacío, secador de lecho fluidizado o secador de anillo para formar el concentrado de proteínas que posee un contenido de proteína de 75 % a menos del 90 %. Un experto en la técnica entenderá que el precipitado de proteína lavado puede usarse como aislado de proteína sin secar. Sin embargo, el aislado de proteína seca tiene una mejor vida útil, dado que la eliminación del disolvente, por ejemplo agua, resulta en un aislado de proteína más estable.

En otra realización de la presente divulgación, se proporciona un proceso para la producción de un aislado de proteína que comprende un contenido de proteína superior a 90 % basado en el peso en seco. En una realización, un proceso general para la producción de un aislado de proteína y proteínas hidrolizadas que tienen un contenido de proteínas mayor que 90 % se ilustra en las Figuras 10-11.

Por consiguiente, se divulga proceso para la producción de un aislado de proteína a partir de una harina desgrasada o enriquecida con proteínas, que comprende:

eliminar la fibra de la harina desgrasada o enriquecida con proteínas, que comprende:

i) mezclar la harina desgrasada o enriquecida en proteínas con una mezcla de disolvente para formar una mezcla;
 tamizar la mezcla a través de un tamiz de malla de 10 a 200 de tamaño de malla de EE.UU. para eliminar la fibra,
 opcionalmente ajustar el pH de la mezcla a un pH de 7;
 opcionalmente moler la mezcla; y
 centrifugar la mezcla para eliminar la fibra;
 y formar de una suspensión de proteína;

ii) centrifugar la suspensión de proteína para formar un precipitado de proteínas y una fracción de proteína soluble;

iii) filtrar la fracción de proteína soluble; y

iv) secar la proteína soluble para formar el aislado de proteína.

En una realización, se obtiene la fracción de proteína soluble utilizando el mismo proceso que se ha descrito anteriormente.

El experto en la técnica entenderá que las etapas del proceso no tienen que seguirse exactamente. Por ejemplo, un experto en la técnica reconocería que la etapa de molturación se podría realizar antes de la etapa de cribado.

En otra realización, la harina desgrasada o enriquecida en proteínas comprende una harina de canola, semilla de colza, semilla de mostaza, semilla de brécol, semilla de lino o harina de soja. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de canola. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de soja. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de semilla de mostaza. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de semilla de lino.

En una realización de la divulgación, el disolvente de mezcla comprende agua o una solución de sal. En una realización, la solución de sal comprende menos de 5 %, opcionalmente de 3 % a 4 %, o 3,5 % en peso de sal en solución. En una realización adicional, el disolvente de mezcla comprende agua. En otra realización, la relación de harina desgrasada o enriquecida con proteínas y el disolvente de mezcla es 1:3 a 1:20. En una realización adicional, la relación es de 1:6 a 1:10. En una realización, la relación es de 1:6 a 1:8.

En una realización, la fracción de proteína soluble se purifica mediante ultrafiltración y diafiltración usando un aparato de filtración por membrana. En una realización, cuando se utiliza la ultrafiltración, la fracción de proteína soluble se calienta a una temperatura de 1 °C a 60 °C, opcionalmente de 40 °C a 55 °C, antes de pasarla a través de un aparato de ultrafiltración equipado con membranas para filtrar proteínas más grandes de aproximadamente 10.000 dalton, opcionalmente, de 30.000 o 100.000 dalton. La proteína filtrada se recicla de nuevo al tanque de alimentación mientras que el líquido se descarta. El proceso de ultrafiltración se continúa hasta que la cantidad de proteína que se ha filtrado en el tanque de alimentación es igual a 30 % a 40 % de su peso inicial de la fracción de proteína soluble.

En una realización adicional, cuando se utiliza diafiltración, se lleva a cabo a 1 °C a 60 °C, opcionalmente de 40 °C a 55 °C, utilizando la unidad de diafiltración, que está equipada con las membranas para filtrar proteínas mayores que 10.000 daltons, opcionalmente aproximadamente 30.000, o aproximadamente 100.000 dalton. volumen original de la fracción de proteína soluble en el tanque de alimentación se mantiene constante mediante la adición de agua para compensar el líquido eliminado. La proteína filtrada se recicla de nuevo al tanque de alimentación. La cantidad de agua añadida para mantener el volumen original de solución proteica es de aproximadamente 2 veces el volumen original de la fracción de proteína soluble. Por ejemplo, si se utiliza 100 L de la fracción de proteína soluble, se añaden 200 l de agua a la fracción de proteína soluble en el tanque de alimentación durante el ciclo de diafiltración. El volumen del depósito de alimentación se mantuvo constante a 100 l con la adición continua de agua al tanque de alimentación mientras que el líquido se retira del sistema a través de diafiltración.

En una realización, después de la fracción de proteína soluble se ha filtrado, la proteína soluble filtrada se seca por pulverización para formar un aislado de proteína altamente funcional que comprende un contenido de proteínas superior a 90 % basado en el peso en seco. Un experto en la técnica entenderá que el secado por pulverización es la transformación de una alimentación de un estado fluido en una forma secada por pulverización de la alimentación en un medio de circulación de aire caliente. Generalmente, el secado por pulverización transforma la proteína filtrada en muchas gotitas, que luego son expuestos a una corriente rápida de aire caliente. Como resultado de la gran área de superficie de las gotitas de agua en la proteína se evapora casi instantáneamente y las gotitas se transforman en partículas de proteína en polvo seco. En una realización, la temperatura de entrada es de 180 °C a 220 °C que es la temperatura del aire caliente que entra en la cámara de secado por pulverización, la temperatura de salida es de 75 °C a 90 °C, que es la temperatura de los gases de escape, y la temperatura de alimentación es de 40 °C a 50 °C. Sin embargo, el aislado de proteína seca tiene una mejor vida útil, dado que la eliminación del disolvente, por ejemplo agua, resulta en un aislado de proteína más estable.

En otra realización de la presente divulgación, se proporciona un proceso para la producción de un aislado de proteína que posteriormente se modifica o hidroliza para formar un aislado de proteína altamente funcional o una mezcla de proteínas hidrolizadas, péptidos y aminoácidos que comprende un contenido de proteína superior al 90 % basado en el peso en seco.

Por consiguiente, en una realización de la presente divulgación, se divulga proceso para la producción de un aislado de proteína a partir de una harina desgrasada o enriquecida con proteínas, que comprende:

eliminar la fibra de la harina desgrasada o enriquecida con proteínas, que comprende:

i) mezclar la harina desgrasada o enriquecida en proteínas con una mezcla de disolvente para formar una mezcla; opcionalmente tamizar la mezcla a través de un tamiz de malla de 10 a 200 de tamaño de malla de EE.UU. para eliminar la fibra, opcionalmente ajustar el pH de la mezcla a un pH de aproximadamente 7; opcionalmente moler la mezcla; y centrifugar la mezcla para eliminar la fibra; y formar de una suspensión de proteína;

ii) centrifugar la suspensión de proteína para formar un precipitado de proteínas y una fracción de proteína soluble;

iii) mezclar el precipitado de proteína con agua para formar una mezcla de precipitado de proteína y, opcionalmente, ajustar el pH de la mezcla a un pH de 3 a 7;

iv) añadir el complejo de celulasa a la mezcla de precipitado de proteína para hidrolizar fibra residual;

v) lavar el precipitado de proteína con un disolvente de extracción y centrifugando para formar un aislado de proteína.

El experto en la técnica entenderá que las etapas del proceso no tienen que seguirse exactamente. Por ejemplo, un experto en la técnica reconocería que la etapa de molturación se podría realizar antes de la etapa de cribado.

En otra realización, la harina desgrasada o enriquecida en proteínas comprende una harina de canola, semilla de colza, semilla de mostaza, semilla de brécol, semilla de lino o harina de soja. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de canola. En una realización adicional, la harina enriquecida con

proteínas comprende una harina de soja. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de semilla de mostaza. En una realización adicional, la harina enriquecida con proteínas comprende una harina de semilla de lino.

5 En otra realización de la divulgación, el disolvente de mezcla comprende agua o una solución de sal. En una realización, la solución de sal comprende menos de 5 %, opcionalmente de 3 % a 4 %, o 3,5 % en peso de sal en solución. En una realización adicional, el disolvente de mezcla comprende agua. En otra realización, la relación de harina desgrasada o enriquecida con proteínas y el disolvente de mezcla es 1:3 a 1:20. En una realización adicional, la relación es de 1:6 a 1:10. En una realización, la relación es de 1:6 a 1:8.

10 En una realización adicional, la mezcla se tamiza en húmedo, lo que resulta en una separación de la fibra de la mezcla que contiene la proteína. En otra realización de la divulgación, el tamiz de malla comprende un tamiz de malla nº 20 a 200 de EE.UU. En una realización adicional, el tamiz de malla tiene un tamaño de malla de 40 de EE.UU. En una realización adicional, el tamiz de malla es un tamiz vibratorio. El tamiz de malla impide que la fibra pase a su través, mientras que la proteína en la mezcla pasa a través del tamiz, lo que tiene como resultado una separación de la fibra de la proteína. Esto resulta en una mezcla de proteína que pasa a través del tamiz y una fracción de fibra que está atrapado por el tamiz. En una realización, la fracción de fibra se seca y se puede utilizar en productos de fibra dietética. En una realización, algo de proteína y de carbohidratos están presentes en la fracción de fibra.

20 En otra realización, el pH de la mezcla se ajusta opcionalmente a aproximadamente 7 con la adición de hidróxido de sodio acuoso. En una realización adicional, el hidróxido de sodio acuoso es una solución de 1 % a 40 %, opcionalmente de 5 % a 30 %, en peso de hidróxido de sodio en agua.

25 En otra realización, la mezcla se muele opcionalmente utilizando un proceso de molturación en húmedo. En una realización, la molturación en húmedo de la mezcla tiene como resultado la mezcla completa de la harina desgrasada o enriquecida con proteínas con el disolvente de mezcla.

30 En otra realización de la presente divulgación, la mezcla se centrifuga utilizando una centrifuga de decantación. En una realización, la mezcla se centrifuga con una centrifuga de decantación a una velocidad de 1000 rpm a 2000 rpm. En otra realización, la velocidad es de aproximadamente 1.500 rpm.

35 En otra realización, la suspensión de proteína se centrifuga, utilizando una pila de centrifuga de disco para separar las proteínas insolubles de las proteínas solubles, formando un precipitado de proteínas y una fracción de proteína soluble. En una realización, la fracción de proteína soluble se filtra como se ha descrito anteriormente. En una realización, la centrifuga de disco funciona de forma continua a una velocidad de 6500 rpm a 8500 rpm a una temperatura de 1 °C a 60 °C, opcionalmente de 20 °C a 40 °C, u opcionalmente a 20 °C a 25 °C.

40 En una forma de realización de la divulgación, la proteína precipitada se mezcla con agua y su pH se ajusta opcionalmente para la adición de complejo de celulasa, de una manera similar a como se ha descrito anteriormente. Esta etapa enzimática adicional hidroliza la fibra residual y permite la eliminación de la fibra del precipitado de proteínas.

45 En otra realización, después del tratamiento con el complejo de celulasa, el precipitado de proteína se lava al menos una vez con un disolvente de extracción para eliminar los compuestos de azúcar solubles en agua como resultado de la hidrólisis de la fibra por el complejo de celulasa. En una realización, el disolvente de extracción es agua. En una realización, la mezcla del precipitado de proteína se lava al menos dos veces con el disolvente de extracción. En una realización, la relación del disolvente de extracción y la proteína precipitada es de 10:1 a 1:1, opcionalmente de 4:1 a 2:1. La mezcla se centrifuga a continuación adicionalmente para obtener un precipitado de proteína que se ha purificado adicionalmente.

50 En una realización, el precipitado de proteína purificada adicional se somete después cocción en chorro a alta presión para obtener un aislado de proteína funcional que tiene un alto contenido de proteína superior a 90 % basado en el peso en seco. En una forma de realización, el cocido en chorro de la aislado de proteína se produce a una temperatura de 90 °C a 120 °C durante de 1 segundo a 2 minutos, opcionalmente de 3 segundos a 30 segundos. Como entenderá un experto en la técnica, el cocido en chorro implica la inyección de vapor en la proteína purificada, y tiene como resultado la pasteurización de la proteína y mejora las propiedades funcionales de la proteína aislada.

60 En otra realización, el precipitado de proteína purificada adicional se hidroliza usando proteasas para formar un extracto de proteína hidrolizada que contiene proteínas hidrolizadas, péptidos y aminoácidos que tienen un contenido de proteínas superior a 90 % basado en el peso en seco. En una realización, las proteasas son, por ejemplo, Alcalase® y Flavourzyme®. Alcalase® y Flavourzyme® se obtuvieron de Novozymes North America, Inc., Franklinton, N.C. USA. Esta etapa se hidroliza la proteína en el precipitado de proteínas en péptidos más pequeños y aminoácidos, que son solubles en las bebidas nutricionales y son fácilmente adsorbidos. En una realización, el precipitado de proteína purificada se mezcla con agua para formar una suspensión de proteína, seguido

opcionalmente de ajuste del pH a un pH de 6,0 a 10,0, opcionalmente de 7,5 a 8,5. En una realización, la Alcalase® se añade en una proporción de aproximadamente 0,5 % basado en el peso en seco de la suspensión de proteína. En una realización adicional, la temperatura se ajusta a 20 °C a 65 °C, opcionalmente 50 °C a 60 °C, o aproximadamente 60 °C, durante 1 a 4 horas. La suspensión de proteína hidrolizada se enfría después a 30 °C a 50 °C, o 40 °C a 50 °C, o aproximadamente 50 °C. El pH de la mezcla se ajusta después a un pH de 5,0 a 7,0, o 6,0 a 7,0, o de aproximadamente 6,5, y una proteasa para formar un extracto de proteína hidrolizada, tal como Flavourzyme®, se añade después a la mezcla. En una realización, la proteasa para formar un extracto de proteína hidrolizada, tal como Flavourzyme®, se añade en una proporción de aproximadamente 0,5 % basado en el peso en seco de la suspensión de proteína. En una realización adicional, la mezcla se calienta después a una temperatura de 20 °C a 60 °C, opcionalmente 40 °C a 60 °C, o 45 °C a 55 °C durante de 1 a 4 horas. La mezcla de proteína hidrolizada se centrifuga después para separar el extracto de proteína hidrolizada de los sólidos insolubles. extracto de proteína hidrolizada soluble se seca después aspersion como se ha descrito anteriormente, mientras que el extracto de la centrifugación se añade a la fracción de proteína soluble como se ha descrito anteriormente.

En otra realización de la divulgación, se proporciona también un proceso para la producción de un concentrado de proteína hidrolizada de una harina parcialmente desgrasada, totalmente desgrasada o enriquecida con proteínas, que comprende:

- i) mezclar la harina parcialmente desgrasada, totalmente desgrasada o enriquecida en proteínas con agua, para formar una mezcla;
- ii) opcionalmente ajustar el pH de la mezcla a un pH de 6,0 a 10,0;
- iii) separar la mezcla para eliminar la fibra de la mezcla y formar una primera suspensión de proteína, en el que la primera suspensión de proteína comprende una fracción de proteína soluble y una fracción de proteína insoluble;
- iv) opcionalmente ajustar el pH de la primera suspensión de proteína a un pH de aproximadamente 7,0;
- v) separar la primera suspensión de proteína para formar una primera fracción de sólidos de proteínas y una primera fracción de proteína soluble;
- vi) mezclar la primera fracción de sólidos de proteína con agua para formar una segunda suspensión de proteína;
- vii) separar la segunda suspensión de proteína para formar una segunda fracción de sólidos de proteína y una segunda fracción de proteína soluble;
- viii) mezclar la segunda fracción de sólidos de proteína con agua para formar una tercera suspensión de proteína;
- ix) ajustar el pH de la tercera suspensión de proteína a un pH de 7,0 a 9,0;
- x) mezclar la segunda mezcla con al menos una proteasa para formar un extracto de proteína hidrolizada;
- xi) separar el extracto de proteína hidrolizada de la tercera suspensión de proteína para formar el concentrado de proteína hidrolizada.

En otra realización de la divulgación, la proporción de harina parcialmente desgrasada, totalmente desgrasada o enriquecida en proteínas con el agua o es de 1:3 a 1:30 (p/p). En otra realización, la proporción de harina parcialmente desgrasada, totalmente desgrasada o enriquecida en proteínas con el agua es de 1:5 a 01:20 (p/p). En una realización, la proporción es de 1:6 a 1:12 (p/p). En una realización, la proporción es de 1:8 a 01:10 (p/p).

En otra realización, el pH de la mezcla se ajusta a 8,0 a 9,0. En una realización adicional, el pH de la mezcla se ajusta a 8,5 a 9.

En una realización, la mezcla se centrifuga para separar la fibra de la suspensión de proteína y formar el extracto de proteína. En una realización, la mezcla se centrifuga a una velocidad de 1.000 rpm a 2.000 rpm. En una realización adicional, la mezcla se centrifuga a una velocidad de 1.400 rpm a 1.600 rpm. En una realización, la mezcla se centrifuga utilizando una centrifuga de decantación.

En otra realización, la primera suspensión de proteína se centrifuga para separar la fracción de sólidos de proteína de la fracción de proteína soluble. En una realización adicional, la suspensión de proteína se centrifuga a una velocidad de 4.000 rpm a 8.000 rpm. En una realización adicional, la suspensión de proteína se centrifuga a una velocidad de 5.000 a 8.500 rpm.

En otra realización de la divulgación, la proporción de la primera y segunda fracción de sólidos de proteína y el agua es 1,0:0,5 a 1,0:3,0 (p/p). En una realización adicional, la proporción de la primera y segunda fracción de sólidos de proteína y el agua es 1,0:1,0 a 1,0:2,0 (p/p).

En otra realización de la divulgación, el pH de la tercera suspensión de proteína se ajusta a 8,0 a 8,5.

En una realización de la divulgación, la relación de la tercera suspensión de proteína a la proteasa es de 100:1 a 5000:1 (p/p).

una forma de realización de la divulgación, la tercera suspensión de proteína se mezcla con una proteasa a una temperatura de 50 °C a 70 °C. En otra realización, la tercera suspensión de proteína se mezcla con una proteasa a una temperatura de 55 a 65 °C.

En otra realización, la al menos una proteasa comprende una proteasa de *Bacillus licheniformis*.

5 En una realización adicional, el proceso comprende además la etapa de mezclar la tercera suspensión de proteína con una segunda proteasa.

En una realización, la relación de la tercera suspensión de proteína y la segunda proteasa es de 100:1 a 5000:1 (p/p).

10 En otra forma de realización de la divulgación, la tercera suspensión de proteína se mezcla con la segunda proteasa a una temperatura de 40 °C a 60 °C. En una realización, la tercera suspensión de proteína se mezcla con la segunda proteasa a una temperatura de 45 °C a 55 °C.

15 En una realización adicional, la segunda proteasa comprende un complejo de proteasa / peptidasa fúngicas de *Aspergillus oryzae*.

En una realización, el extracto de proteína hidrolizada se separa usando una centrífuga. En una realización adicional, el extracto de proteína hidrolizada se separa usando una centrífuga decantadora a una velocidad de 3.800 a 5.200 rpm.

20 En otra realización, la fracción de proteína soluble clarificada se seca en un secador de vacío, un secador de lecho fluidizado, un secador de anillo o un secador por pulverización para formar el aislado de proteína.

25 En una realización de la divulgación, la harina desgrasada parcialmente, desgrasada completamente o enriquecida en proteínas comprende una harina de canola, semilla de colza, semilla de mostaza, semilla de brécol, semilla de lino, semilla de algodón, semilla de cáñamo, semilla de cártamo, semilla de sésamo o harina de soja. En otra realización, la harina desgrasada parcialmente, desgrasada completamente o enriquecida en proteínas comprende una harina de canola.

30 En una realización, el uso de un disolvente de extracción, tal como etanol, conduce a un concentrado de proteína o aislado de proteína que tiene propiedades organolépticas superiores, así como superiores propiedades de solubilidad de proteínas, que por lo tanto posee mejores propiedades funcionales. En una realización, el uso de un disolvente de extracción, tal como etanol, tiene como resultado concentrados de proteína que contienen menos impurezas. En consecuencia, los concentrados de proteína son generalmente de mayor calidad y tienen mejores propiedades funcionales.

35 Los términos de grado tales como "sustancialmente", "alrededor de" y "aproximadamente" como se usa en el presente documento significan una cantidad razonable de desviación del término modificado de tal manera que el resultado final no cambia significativamente. Estos términos de grado deben interpretarse como que incluyen una desviación de al menos $\pm 5\%$ del término modificado si esta desviación no anularía el significado de la palabra que modifica.

Los siguientes ejemplos no limitantes son ilustrativos de realizaciones de la presente divulgación.

45 Ejemplos

Reactivos y materiales

50 Las semillas de canola (*Brassica juncea* y *Brassica napus*) se obtuvieron de Viterra, North Battleford, Saskatchewan, Canadá. El metilpentano comercial se adquirió en Univar Canada Ltd. , Saskatoon, Saskatchewan, Canadá. Las muestras de enzima de celulasa (Celluclast® 1,5 l), complejo de celulasa, Alcalase® 2,4L FG, y Flavourzyme® se obtuvieron de Novozymes North America, Inc., Franklinton, N.C. EE.UU. El aislado de proteína de guisante se obtuvo de Roquette America, Inc., Keokuk, IA, EE.UU. El aislado de proteína de soja se obtuvo de Protient, ABF Ingredients Company, St. Paul, MN EE. UU.

55 *Análisis*

60 La mezcla de los materiales se realizó usando un mezclador de cinta (Torco Modelo R-12, Toronto Coppersmithing International Ltd., Scarborough, Ontario, Canadá). Los tratamientos térmicos de las muestras de semillas se llevaron a cabo utilizando un sistema de procesamiento de cereales en infrarrojo (Micronizing Company Limited, Framlingham, Suffolk, Inglaterra) o un sistema de cocción de de dos bandejas Simon-Rosedown (Laboratory cooker-press, Simon-Rosedowns Limited, Hull, Inglaterra). El prensado de las semillas oleaginosas se lleva a cabo utilizando una prensa de tornillo de Gusta Laboratory. La ultrafiltración se llevó a cabo usando una unidad de ultrafiltración Millipore® (Modelo A60, Millipore® Corporation, Bedford, MA, EE.UU.). El contenido de proteína de las muestras se determinó mediante el analizador de proteínas Leco® (Modelo FP-428, Leco® Corporation, ST. Joseph, MI. EE.UU.), basado en el Método Oficial AOCS Ba 4e-93. El contenido de humedad de las muestras se determinó

mediante muestras de secado en un horno de convección a 105 ± 2 °C durante 16 horas o hasta un peso constante basado en el Método Oficial AOCS Ba 2a-38. El contenido de aceite de las muestras se determina basándose en el método oficial AOCS Ba 3-38 con los siguientes cambios:(a) se utilizaron 2 g de muestra en lugar de 5 g en el análisis; (b) la extracción continuó durante 4 horas, y (c) el matraz de extracción se calentó para eliminar éteres de petróleo residuales. El contenido de cenizas de las muestras se determina con base en método oficial AOCS Ba 5a-49 con los siguientes cambios:(a) las muestras se precalcinaron en un plato caliente antes de introducirlas en el horno de mufla; (b) las muestras se incineraron durante 18 horas en horno de mufla; y (c) se añadió ácido nítrico si la muestra seguía negra. El contenido de fibra bruta de las muestras se determina con base en método oficial AOCS Ba 6 - 84 con los siguientes cambios:a) las muestras con contenidos de aceite por debajo de 3 % no se desgrasaron y (b) el digerido se secó durante 2 horas a 130 °C. El índice de dispersabilidad de proteínas (PDI) de las muestras se determinó basándose en el método oficial de AOCS Ba 10-65. Los ácidos grasos libres (AAG) de las muestras de aceite se determinaron sobre la base del método oficial de AOCS Ca 5a-40. El fósforo y el azufre de las muestras se determinaron con base en los métodos modificados de AOCS Ca20-99 y AOCS Ca 17-01 (modificados), respectivamente. El contenido de fibra bruta de las muestras se determina con base en método oficial AOCS Ba 6 - 84 con los siguientes cambios:a) las muestras con contenidos de aceite por debajo de 3 % no se desgrasaron y (b) el digerido se secó durante 2 horas a 130 °C. El índice de dispersabilidad de proteínas (IDPI) de las muestras se determinó basándose en el Método Oficial de AOCS Ba 10-65. El contenido en glucosinolatos de las muestras se determina con base al método de la Comisión Canadiense de Granos, Grain Research Laboratory (Daun, J.K. y McGregor, D.I., Glucosinolate Analysis of Rapeseed (Canola), December 15, 1981). Los residuos de disolvente se determinaron usando técnicas de CG / EM basadas en un método de A.O.C.S modificado del Método Oficial, Ba 13-87.

Ejemplo 1 (a) -Efecto del tratamiento térmico sobre semillas de canola (Brassica juncea) a temperaturas entre 75 °C-95 °C

Siete muestras que contienen aproximadamente 4 kg de semillas de canola (28 kg en total) se ajustaron a partir de un contenido de humedad original de 6,25 % a 11 % mediante la adición de agua a la semilla de canola en un cubo de plástico con agitación manual durante unos pocos minutos. La semilla de canola en los cubos a se cubrió después y se templó durante la noche en el laboratorio.

Una vez atemperada la semilla de canola durante la noche, seis muestras que contienen aproximadamente 4 kg de la semilla atemperada (aproximadamente 24 kg en total) se sometieron a tratamientos térmicos individuales con una combinación de altas temperaturas y tiempos de residencia cortos utilizando una escala de laboratorio como se indica en la Tabla 1. Para el control, una muestra de control (de aproximadamente 4 kg) de semilla de canola se calentó en un horno de microondas durante 2 minutos (calor a 85-95 °C). A continuación, la semilla de canola se cubrió con una lámina de aluminio y se calentó a 95 °C en un horno de aire forzado durante 30 minutos (Tabla 1).

Después del tratamiento térmico, siete muestras (de aproximadamente 4 kg cada una) de las semillas de canola tratadas térmicamente se laminaron usando un molino de descamación de laboratorio molino y después se prensaron, lo que tuvo como resultado aceites prensados y tortas e proteínas prensadas. Los aceites prensados se analizaron para determinar los contenidos de azufre y ácidos grasos libres (AAG). Las tortas prensadas se almacenaron en un congelador.

Siete muestras (de aproximadamente 1 kg cada una) de las tortas prensadas de los seis ensayos de tratamiento de térmico y un control se extrajeron utilizando una mezcla disolvente de butano y R-134a (1,1,1,2-tetrafluoroetano) para producir aceites extraídos y harinas de canola desgrasadas. La torta prensada se cargó en una columna y la mezcla de disolvente a 300 PSI de presión fluye a través de la torta prensada y fluidiza las partículas de la torta prensada. El aceite se extrae de la torta a 50 °C. La mezcla de disolventes con aceite en forma líquida se bombeó a una zona de baja presión y se liberó la presión. La mezcla de disolventes se convierte en gas, mientras que el aceite permanece en un estado líquido para la separación del aceite de la mezcla de disolventes. Se analizaron las harinas de canola desgrasada para el índice de dispersabilidad de proteínas (IDP), cuyos resultados se muestra en la Tabla 3.

Las tortas prensadas restantes se extrajeron con metilpentano durante cinco horas utilizando un sistema de laboratorio Soxhlet. Aproximadamente se necesitaron 6-8 l de metilpentano recién preparado para cada lote de extracción. El aceite extraído se recuperó por evaporación y eliminación del disolvente para eliminar el disolvente de la micela al vacío a 60 °C. El aceite extraído se analizó para determinar los contenidos de azufre, fósforo y AAG. En las harinas extraídas con metilpentano se eliminó el disolvente en campana de extracción de laboratorio durante tres días a temperatura ambiente. Los contenidos de humedad y aceite de la torta de prensado se muestran en la Tabla 4.

Ejemplo 1 (b) -Efecto del tratamiento térmico sobre semillas de canola (Brassica juncea) a temperaturas entre 100 °C-130 °C

Cinco muestras que contienen aproximadamente 4 kg (aproximadamente 20 kg en total) de semillas de canola se ajustaron a partir de un contenido de humedad original de 6,25 % a 11 % mediante la adición de agua a la semilla de

canola en un cubo de plástico con agitación manual durante unos pocos minutos. La semilla de canola en los cubos a se cubrió después y se templó durante la noche en el laboratorio.

Una vez atemperada la semilla de canola durante la noche, cinco muestras que contienen aproximadamente 4 kg de la semilla atemperada (aproximadamente 20 kg en total) se sometieron a tratamientos térmicos individuales con una combinación de altas temperaturas y tiempos de residencia cortos utilizando una escala de laboratorio como se indica en la Tabla 2. Después del tratamiento térmico, las cinco muestras (de aproximadamente 4 kg cada una) de las semillas de canola tratadas con calor se laminaron usando un molino de descamación de laboratorio y después se prensaron. Los aceites prensados se prensaron para determinar los contenidos de azufre, fósforo y AAG. Las tortas prensadas se almacenaron en un congelador.

Cinco muestras (de aproximadamente 1,5 kg cada una) de las tortas prensadas de los cinco ensayos de tratamiento de térmico se extrajeron utilizando una mezcla disolvente de butano y R-134a (1,1,1,2-tetrafluoroetano) para producir aceites extraídos y harinas de canola desgrasadas. Los aceites extraídos se prensaron para determinar los contenidos de azufre y AAG. Se analizaron las harinas de canola desgrasada para el índice de dispersabilidad de proteínas (IDP).

Discusión

En el proceso de tratamiento térmico, el calentamiento rápido hace que sea posible exponer la semilla de canola a un aumento de la temperatura muy rápidamente y, por lo tanto, inactivar las enzimas (por ejemplo miosinasa, lipasa, fosfolipasa). Esta es una manera más económica para la inactivación de enzimas consistente sin pérdida de lisina u otros aminoácidos sensibles al calor.

Como se muestra en la Tabla 3, el incremento de la temperatura de tratamiento térmico de 75 °C a 100 °C dio lugar a la disminución gradual del IDP de la harina desgrasada. La disminución del IDP de la harina desgrasada se acelera cuando la temperatura se aumentó de 105 °C a 130 °C. El brusco descenso del IDP se produjo cuando la temperatura estaba por encima de 110 °C. Normalmente, cuanto mayor sea la temperatura de tratamiento térmico, mayor será el porcentaje de moléculas de proteína que se desnaturalizan y por lo tanto menor será el IDP de la harina desgrasada.

El contenido de azufre en el aceite prensado a partir de semillas de canola sin tratamiento térmico era de 46,9 ppm, que disminuyó bruscamente a 21,5 ppm y 9,77 ppm con tratamiento térmico a 75 °C y 80 °C durante 15 segundos, respectivamente. El tratamiento térmico a temperaturas más altas de 80 °C a 130 °C no tenía ningún efecto importante sobre el contenido de azufre en el aceite prensado.

El azufre en el aceite extraído con butano / R134a disminuyó desde el nivel de 303 ppm sin tratamiento térmico a 99,3 ppm a 75 °C y 101 ppm a 80 °C. El nivel de azufre mostró una reducción continua con el aumento de la temperatura de tratamiento térmico, excepto a 85 °C.

El contenido de azufre en el aceite bruto extraído con metilpentano disminuyó continuamente en relación con el aumento de la temperatura desde 222 ppm a 75 °C a 34,5 ppm a 95 °C. El aceite extraído con metilpentano tenía niveles de azufre superiores a 75 °C y 80 °C, pero inferiores a 85-95 °C en comparación con los aceites extraídos con butano / R134a.

El contenido de azufre en el aceite prensado, el aceite extraído con butano / R134a y metilo pentano de las muestras de control era elevado. En el tratamiento térmico de las muestras de control, la semilla de canola se cubrió usando una lámina de aluminio y se calentó a 95 °C en un horno de aire forzado durante 0,5 horas. Debido a que la eficacia de la transferencia de calor es baja, la temperatura de la semilla en el horno podría haber sido menor que 95 °C a pesar de que la temperatura del horno se ajustó a esa temperatura. Por lo tanto, la miosinasa todavía era mayormente activa, lo que causando la ruptura de glucosinolatos y liberación del azufre en los aceites prensados y extraídos.

El ácido graso libre en el aceite prensado disminuyó ligeramente con el aumento de la temperatura de tratamiento térmico de 75 °C a 95 °C. Un brusco descenso de los AAG se produjo a 100 °C y FFA mostró pocos cambios desde 100 hasta 130 °C. El FFA en el aceite extraído con butano / R134a mostró disminución significativa con el aumento de la temperatura desde 75 hasta 100 °C, sin embargo, un aumento adicional de la temperatura produjo poco beneficio para la reducción de AGL. El AGL en aceite extraído con metil pentano también disminuyó con el aumento de temperatura de 75 a 95 °C. El aumento de la temperatura de tratamiento térmico potenció el grado de inactivación de la lipasa, que a su vez reduce la hidrólisis de aceite por la lipasa y por lo tanto reduce el contenido de AAG.

El contenido en AAG en el aceite es dependiente principalmente de la calidad de la semilla. La manipulación o almacenamiento inadecuado puede causar niveles elevados de AAG.

El contenido de fósforo del aceite extraído con butano / R134a era muy bajo y oscila entre 2,93 ppm a 75 °C y 22,8

ppm a 95 °C. El contenido de fósforo del aceite prensado también fue bajo a las temperaturas de tratamiento térmico de 100, 105, 110, y 130 °C. El contenido de fósforo del aceite prensado del tratamiento térmico de 120 °C fue de 117 ppm.

5 La selección de una temperatura de tratamiento térmico es un compromiso entre los efectos opuestos sobre la calidad del aceite, la calidad de la harina y la economía. Por consiguiente, en una realización, una temperatura de tratamiento térmico de 100 °C tiene como resultado un IDP razonablemente alto (PDI), azufre menor, AGL y fósforo en los aceites extraídos con butano / R134a prensados.

10 El tratamiento térmico de las semillas de canola por encima de 80 °C redujo el contenido de azufre en el aceite prensado a niveles por debajo de 10 ppm. El aceite prensado representó el 50-60 % del aceite bruto total de la operación de trituración. El tratamiento térmico de las semillas de canola redujo el contenido de azufre de los aceites extraídos con butano/R134a y metilpentano sustancialmente con un aumento en la temperatura. El alto contenido de azufre en el aceite extraído está relacionado con un alto contenido de glucosinolatos en la semilla de canola. La semilla de canola (*B. juncea*) contenía 22,95 µmoles/g de glucosinolatos en una base de peso en seco. Si se utiliza semilla de canola con un contenido de glucosinolatos de 12 µmoles / g o menor, el contenido de azufre en el aceite extraído puede reducirse aún más utilizando la misma condición de tratamiento térmico.

20 Para un tratamiento térmico de 100 °C durante 15 segundos, el contenido de fósforo en los aceites prensados extraídos con butano / R134a estaba por debajo de 50 ppm.

Ejemplo 2 (a) -Concentrado de proteína de canola que tiene aproximadamente un 70 % de contenido de proteínas

(i) Cribado y aspiración de semilla de canola

25 Aproximadamente 523,5 kg de semilla de canola (*Brassica juncea*) se tamizaron a través de un tamiz vibratorio Rotex (Modelo 111 A-MS / MS, Rotex Inc., Cincinnati, Ohio, EE. UU.) equipado con un tamiz de malla EE.UU. 10 para separar la semilla de gran tamaño de los materiales extraños. La semilla de canola cribada se introdujo en un aspirador Kice Kice Metal Products Company Inc., Wichita, Kansas, EE. UU.) y se aspiró en dos fracciones, la semilla limpia y los materiales extraños ligeros. Aproximadamente 21,8 kg de materiales extraños y 499 kg de la semilla limpia se produjeron a partir de las operaciones de Cribado y aspiración. La semilla limpia contenía 8,12 % de humedad.

(ii) Prensado con un tornillo de la semilla limpia de canola

35 Aproximadamente 499 kg de la semilla de canola limpia se laminó para producir la semilla en copos con un espesor promedio de $0,3 \pm 0,1$ mm usando un molino de descamación (Modelo S28, Lauhoff Corporation, Detroit, EE. UU.). La semilla de canola en copos se trató térmicamente usando una estufa de dos bandejas. La temperatura para la bandeja superior era 52-59 °C, mientras que la temperatura de la bandeja inferior era 68-90 °C. El tiempo de residencia para las bandejas superior e inferior fue de 20 minutos, respectivamente. Después del tratamiento térmico, la prensa se alimentó con la semilla en copos y se prensó para producir 278,9 kg de torta prensada y 138,1 kg de aceite prensado.

(iii) Extracción en disolvente de la torta prensada

45 Aproximadamente 278,9 kg de la torta prensada se sometieron a una extracción con disolvente que se llevó a cabo a 50 °C durante 1,5 horas utilizando una mezcla disolvente de butano y R134a. Aproximadamente se produjeron 201,4 kg de la harina desgrasada (extraída) que contenga 47,0 % de proteína basado en el peso en seco a partir de 278,9 kg de la torta prensada.

(iv) Molturación y cribado de la harina desgrasada

55 La harina desgrasada (201,4 kg) se molió usando un molino de disco equipado con placas nº 8114 estacionarias y rotatorias (The Bauer Bros. Co., Springfield, Ohio, EE. UU.) a un hueco de 0,02" (0,05 cm), una velocidad de rotación de 2340 rpm y 100 kg / h de rendimiento. Se llevó a cabo solo una pasada por el molino de discos. Un diagrama de flujo esquemático para la molturación y el cribado de la harina desgrasada se muestra en la Figura 12. Se produjeron aproximadamente 193 kg de harina de canola molida desgrasada. En la operación de molturación se perdieron aproximadamente 8,4 kg de material con un rendimiento de recuperación de 95,83 %.

60 La harina de canola desgrasada molida se tamizó a través de un tamiz de malla 45 EE.UU. usando el tamiz vibratorio Rotex a un caudal de 100 kg / h. Se llevó a cabo solo una pasada por el tamiz. Aproximadamente se produjeron 76,85 kg de harina de enriquecida con proteínas (fracción fina) y 114,8 kg de harina enriquecida en fibras (fracción gruesa), respectivamente. En la operación de cribado se perdieron aproximadamente 1,35 kg de material con un rendimiento de recuperación de 99,30 %. Después del cribado, un 40,1 % del material total era harina enriquecida con proteínas y el 59,9 % fue harina enriquecida con fibra, respectivamente.

(v) Separación en húmedo para eliminar la fibra

Aproximadamente 71,9 kg de harina enriquecida con proteínas se mezclaron con 575 kg de agua corriente en una proporción de 1 a 8 (en peso) con agitación homogénea para formar una suspensión de proteínas. La suspensión de proteína se ajustó a pH 8,9 mediante la adición lenta de 7,6 kg de solución de NaOH al 11,06 % con agitación homogénea. A esto le siguió centrifugación a temperatura ambiente usando una centrífuga de decantación Bird Bird 6" Continuous Bowl Centrifuge, Bird Machine Company of Canada, Saskatoon, Saskatchewan). La suspensión de proteína se bombeó a través del Bird Decanter a temperatura ambiente y una velocidad de alimentación de 150 kg / h y se accionó a una velocidad de 1.500 rpm cuenco con una profundidad baja para separar los sólidos de fibra gruesa de las fracciones de proteínas solubles e insolubles. Se produjeron aproximadamente 161,9 kg de sólidos de fibra húmeda que contiene 15,42 % de sólidos y 511,5 kg de suspensión de proteína que contiene proteínas solubles e insolubles a 8,26 % de sólidos, respectivamente. 161,9 kg de sólidos de fibra húmeda se mezclaron con 161,9 kg de agua en un tanque durante 0,5 horas como una segunda extracción, a lo que siguió centrifugación a temperatura ambiente usando el Bird Decanter a una velocidad del recipiente de 1.500 rpm y una velocidad de alimentación de 160 kg / h. Se produjeron aproximadamente 74,2 kg de fibra húmeda lavada y 299 kg de suspensión de proteína que contiene proteínas solubles e insolubles. Las suspensiones de proteína que contienen proteínas solubles e insolubles de estas dos centrifugaciones se combinaron y se obtuvieron aproximadamente 810,5 kg de la suspensión de proteína combinada. Un diagrama de flujo esquemático que ilustra la separación en húmedo de fibra se muestra en la Figura 13.

Discusión

El Bird Decanter puede funcionar a una velocidad del recipiente de 1.000 - 5.000 rpm (100 a 2130 g) y una profundidad de 5 a 19 mm. Un giro hacia abajo de la muestra de suspensión de proteína en un tubo de centrífuga usando una centrífuga de mesa mostró tres capas, extracto líquido como la capa superior, la torta de proteína insoluble de partículas finas de proteínas como la capa media y los sólidos de la fibra gruesa como la capa inferior. El objetivo era separar las capas superiores y medias (el extracto de proteína soluble y los sólidos finos de proteínas insolubles) de la capa inferior (sólidos de fibra gruesa). El decantador Bird se hizo funcionar a una profundidad de baja y una velocidad del recipiente de 1.000, 1.500, 2.000, 2.500 y 3.000 rpm y la eficiencia de separación se evaluó mediante pruebas del giro hacia abajo de la alimentación, la fracción de fibras y la suspensión de proteína utilizando la centrífuga de mesa. La separación de los sólidos de fibra gruesa de los sólidos de proteínas finas insolubles y el extracto de proteína soluble se obtuvo a una velocidad del recipiente de aproximadamente 1. 500 rpm (~ 760 g) y una profundidad baja.

Ejemplo 3 (b) -aislado de proteína de canola

Aproximadamente 770 kg de una suspensión de proteína que contiene proteínas solubles e insolubles preparadas de la misma manera que en el Ejemplo 3a (i) - (v) (incluyendo la eliminación de fibras mediante el Bird Decanter), se centrifugó usando un Westfalia® Decanter (Modelo CA 225- 010, Centrico Inc. , Northvale, NJ, EE. UU.) a temperatura ambiente y una velocidad del recipiente de 5200 rpm (3300 g) para separar el extracto de proteína soluble a partir de sólidos de proteínas insolubles. Se produjeron aproximadamente 650 kg de un primer extracto de proteínas que contiene proteínas solubles y 120 kg de una primera fracción sólida de proteínas. La primera fracción sólida de proteína se mezcló con 360 kg de agua a temperatura ambiente durante 0,5 horas en agitación homogénea, lo que se siguió de centrifugación usando el Westfalia® Decanter para obtener 368,5 kg de un segundo extracto de proteínas que contiene proteínas solubles y 91,3 kg de una segunda fracción de sólidos de proteínas.

Los extractos primero y segundo de proteínas se combinaron juntos y el extracto combinado se centrifugó usando una centrífuga Westfalia® Disc Stack Centrifuge (Modelo SA14-02-073, Centrico. Northvale, NJ, EE. UU.) a temperatura ambiente y una velocidad del recipiente de 8500 rpm (6549 g) para eliminar los restos de sólidos insolubles en el extracto de proteína soluble. Se produjeron aproximadamente 978,5 kg de extracto de proteína clarificada y 21,9 kg de una tercera fracción de sólidos de proteína.

El extracto de proteína clarificada se ajustó a pH 7,0 mediante la adición de 1,8 kg de solución de NaOH al 11 %, seguido de la concentración del extracto de proteína en el tanque de alimentación de 978,5 kg a 140 kg a temperatura ambiente usando una unidad de ultrafiltración Millipore® de Millipore®, MA, EE.UU. La unidad de ultrafiltración (UF) estaba equipada con tres cartuchos de fibra hueca con un corte de peso molecular de 10.000 daltons, conteniendo cada cartucho 5 m² de área de superficie de la membrana. El extracto de proteínas se bombeó a través de los cartuchos de fibra hueca a una velocidad de 800 - 1000 kg / h. El material retenido se recicló de nuevo al tanque de alimentación y el permeato se recogió en otro tanque. La unidad de UF se accionó a una presión de entrada de 25 psi y una retropresión máxima del material retenido de 15 psi. La tasa de flujo o velocidad del permeado fue de aproximadamente 120 kg / h inicialmente y disminuyó gradualmente a aproximadamente 70 kg / h y se estabilizó a ese nivel durante un período de tiempo antes de disminuir aún más. Periódicamente, se realizó retrolavado para aumentar la tasa de flujo. El proceso de ultrafiltración continuó hasta que la cantidad de solución de proteína en el tanque de alimentación era igual a aproximadamente 15 % de su peso inicial.

Se añadieron aproximadamente 60 kg de agua en el tanque de alimentación y la diafiltración se llevó a cabo a temperatura ambiente usando la misma unidad de UF equipada con los mismos tres cartuchos de fibra hueca. El volumen original de la solución de proteína en el tanque de alimentación se mantiene constante mediante la adición de agua para compensar el permeado eliminado. El material retenido se recicló de nuevo al tanque de alimentación. La cantidad de agua añadida para mantener el volumen original de solución proteica fue de aproximadamente 2,8 veces el volumen original de la solución de proteína de 560 kg.

Se obtuvieron aproximadamente 311 kg del extracto de proteína purificada a partir del proceso de ultrafiltración y diafiltración. El extracto de proteína purificada se calentó a 40 ± 10 °C utilizando un intercambiador de calor antes de introducirse en un secador por pulverización Komline Sanderson® (Komline Sanderson® Ltd. , Brampton, Ontario, Canadá) por bombeo a una velocidad de alimentación de 150 a 165 kg por hora. La operación de secado por pulverización se llevó a cabo a una temperatura del aire de entrada de 185 ± 5 °C y una temperatura del aire de salida de 85 ± 5 °C. Un diagrama de flujo esquemático que ilustra la preparación de un aislado de proteína de canola se muestra en la Figura 14.

Ejemplo 3 (c) -Preparación de concentrados de proteína hidrolizada (comparativo)

Aproximadamente 91,3 kg de la segunda fracción sólida de proteína y 21,9 kg de la tercera fracción sólida de proteína (obtenidas del Ejemplo 5 (b)) se añadieron a 260 kg de agua en un tanque, lo que tiene como resultado una suspensión de alrededor de 5 % de sólidos en un tanque de superficie raspado de 2000 l. A esto le siguió el ajuste del pH a $8,3 \pm 0,1$ usando solución de NaOH al 8 %. Se añadieron aproximadamente 200 g de una primera proteasa (Alcalase® 2. 4L FG) a la suspensión. A continuación, la suspensión se calentó a 60 ± 2 °C y se mantuvo a esa temperatura durante 4 horas. La suspensión se enfrió a 50 ± 2 °C y se añadieron 200 g de una segunda proteasa (Flavourzyme®) a la suspensión, seguido de mantenimiento a 50 ± 2 °C durante 4 horas. La suspensión se centrifugó utilizando el Westfalia® Decanter a 3300 x g para separar el extracto de proteína hidrolizada de la fracción de fibra insoluble. La fibra insoluble se lavó adicionalmente con 100 kg de agua corriente filtrada, seguido de nuevo por centrifugación a 3300 x g para separar el extracto de proteína lavada de los sólidos de fibra lavada utilizando el Westfalia® Decanter. Una muestra del extracto de proteína lavada se tomó para analizar el contenido de proteínas.

Los concentrados de proteína hidrolizada también se produjeron a partir de la suspensión de proteína combinada después de la eliminación de la fibra usando el Decanter Bird (Ejemplo 5a (i) - (v)). Aproximadamente 7,48 kg de la suspensión de proteína que contiene proteínas solubles e insolubles se ajustó desde pH 8,3 a pH 7,0 mediante la adición de ácido fosfórico al 25 %. Después de ajuste del pH, la suspensión de proteína se centrifugó a 4000 RPM para separar el extracto de proteína soluble de los sólidos insolubles. Aproximadamente 1,15 kg de sólidos insolubles se mezclaron con 3,4 kg de agua, seguido de centrifugación a 4000 RPM para separar el primer extracto de lavado de la primera fracción de sólidos lavada. Aproximadamente 1,07 kg de los primeros sólidos lavados se mezclaron con 3,4 kg de agua. A esto le siguió centrifugación a temperatura ambiente a 4. 000 rpm para separar el segundo extracto de lavado de la segunda fracción de sólidos lavados.

Aproximadamente 1,07 kg de la segunda fracción de sólidos lavados se mezclaron con 2,2 kg de agua para obtener una suspensión, que fue seguida por ajuste del pH a 8,2 con la adición de solución 1 M de NaOH. Se añadieron aproximadamente 1,16 g de una primera proteinasa (Alcalase® 2. 4L FG) a la suspensión. La suspensión se calentó a aproximadamente 62 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 4 horas. La suspensión se enfrió a aproximadamente 50 °C y se añadieron 1,16 g de una segunda proteinasa (Flavourzyme®) a la suspensión, seguido de mantenimiento a 50 °C durante 4 horas. Finalmente, la suspensión se centrifugó a 4000 rpm durante 10 minutos para separar el extracto de proteína hidrolizada de la fracción de fibra insoluble. El extracto de proteína hidrolizada se secó por pulverización en concentrado de proteína hidrolizada usando un secador de pulverización de laboratorio. Un diagrama de flujo esquemático que ilustra la preparación de extracto de proteína hidrolizada se muestra en las Figuras 14 y 15.

Discusión

Los resultados del análisis aproximado de las semillas de canola, la torta prensada, la harina desgrasada, la harina enriquecida con proteínas, la harina enriquecida con fibra, el concentrado de proteína, el concentrado de proteína hidrolizada y el aislado de proteína se muestran en la Tabla 26.

Como se muestra en la Tabla 5, la separación en seco por molturación utilizando un molino de discos y cribado vibratorio usando un tamiz de malla nº 45 de Estados Unidos aumentó el contenido de proteína de 47 % en la harina extraída a 52 % en la harina enriquecida con proteínas basado en el peso en seco. El contenido de fibra se redujo de 7,75 % en la harina extraída a 5,53 % en la harina enriquecida con proteínas por separación en seco. La separación en húmedo para eliminar la fibra usando el Decanter Bird y para eliminar los compuestos de azúcar mediante el proceso de extracción con etanol aumentó aún más el contenido de proteína de 52 % en la harina enriquecida con proteína a 70,6 % en el concentrado de proteína. El contenido de fibra se redujo de 5,53 % en la harina enriquecida con proteína a 4,88 % en el concentrado de proteína mediante separación húmeda mediante el Bird Decanter.

Como se muestra en la Tabla 6, la separación en húmedo para eliminar la fibra con el Bird Decanter disminuyó el contenido de fibra bruta de 5,53 % en la harina enriquecida con proteína (véase la Tabla 5) a 3,20 % en la suspensión de proteína (véase la Tabla 6) después de la primera eliminación de fibras.. La fracción de fibra después de la primera separación de fibras contenía aproximadamente 10,2 % de fibra bruta. La fracción de fibra se lavó con agua en una proporción de 1 a 1 en peso, seguido de centrifugación usando el Bird Decanter para separar la fracción de fibra lavada de la suspensión de proteína de lavado. La fracción de fibra lavada contenía 12,7 % de fibra bruta. La etapa de lavado de la fibra fue capaz de aumentar el contenido de fibra bruta en la fracción de fibra de 10,2 % a 12,7 % sobre la base en peso en seco. Más importante aún, la etapa de lavado redujo significativamente el peso de la fracción de fibra de 161,9 kg a 74,2 kg o aproximadamente el 54 % y por lo tanto aumenta el rendimiento de recuperación de proteína en el concentrado de proteína final. La fracción de fibra lavada contenía 11,34 kg de sólidos secos totales (74,2 kg x 15,33 % de sólidos = 11,34 kg) o 16,91 % de proteína a partir de harina enriquecida en una base de peso en seco.

Después de la separación por cribado en seco, la harina de enriquecida con proteínas producida por este proceso todavía contenía un alto contenido de fibra bruta de 5,53 % basado en el peso en seco (véase la Tabla 5). Se empleó un proceso de separación en húmedo para separar y eliminar la fibra a partir del extracto de proteína soluble y las partículas de proteína insolubles que aprovechan la diferencia de tamaño y densidad de partícula entre las partículas de fibra y de proteínas insolubles.

Se realizaron varias pruebas de de espín descendente con una muestra de suspensión de proteína de 10,4 % de sólidos en un tubo de centrífuga en el laboratorio utilizando una centrífuga de laboratorio, en el tubo se obtuvieron tres capas de la capa superior líquida, la capa media de partículas de proteína y la capa de fibras inferior. Las partículas de fibra se asentaron más rápido que las partículas de proteína insolubles pequeñas. La velocidad de sedimentación era dependiente de la fuerza g, cuanto mayor era la fuerza g, mayor era la velocidad de sedimentación. Si la centrífuga decantadora se acciona a una velocidad del recipiente lleno de 5.000 rpm o 3.000 de fuerza g, las partículas tanto de fibra como proteínas insolubles sedimentarían y se separarían del extracto líquido y serían eliminadas por el decantador como sólidos insolubles combinados. Si el decantador se acciona a una velocidad del recipiente inferior a 1.500 rpm o a una fuerza g baja de 750 g, las partículas de fibra grandes sedimentan, pero las partículas de proteína finas aún no han tenido tiempo suficiente para sedimentar, por lo tanto, las partículas de fibra se pueden separar de las partículas de proteína insolubles y el extracto de proteína. La separación de la fibra de las partículas de proteína se debe principalmente a la diferencia de densidad entre las partículas de fibra y las proteína insolubles. Un diagrama de flujo esquemático para el proceso de eliminación de fibras se ilustra en la Figura 16.

La harina enriquecida con proteínas se mezcló con agua en una proporción de 1 a 8 en peso y el pH se ajustó a 8,9. Después de 1 hora de tiempo de espera en agitación a temperatura ambiente, la suspensión de proteína se centrifugó a una velocidad del recipiente baja de 1500 RPM (~ 750 fuerza g) con el Bird Decanter. Las partículas de fibra más grandes con mayor densidad se separaron de las partículas de proteína insolubles más pequeñas con menor densidad, así como la solución de proteínas solubles. La fracción de fibra se lavó con agua en una proporción de 1 a 1, seguido de centrifugación a 1500 RPM usando el Bird Decanter para separar las partículas de fibra grandes con mayor densidad de las partículas de proteínas insolubles más pequeñas con menor densidad, así como del extracto de proteínas. En una realización, la eficiencia de una separación de fibras en húmedo se ve afectada por la viscosidad y la densidad del medio líquido. El extracto de proteína soluble se cicla y se reutiliza para aumentar el contenido de sólidos solubles con el fin de aumentar la densidad y la viscosidad del medio líquido. Esto también ayuda a reducir el volumen de consumo de agua.

Los resultados de los perfiles de aminoácidos para los concentrados y aislados de proteína de canola basado en el peso en seco se muestran en la Tabla 7. Además, una comparación de perfiles de aminoácidos para el concentrado de proteína de canola, aislado de proteína de canola y aislados de proteína de soja y de gusante disponibles comercialmente y se muestra en las Tablas 8 y 9.

A partir de los perfiles de aminoácidos como se muestran en las Tablas 7, 8 y 9, la proteína de canola se compara favorablemente con la de la proteína de soja o la proteína de guisante. La proteína de canola es de alta calidad nutricional y es capaz de proporcionar cantidades adecuadas de todos los aminoácidos esenciales. La proteína de canola contiene niveles mucho más altos de aminoácidos que contienen azufre, tales como metionina y cistina, que las proteínas de soja y de guisante. La proteína de canola contiene 48 a 72 % más de metionina que la proteína de soja y 70 a 97 % más de metionina que la proteína de guisante. Por lo general, los cereales tienden a tener niveles bajos de lisina pero adecuados del aminoácido que contiene azufre metionina. Las legumbres tienen niveles adecuados de lisina pero bajos de metionina. La proteína de canola es la única que contiene niveles adecuados tanto de lisina como del aminoácido que contiene azufre metionina. Por lo tanto, exhibe un equilibrio de aminoácidos mejor que las proteínas de cereales y las proteínas de leguminosas (tales como la proteína de guisante y la proteína de soja). La proteína de canola tiene una excelente calidad nutricional y se puede utilizar en aplicaciones tales como leche para lactantes y los alimentos necesarios para una buena nutrición.

A partir de los perfiles de aminoácidos esenciales, como se muestra en la Tabla 9, la proteína de canola es muy rica en los aminoácidos esenciales para construir músculo tales como valina, metionina, leucina e isoleucina. También

contiene un contenido mucho más alto del aminoácido esencial treonina, que es importante para la actividad cerebral. El concentrado y el aislado de proteína de canola pueden ser ingredientes adecuados para suplementos nutricionales para deportistas.

5 Con respecto al peso molecular y la caracterización del concentrado de la proteína de canola, el concentrado obtenido en el Ejemplo 5 (a) contenía tres subunidades principales que se enumeran a continuación:

(a) 10.000 - 12.000 dalton de peso molecular

(b) 15.000 - 20.000 dalton de peso molecular

10 (c) 25.000 - 37.000 dalton de peso molecular

Los resultados obtenidos utilizando una técnica de cromatografía de permeación en gel muestran que el aislado de proteína de canola contiene 64,7 % de las proteínas de peso molecular de 70 kDa, 26,2 % de 12 kDa y 9,1 % de <10 kDa.

15 Con respecto a las propiedades funcionales del aislado de la proteína de canola, las propiedades emulsionantes y espumantes del aislado de la proteína de canola (obtenido en el Ejemplo 5 (b)) en comparación con los aislados de la proteína de soja y de la proteína de guisante se muestran en la Tabla 10. Como se ve en la Tabla 10, el aislado de proteína de canola de la presente divulgación tiene mucho mejor capacidad de formación de espuma que los
20 aislados de proteína de soja y de proteína de guisante a pH 7,0 y una concentración de proteína de 0,5 %. A pH 7 y a una concentración de 1,0 %, el aislado de la proteína de canola tiene ligeramente menor capacidad de formación de espuma que el aislado de proteína de soja, pero mucha mayor capacidad de formación de espuma que el aislado de proteína de guisante. El aislado de proteína de canola tiene una mejor estabilidad de la espuma que el aislado de la proteína de soja y de la proteína de guisante. Además, el aislado de proteína de canola tiene propiedades
25 emulsionantes similares en comparación con los aislados de proteína de soja y de proteína de guisante a pH 7 y las concentraciones de 0,5 % y 1,0 %, y también tiene una estabilidad de la emulsión similar a pH 7 y las concentraciones de 0,5 % y 1,0 %.

30 La capacidad de formación de espuma de una proteína se caracteriza por batir la proteína disuelta en 0,5 % de contenido de proteína con un espumador de leche (Aeroflott™) a 20 °C durante 1 minuto. La altura de la espuma se determinó en un cilindro graduado de 100 ml durante 1 hora. Además, la solución de proteína a 0,5 % de proteína se calentó a 60 °C durante 15 minutos y después se enfrió a 20 °C antes de la prueba de espuma.

35 La capacidad emulsionante de una proteína se define como la cantidad máxima de aceite que se puede emulsionar con una cantidad definida de proteína formando una emulsión estable. Cuanto mayor sea la capacidad emulsionante, mayor será la eficacia de la sustancia proteica. La capacidad emulsionante se mide mediante el uso de las siguientes condiciones emulsionantes:

(1) medición de la temperatura a 20 °C

40 (2) concentración de proteínas al 0,5 %

(3) adición gradual de aceite vegetal coloreado (punto de partida al 50 %)

(4) emulsificación utilizando Ultra-Turrax (13.000 min⁻¹;60 s)

(5) Evaluación de la separación de aceite 30 minutos después de la emulsificación.

45 Como se muestra en la Tabla 11, los resultados emulsionantes de una solución de aislado de proteína de canola de 0,5 % fueron muy buenos en comparación con una solución de yema de huevo al 5 %. Además, como se describe en la Tabla 12, el aislado de proteína de canola posee la propiedad funcional de la formación de gel y de inmovilización en agua, y por lo tanto, actuaría como un estabilizador. Los resultados de la firmeza del gel del
50 aislado de la proteína de canola son buenos y comparables con los de otras proteínas vegetales. Los resultados de inmovilización en agua de los geles del aislado de proteína de canola son buenos en comparación con los de los geles de la proteína de suero, que es un parámetro importante para la estabilidad y la vida útil de un producto final que contiene aislado de proteína de canola.

55 Debido a sus propiedades emulsionantes y espumantes, en una realización, el aislado de proteína de canola es una proteína adecuada e ingrediente funcional en aplicaciones de alimentos que requieren buenas propiedades emulsionantes y la capacidad de formación de espuma y estabilidad, como en pasteles, decoraciones para café, y bebidas de café de especialidad, cremas, aderezos y pastas. En otra realización, el aislado de proteína de canola se utiliza para productos de lavandería y cosméticos que requieren buena capacidad de formación de espuma y estabilidad, tal como en los detergentes para ropa, jabones de baño, champús acondicionadores, y crema de manos
60 y limpiadores de la piel. En una realización adicional, el aislado de proteína de canola se utiliza para sopas, aderezos para ensaladas, salchichas, mortadela y otros productos cárnicos emulsionados y triturados que requieren buena capacidad emulsionante.

65 Como se ve en la Tabla 12, se muestra la solubilidad del aislado de la proteína de canola, además de la solubilidad para los aislados de la proteína de guisante y de soja. Los resultados muestran que 99,81 % del aislado de la proteína de canola bruta es soluble. Los resultados de las pruebas demuestran que el aislado de proteína de canola

de la presente divulgación tiene 99,81 % de proteína bruta soluble en comparación con la proteína bruta soluble 25,21 % y 18,85 % para proteína de soja y guisante aislada, respectivamente. Por consiguiente, en una realización, el aislado de proteína de canola es un ingrediente de proteína adecuado para bebidas nutricionales como proteínas bebidas fortificadas suaves, zumos de frutas, bebidas deportivas y bebidas con alto contenido de proteínas. En otra realización, también es útil para aplicaciones de alimentos saludables para mejorar la absorción y la digestibilidad.

Como se muestra en la Tabla 13, se ilustran las concentraciones de factores antinutricionales en el aislado de la proteína de canola obtenido en el Ejemplo 2 (b). En consecuencia, el aislado de proteína de canola contiene niveles muy bajos de glucosinolatos totales, ácido fítico e isotiocianato de alilo.

Los resultados de los glucosinolatos en la semilla de canola, la torta prensada de canola, la harina desgrasada, las harinas enriquecidas de proteína y fibra, los concentrados y aislados de proteínas se muestran en la Tabla 14. El contenido de glucosinolatos totales alifáticos en semillas, torta prensada, harina extraída, y harinas enriquecidas en fibra y proteínas es alta y, al mismo nivel sobre una base libre de aceite. La separación por cribado en seco para separar la harina extraída en las harinas enriquecidas en fibra y proteínas no alteró la concentración del total de glucosinolatos alifáticos significativamente. El procesamiento de separación en húmedo reduce el total de glucosinolatos alifáticos dramáticamente de 17,31 micromoles / g en la harina enriquecida con proteínas a 0,11 mol / g en el concentrado de proteína de canola, 0,23 mol / g en el concentrado de proteína hidrolizada y de 0,17 a 0,41 mol / g en el aislado de proteína.

En consecuencia, sobre la base de las propiedades anteriormente descritas de los concentrados y aislados de la proteína de canola, los concentrados y aislados tienen:

(a) Excelente valor nutricional y el único producto de proteína vegetal con alto contenido de lisina y metionina. Por ejemplo, los aislados de proteína de la presente divulgación tendrán normalmente más de 4,5 % de lisina en peso y 2,0 % de metionina en peso del aislado como un todo. Además, los concentrados de proteínas de la presente divulgación tendrán normalmente más de 5,4 % de lisina en peso y de 1,9 % de metionina en peso del concentrado como un todo;

(b) Etiquetado atractivo, libre de transgénicos y sin alergias alimentarias;

(c) Nada de grasa o niveles muy bajos. Normalmente, los aislados de proteína de la presente divulgación tendrán menos de 0,2 % de grasa en peso del aislado de proteína como un todo, mientras que los concentrados de proteínas tendrán normalmente menos de 0,5 % de grasa en peso del concentrado de proteína como un todo;

(d) Origen de proteínas vegetales y productos ecológicos;

(e) Sin gluten;

(f) Bajos contenidos de sal y de azúcar. Normalmente, los aislados de proteína de la presente divulgación tendrán menos de 0,5 % de azúcar en peso y menos de 0,5 % de sal en peso del aislado de la proteína como un todo. Además, los concentrados de proteína de la presente divulgación tendrán menos de 0,5 % de azúcar en peso y aproximadamente 0 % de sal en peso del aislado de la proteína como un todo.

Ejemplo 3 profético- Concentrado de proteína de ≥ 80 % de proteínas y aislado de proteína de ≥ 90 % de proteínas

Eliminación de fibra mediante cribado y centrifugación

1.000 kg de semillas de canola en 7-10 % de humedad se acondicionan a 80 ± 5 °C durante 30 ± 10 minutos en una estufa de apilación, seguido de prensado utilizando una mini prensa DeSmet. Se producen aproximadamente 800 kg de la torta prensada y 200 kg de aceite prensado. La torta prensada tiene un IDP (índice de dispersabilidad de proteínas) de 30-35. La torta prensada se extrae con hexano a 55-60 °C durante 1 hora usando un extractor contracorriente Crown en una proporción entre el hexano y la torta de 2 a 1 en peso. De la harina extraída se eliminan los disolventes y se seca a 50 °C durante 5 horas al vacío utilizando un secador de Littleford® a un residuo de disolvente de menos de 500 ppm. Se producen aproximadamente 520 kg de harina extraída.

La harina extraída se muele en un molino de disco a una distancia de , cm; la harina molida se tamiza a través de un tamiz de malla n° 45 de EE.UU. utilizando un tamiz vibratorio rotatorio. Se producen aproximadamente 220 kg de harina enriquecida con proteínas y 300 kg de fibra enriquecida harina.

Aproximadamente 220 kg de harina enriquecida con proteínas se mezcla con 2.200 kg de agua con buena agitación. La suspensión de proteína se tamiza a través de un tamiz de malla n° 40 de EE.UU. a temperatura ambiente para eliminar algo de fibra. La suspensión se ajusta a un pH de 7, seguido de molidura en húmedo a través de un molino húmedo (Szego Mill) a temperatura ambiente. La suspensión se centrifuga usando un decantador (Bird Decanter) a temperatura ambiente para separar el resto de la fibra de las proteínas solubles e insolubles a una velocidad del recipiente de 1.500 rpm. La suspensión de proteínas solubles e insolubles se centrifuga de nuevo a temperatura ambiente para separar la solución de proteína soluble de los precipitados de proteína insoluble utilizando una centrífuga de discos (Westfalia® Desludger).

Los precipitados de proteína insoluble se lavan 2 veces a temperatura ambiente y los precipitados de la proteína lavada se separan del líquido de lavado utilizando una centrífuga de discos a temperatura ambiente. Los

precipitados de proteínas lavados se mezclan con 2 partes de agua y el pH de la suspensión se ajusta a pH 7 a temperatura ambiente. La suspensión de los precipitados de proteína se seca por pulverización usando un secador de pulverización a una temperatura de entrada de 190 °C y temperatura de salida de 85 °C a un concentrado de proteínas seco de proteínas 80-85 % basado en el peso en seco.

La solución de proteína soluble recuperada de las operaciones de centrifugación se calienta a 45-50 °C antes de su paso a través de membranas de cartucho de ultrafiltración de fibra hueca con un corte de peso molecular de 10.000 daltons. Los cartuchos de fibra hueca están equipados a una unidad de ultrafiltración Millipore®. El material retenido se recicló de nuevo al tanque de alimentación y el permeado se descarta. El proceso de ultrafiltración continúa hasta que la cantidad de solución de proteína en el tanque de alimentación era igual a 25 % de su peso inicial. Después de que se complete la ultrafiltración, la diafiltración se lleva a cabo a 45-50 °C utilizando la misma unidad de ultrafiltración que está equipada con los mismos cartuchos de fibra hueca. El volumen original de la solución de proteína en el tanque de alimentación se mantiene constante mediante la adición de agua para compensar el permeado eliminado. El material retenido se recicla de nuevo al tanque de alimentación. La cantidad de agua recibida para mantener el volumen original de solución proteica es de 3 veces el volumen original de la solución de proteína. Finalmente, después de añadir toda el agua al tanque de alimentación, la solución de proteína purificada se ajustó a pH 7 antes de secar por pulverización en un aislado de proteína seca que contiene ≥ 90 % de proteína basado en el peso en seco utilizando un secador por pulverización. Las condiciones de secado por pulverización son las mismas que se usaron para el concentrado de proteína.

Ejemplo 4 profético- Concentrado de proteína de ≥ 80 % de proteínas y aislado de proteína de ≥ 90 % de proteínas

Hidrólisis de la fibra por la celulasa o el complejo de la celulasa

El proceso para la preparación de harina enriquecida con proteínas a partir de semillas de canola es el misma que el del Ejemplo 3 profético.

Aproximadamente 220 kg de harina enriquecida con proteínas se mezcla con 2.200 kg de agua con buena agitación. La suspensión de proteína se tamiza a través de un tamiz de malla nº 40 de EE.UU. a temperatura ambiente para eliminar algo de fibra, seguido de por molturación en húmedo de la suspensión de proteína a través de un molino húmedo (Szego Mill) a temperatura ambiente. La suspensión de proteínas se centrifuga a temperatura ambiente para separar la solución de proteína soluble de la proteína y los sólidos de fibra insolubles utilizando una centrifuga de discos (Westfalia® Desludger).

Los sólidos insolubles se mezclan con 3 partes de agua, seguido del ajuste del pH a $5 \pm 0,2$. Aproximadamente el 0,5 % de celulasa o complejo de celulasa basado en el peso de la harina enriquecida con proteínas de partida se añade a la suspensión de proteína. La suspensión se calienta a 55-60 °C y se mantiene a este intervalo de temperatura durante 4 horas. Después de la reacción enzimática, los sólidos de proteínas insolubles se lavan con agua para producir un concentrado de proteína de ≥ 80 % de proteína.

El proceso para producir el aislado de proteína de ≥ 90 % a partir de la solución de proteína soluble es el mismo que el del Ejemplo 3.

Tabla 1: Condiciones de tratamiento térmico

Tratamiento térmico	Temperatura (°C)	Tiempo de residencia
1	75	15 segundos
2	80	15 segundos
3	85	15 segundos
4	85	15 segundos
5	85	15 segundos
6	90	15 segundos
Control	95	30 minutos

Tabla 2: Condiciones de tratamiento térmico

Tratamiento térmico	Temperatura (°C)	Tiempo (segundos)
1	100	15
2	105	15
3	110	15
4	120	15
5	130	15

Tabla 3: Evaluación de los tratamientos térmicos en la calidad de la harina de canola desgrasada (*B. juncea*)

Condiciones de tratamiento térmico	Humedad de la harina desgrasada (%)	IDP de la harina desgrasada	Proteína de harina desgrasada (% como tal)	Aceite de harina desgrasada (% como tal)
75 °C durante 15 segundos	7,81	34,43	41,3	2,08
80 °C durante 15 segundos	7,30	34,17	43,2	1,54
85 °C durante 15 segundos	11,56	31,55	41,3	4,03
90 °C durante 15 segundos	7,54	31,98	43,0	1,29
95 °C durante 15 segundos	7,82	31,97	41,9	1,47
100 °C durante 15 segundos	7,50	30,33	40,2	1,74
105 °C durante 15 segundos	7,79	29,32	39,0	1,99
110 °C durante 15 segundos	7,67	27,82	37,7	1,64
120 °C durante 15 segundos	7,11	23,10	33,7	1,58
130 °C durante 15 segundos	7,19	18,20	28,6	1,66
Sin tratamiento térmico	10,37	31,92	39,2	5,31
Tratamiento térmico a 95 °C durante 0,5 horas	8,03	32,22	42,6	2,78

Tabla 4: Resultados analíticos de tortas prensadas de Canola (*B. juncea*)

Muestra	Humedad de la torta prensada (%)	Contenido de aceite de la torta prensada (%)
75 °C durante 15 segundos	11,4	26,2
80 °C durante 15 segundos	10,4	27,6
85 °C durante 15 segundos	10,2	24,4
90 °C durante 15 segundos	9,00	27,9
95 °C durante 15 segundos	9,46	26,9
100 °C durante 15 segundos	8,20	28,0
105 °C durante 15 segundos	7,60	22,7
110 °C durante 15 segundos	9,01	23,5
120 °C durante 15 segundos	8,60	37,7
130 °C durante 15 segundos	6,15	22,1
Sin tratamiento térmico	12,0	26,4
Tratamiento térmico a 95 °C durante 0,5 horas	12,1	24,6

5 **Tabla 5: Resultados del análisis aproximado para semilla de colza, torta prensada de semilla de canola, harina desgrasada, harina enriquecida con proteínas, harina enriquecida con fibra, concentrado de proteína de canola, concentrado de proteína de canola hidrolizada y aislado de proteína de canola**

Muestra	Humedad (%)	Proteína (% bps ^a)	Cenizas (% bps ^a)	Aceite (% bps ^a)	Fibra bruta (% bps ^a)
Semilla de canola	8,12	27,0	4,56	44,39	4,75
Torta prensada de semilla de canola	10,33	42,0	7,02	12,58	7,00
Harina desgrasada	6,86	47,0	8,12	1,38	7,75
Harina enriquecida con proteínas	6,71	52,0	8,34	0,84	5,53
Harina enriquecida con fibra	6,91	43,6	7,88	1,29	9,00
Concentrado de proteínas	6,14	70,6	10,5	0,11	4,88
Concentrado de proteína hidrolizada	6,44	88,8	5,98	0,24	0,00
Aislado de proteína	3,90	92,8	3,54	0,04	0,00

^a bps = sobre la base de peso en seco

Tabla 6: Resultados del análisis aproximado de muestras para la producción de concentrado de proteína que tiene aproximadamente 70 % de proteína

Muestra	Sólidos (%)	Humedad (%)	Proteína (% bps)	Cenizas (% bps)	Aceite (% bps)	Fibra bruta (% bps)
Bird Decanter – Fibra de canola, 1er pase	15,42	4,19	47,5	8,42	0,66	10,2
Bird Decanter – Fibra de canola lavada, 2º pase	15,33	4,81	45,4		0,69	12,7
Bird Decanter - Suspensión de proteína después de la eliminación de la fibra	8,26	10,3	52,4	10,16	0,06	3,20
Bird Decanter - Suspensión de proteína después de la eliminación de la fibra, 2º pase	4,80	7,37	49,6	9,61	0,42	6,52
Westfalia decanter – Sólidos de proteína nº1	19,54	7,35	52,6	10,81	0,21	6,89
Westfalia decanter – Extracto de proteína nº1	3,75	-	-	7,29	-	-
Westfalia decanter – Sólidos de proteína nº2	15,74	6,59	48,4	11,49	0,14	9,92
Westfalia decanter – Extracto de proteína nº2	1,65	-	-	-	-	-
Centrífuga de discos- Sólidos de proteína	15,72	-	-	-	-	-
Centrífuga de discos- Extracto de proteína clarificada	2,61	-	-	-	-	-
Permeado-ultrafiltración	1,14	-	-	-	-	-
Permeado-Diafiltración	0,19					
Material proteico retenido ultrafiltración (UF)	13,17	6,90	90,4	2,14	0,12	0,00
Material proteico retenido Diafiltración (DF)	3,40	1,34	92,4	2,65	0,01	0,03
Solución de aislado proteico- UF y DF	5,50	-	-	-	-	-
Westfalia decanter – Extracto de proteína hidrolizada 1	2,27	-	75,0	-	-	-
Westfalia decanter – Sólidos de fibra de canola nº1	12,98	5,89	27,8	18,1	2,53	14,5
Westfalia decanter – Extracto de proteína hidrolizada 2	1,12	-	58,5	-	-	-
Westfalia decanter – Sólidos de fibra de canola 2ª centrífuga	11,74	5,84	19,6	18,8	2,28	21,4

Tabla 7: Perfiles de aminoácidos del concentrado de proteína, concentrado de proteína hidrolizada y aislado de proteína basado en el peso en seco

Aminoácido	Concentrado de proteína	Concentrado de proteína hidrolizada	Aislado de proteína
Ácido aspártico (% bps ^a)	4,84	7,05	7,91
Ácido glutámico (% bps ^a)	12,25	15,71	17,48
Serina (% bps ^a)	3,61	4,63	4,45
Glicina (% bps ^a)	3,82	4,58	5,13
Histidina (% bps ^a)	1,71	2,20	2,19
Arginina (% bps ^a)	5,79	7,41	6,92
Treonina (% bps ^a)	3,18	4,35	3,74
Alanina (% bps ^a)	3,48	4,90	4,56
Prolina (% bps ^a)	4,07	5,70	5,22
Tirosina (% bps ^a)	2,77	5,10	3,28
Valina (% bps ^a)	3,79	4,77	4,95
Metionina (% bps ^a)	1,40	1,75	2,02
Cistina (% bps ^a)	1,17	1,46	1,55
Isoleucina (% bps ^a)	3,18	4,75	4,06
Leucina (% bps ^a)	5,76	6,38	7,36

Fenilalanina (% bps)	3,34	3,62	4,23
Lisina (% bps ^a)	3,77	5,55	4,10
Triptófano (% bps ^a)	1,02	1,09	1,38
Aminoácidos totales (% bps ^a)	68,95	91,00	90,53
^a bps = sobre la base de peso en seco			

Tabla 8: Perfiles de aminoácidos de concentrado de proteína de canola, concentrado de proteína de canola hidrolizada, aislado de proteína de canola, aislado de proteína de soja y aislado de proteína de guisante sobre una base normalizada de proteína pura

Aminoácido	Concentrado de proteína de canola	Concentrado de proteína de canola hidrolizada	Aislado de proteína de canola	Aislado de proteína de soja	Aislado de proteína de guisante
Ácido aspártico (%)	7,02	7,75	8,74	11,5	11,78
Ácido glutámico (%)	17,77	17,26	19,31	19,0	19,13
Serina (%)	5,24	5,09	4,92	5,2	5,28
Glicina (%)	5,54	5,03	5,67	4,1	3,86
Histidina ^a (%)	2,48	2,42	2,42	2,6	2,55
Arginina (%)	8,40	8,14	7,64	7,5	8,58
Treonina ^a (%)	4,61	4,78	4,13	3,8	3,68
Alanina (%)	5,05	5,39	5,04	4,2	4,15
Prolina (%)	5,90	6,26	5,77	5,1	4,15
Tirosina (%)	4,02	5,60	3,62	3,8	3,68
Valina ^a (%)	5,50	5,24	5,47	5,0	4,90
Metionina ^a (%)	2,03	1,92	2,23	1,3	1,13
Cistina (%)	1,70	1,60	1,71	1,3	1,04
Isoleucina ^a (%)	4,61	5,22	4,49	4,8	4,43
Leucina ^a (%)	8,35	7,01	8,13	8,1	8,20
Fenilalanina ^a (%)	4,84	3,98	4,67	5,2	5,29
Lisina ^a (%)	5,47	6,10	4,53	6,2	7,26
Triptófano ^a (%)	1,49	1,20	1,52	1,3	0,94
Aminoácidos totales (%)	100	100	100	100	100
^a Nueve aminoácidos esenciales.					

5

Tabla 9: Perfiles de los aminoácidos esenciales del concentrado de proteína de canola, concentrado de proteína de canola hidrolizada, aislado de proteína de canola, aislado de proteína de soja y aislado de proteína de guisante y sus funciones en la nutrición humana

Aminoácido	Concentrado de proteína de canola	Concentrado de proteína de canola hidrolizada	Aislado de proteína de canola	Aislado de proteína de soja	Aislado de proteína de guisante	Beneficios específicos e impacto en la nutrición humana
Histidina (%)	2,48	2,42	2,42	2,6	2,55	-
Treonina (%)	4,61	4,78	4,13	3,8	3,68	Actividad cerebral
Valina ^a (%)	5,50	5,24	5,47	5,0	4,90	Masa muscular
Metionina (%)	2,03	1,92	2,23	1,3	1,13	Construcción de músculo, antioxidante y desarrollo de anexos
Isoleucina (%)	4,61	5,22	4,49	4,8	4,43	Masa muscular
Leucina (%)	8,35	7,01	8,13	8,1	8,20	Masa muscular
Fenilalanina (%)	4,84	3,98	4,67	5,2	5,29	-
Lisina (%)	5,47	6,10	4,53	6,2	7,26	Crecimiento
Triptófano (%)	1,49	1,20	1,52	1,3	0,94	Ayuda para el sueño y antidepresión

10

Tabla 10: Propiedades funcionales del aislado de proteína de canola en comparación con los aislados de proteína de soja y de guisante

Muestra	Concentración del aislado de proteína (% p/p)	Capacidad emulsionante a pH 7 (%)	Estabilidad de la emulsión a pH 7 (%)	Capacidad de formación de espuma a pH 7 (%)	Estabilidad de la espuma pH 7 (%)
Aislado de proteína de canola	0,5	58	55	352	18,5
	1,0	66	60	389	26
Aislado de proteína de soja	0,5	59	57	108	4,9
	1,0	64	60	478	21
Aislado de proteína de guisante	0,5	57	52	24,4	7
	1,0	62	58	202	7

Tabla 11: Propiedades funcionales del aislado de la proteína de canola

Tabla 17. Propiedades funcionales del aislado de la proteína de canola			
Propiedad funcional	Resultados y comentarios		
Capacidad emulsionante	La capacidad emulsionante de la solución al 0,5 % de aislado de proteína de canola fue alta, comparable a la de 5 % de yema de huevo nativa.		
	Contenido de aceite de la emulsión	Emulsión de aislado de proteína de canola	
	50,0	Estable	
	60,0	Estable	
	70,0	Estable	
	72,5	Estable	
	75,0	Estable	
	77,5	Inestable	
Formación de espuma y estabilidad de la espuma	Las propiedades espumantes del aislado de proteína de canola fueron superiores en comparación con el aislado de la proteína de suero como se muestra en la Figura 17.		
	Tiempo (min)	Volumen de de espuma (ml)	Volumen de de espuma (ml)
		Batido a 20 °C durante 1 minuto	Calentado a 60 °C durante 15 minutos y después enfriada a 20 °C, finalmente batido a 20 °C durante 1 minuto
	0	80	75
	5	61	59
	10	60	58
	15	58	56
	30	53	50
	45	52	42
	60	50	38
Formación de gel y fuerza del gel	El aislado de la proteína de canola requirió una temperatura más alta para la formación de gel en comparación con el aislado de la proteína de suero de leche, como se muestra en las Figuras 18 y 19 La firmeza del gel del aislado de la proteína de canola fue comparable a la de los geles del aislado de la proteína de suero y del aislado de la proteína de soja a 5 % del contenido de proteína. Para el aislado de la proteína de canola, los geles con 7 % de contenido de proteína eran fuertes, los geles con 3 – 5 % de contenido poseían una resistencia media a escala y los geles con un 2 % de contenido de proteína eran muy débiles, como se muestra en la Figura 20.		
Inmovilización en agua	La inmovilización en agua de los geles del aislado de la proteína de canola fue ligeramente menor que la de los geles del aislado de la proteína de suero		

Tabla 12: Resultados de las pruebas de solubilidad en aislado de la proteína de canola, de guisante y de soja

	Solubilidad
Método de prueba	Tampón de borato-fosfato (12,20 g/l de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y 8,91 g/l de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)
	Concentración del 1 % pH 6,7 39 °C 1 hora
Solubilidad del aislado de proteína de canola (% p/p) (obtenido del Ejemplo 5 (b))	99,81
Solubilidad del aislado de proteína de guisante (% p/p)	18,85
Solubilidad del aislado de proteína de soja (% p/p)	25,21

Tabla 13: Factores antinutricionales del aislado de la proteína de canola

Factores antinutricionales	Contenido
Glucosinolato total	0,200 $\mu\text{mol/g}$
Ácido erúico	0,1 % de grasa total (1,7 % de grasa total)
Ácido fítico	< 0,05 %
Fítico unido a fósforo	< 0,01 %
Isotiocianato de alilo	< 0,02 %

5 **Tabla 14: Glucosinolatos en semilla de Juncea, harina extraída de torta prensada BioExx, harina enriquecida con proteínas, harina enriquecida con fibra, concentrado de proteína, concentrado de proteína hidrolizada y aislado de proteína**

Glucosinolatos	Semilla de Juncea	Torta prensada	Harina extraída de BioExx	Harina enriquecida con proteínas
Alilo ($\mu\text{moles/g}$)	0,12	0,21	0,25	0,26
3-butenilo ($\mu\text{moles/g}$)	6,69	10,34	12,23	14,71
4-pentenilo ($\mu\text{moles/g}$)	0,46	0,72	0,85	0,99
2-OH-3-butenilo ($\mu\text{moles/g}$)	0,76	1,18	1,40	1,58
CH3-tiobutenilo ($\mu\text{moles/g}$)	0	0,05	0,05	0,05
Feniletilo ($\mu\text{moles/g}$)	0,17	0,27	0,32	0,37
3-CH3-indolilo ($\mu\text{moles/g}$)	0,48	0,81	0,91	1,01
4-OH-3-CH3-indolilo ($\mu\text{moles/g}$)	2,11	2,95	3,56	4,20
Alifáticos totales ($\mu\text{moles/g}$)	7,92	12,26	14,51	17,31
Glucosinolatos	Harina enriquecida con fibra	Concentrado de proteína de canola	Concentrado de proteína hidrolizada	Aislado de proteína de canola
Alilo ($\mu\text{moles/g}$)	0,21	0	0	0
3-butenilo ($\mu\text{moles/g}$)	12,64	0,11	0,23	0,17 - 0,41
4-pentenilo ($\mu\text{moles/g}$)	0,86	0	0	0
2-OH-3-butenilo ($\mu\text{moles/g}$)	1,53	0	0	0
CH3-tiobutenilo ($\mu\text{moles/g}$)	0	0	0	0
Feniletilo ($\mu\text{moles/g}$)	0,33	0	0	0
3-CH3-indolilo ($\mu\text{moles/g}$)	0,91	0	0	0
4-OH-3-CH3-indolilo ($\mu\text{moles/g}$)	3,26	0	0	0
Alifáticos totales ($\mu\text{moles/g}$)	15,05	0,11	0,23	0,17 - 0,41

REIVINDICACIONES

1. Un aislado de proteína de canola o colza que tiene un contenido de proteínas de al menos el 90 % (p/p) que comprende

- i) una primera clase de proteínas que tienen un peso molecular de 60 kDa a 80 kDa, comprendiendo la primera clase de proteínas del 60 % al 90 % (p/p) del aislado;
- ii) una segunda clase de proteínas que tienen un peso molecular de 10 kDa a 30 kDa, comprendiendo la segunda clase de proteínas del 10 % al 30 % (p/p) del aislado; y
- iii) una tercera clase de proteínas que tienen un peso molecular de menos de aproximadamente 10 kDa, comprendiendo la tercera clase de proteínas del 2 % al 10 % (p/p) del aislado,

dicho aislado tiene una solubilidad de al menos el 95 % (p/p) y un contenido de fibra de menos del 1 %, en donde el peso molecular de las proteínas se obtiene usando cromatografía de permeación en gel y en donde la solubilidad del aislado se mide en una solución de tampón de borato-fosfato que tiene un pH de 6,5 a 7,5 y el aislado está a una concentración de aproximadamente el 1 % (p/p).

2. El aislado de proteína de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el aislado de proteína comprende

- i) una primera clase de proteínas que tienen un peso molecular de 60 kDa a 80 kDa, comprendiendo la primera clase de proteínas del 60 % al 70 % (p/p) del aislado;
- ii) una segunda clase de proteínas que tienen un peso molecular de 10 kDa a 30 kDa, comprendiendo la segunda clase de proteínas del 20 % al 30 % (p/p) del aislado; y
- iii) una tercera clase de proteínas que tienen un peso molecular de menos de aproximadamente 10 kDa, comprendiendo la tercera clase de proteínas del 5 % al 10 % (p/p) del aislado.

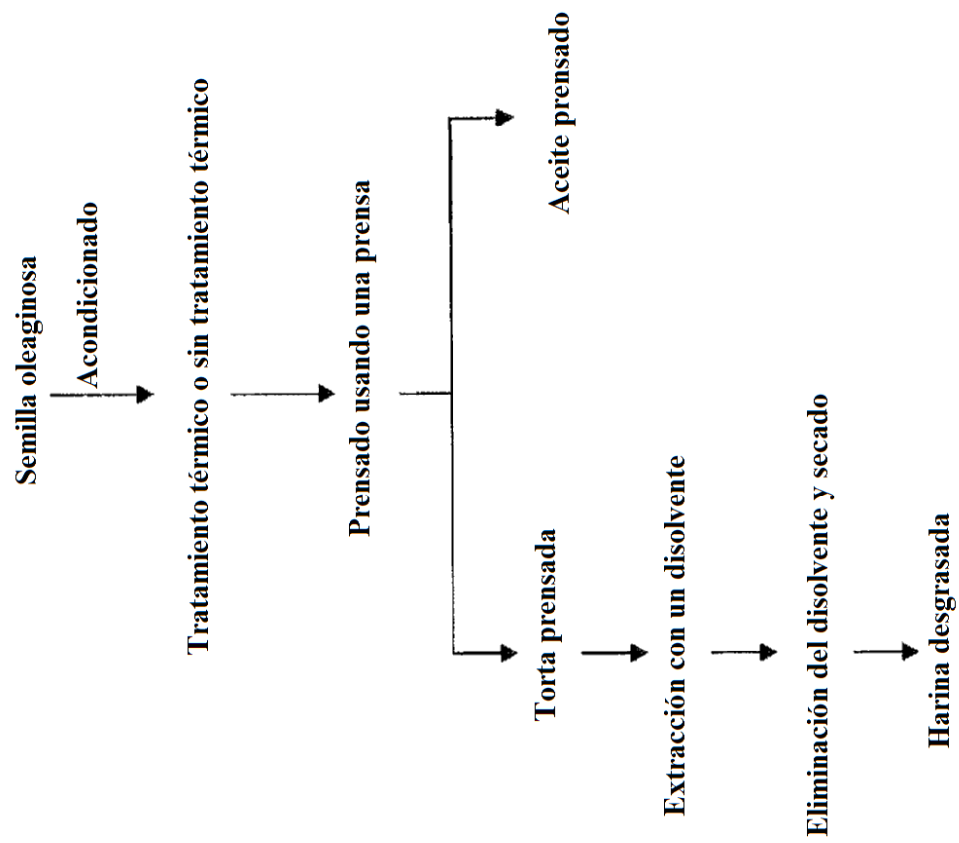
3. El aislado de proteína de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el aislado de proteína comprende

- i) una primera clase de proteínas que tienen un peso molecular de 65 kDa a 75 kDa, comprendiendo la primera clase de proteínas del 60 % al 90 % (p/p) del aislado;
- ii) una segunda clase de proteínas que tienen un peso molecular de 10 kDa a 20 kDa, comprendiendo la segunda clase de proteínas del 10 % al 30 % (p/p) del aislado; y
- iii) una tercera clase de proteínas que tienen un peso molecular de menos de aproximadamente 10 kDa, comprendiendo la tercera clase de proteínas del 2 % al 10 % (p/p) del aislado.

4. El aislado de proteína de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el aislado de proteína comprende

- i) una primera clase de proteínas que tienen un peso molecular de 65 kDa a 70 kDa, comprendiendo la primera clase de proteínas del 60 % al 70 % (p/p) del aislado;
- ii) una segunda clase de proteínas que tienen un peso molecular de 10 kDa a 20 kDa, comprendiendo la segunda clase de proteínas del 20 % al 30 % (p/p) del aislado; y
- iii) una tercera clase de proteínas que tienen un peso molecular de menos de aproximadamente 10 kDa, comprendiendo la tercera clase de proteínas del 5 % al 10 % (p/p) del aislado.

5. El aislado de proteína de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el aislado de proteína tiene un contenido de treonina de al menos aproximadamente el 4,1 % (p/p) y un contenido de valina de al menos aproximadamente el 5,1 % (p/p).

FIGURA 1

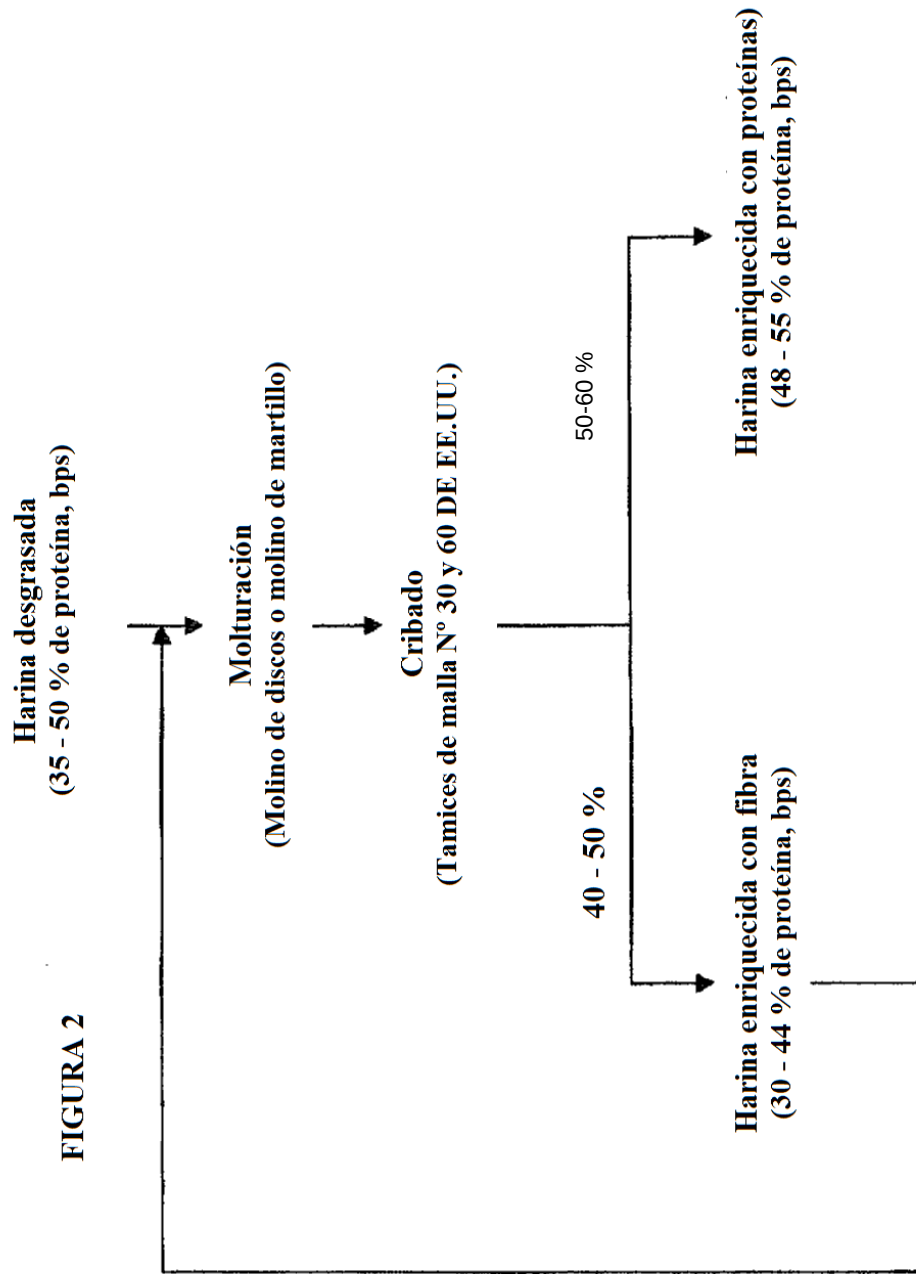
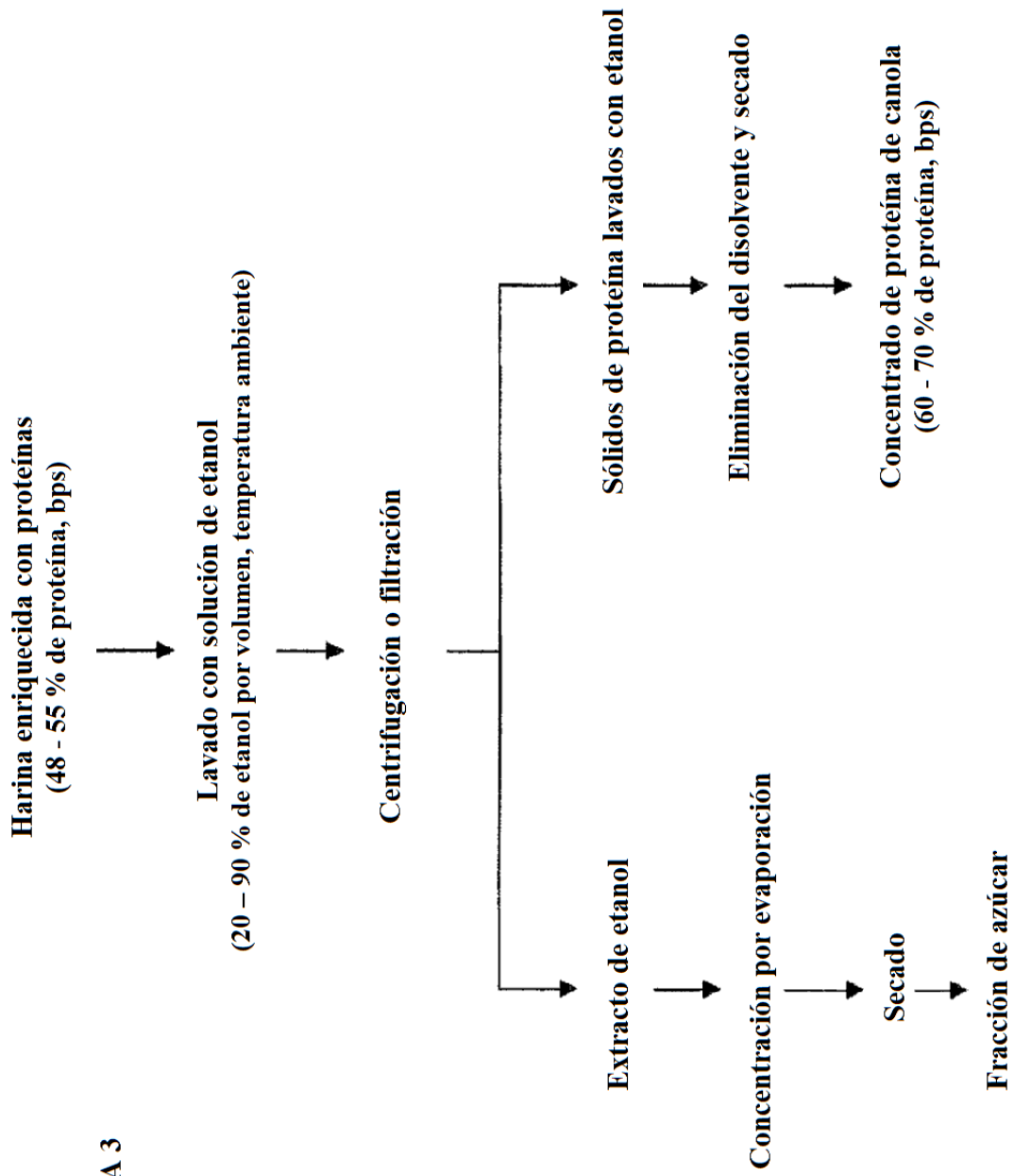


FIGURA 3



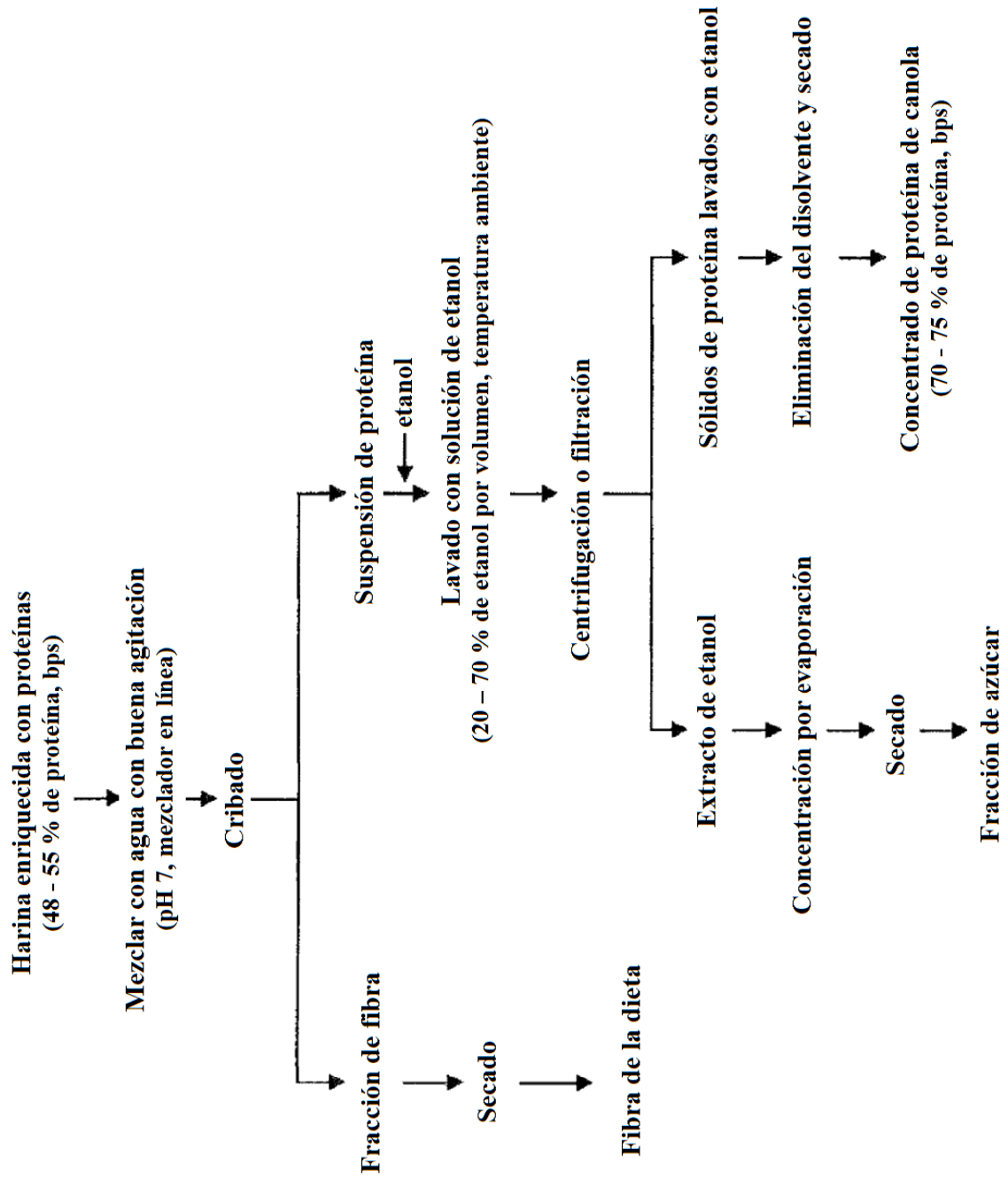
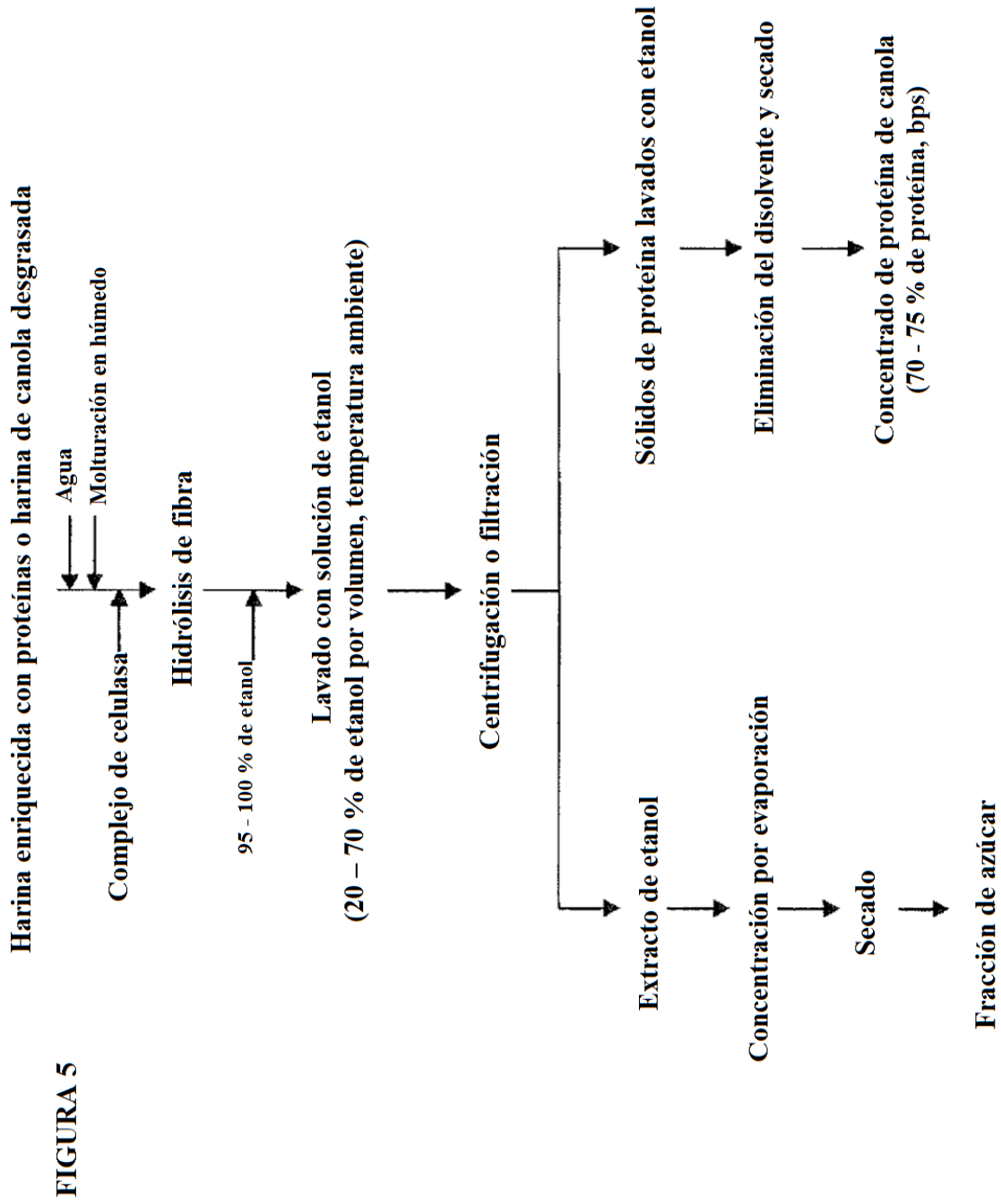


FIGURA 4



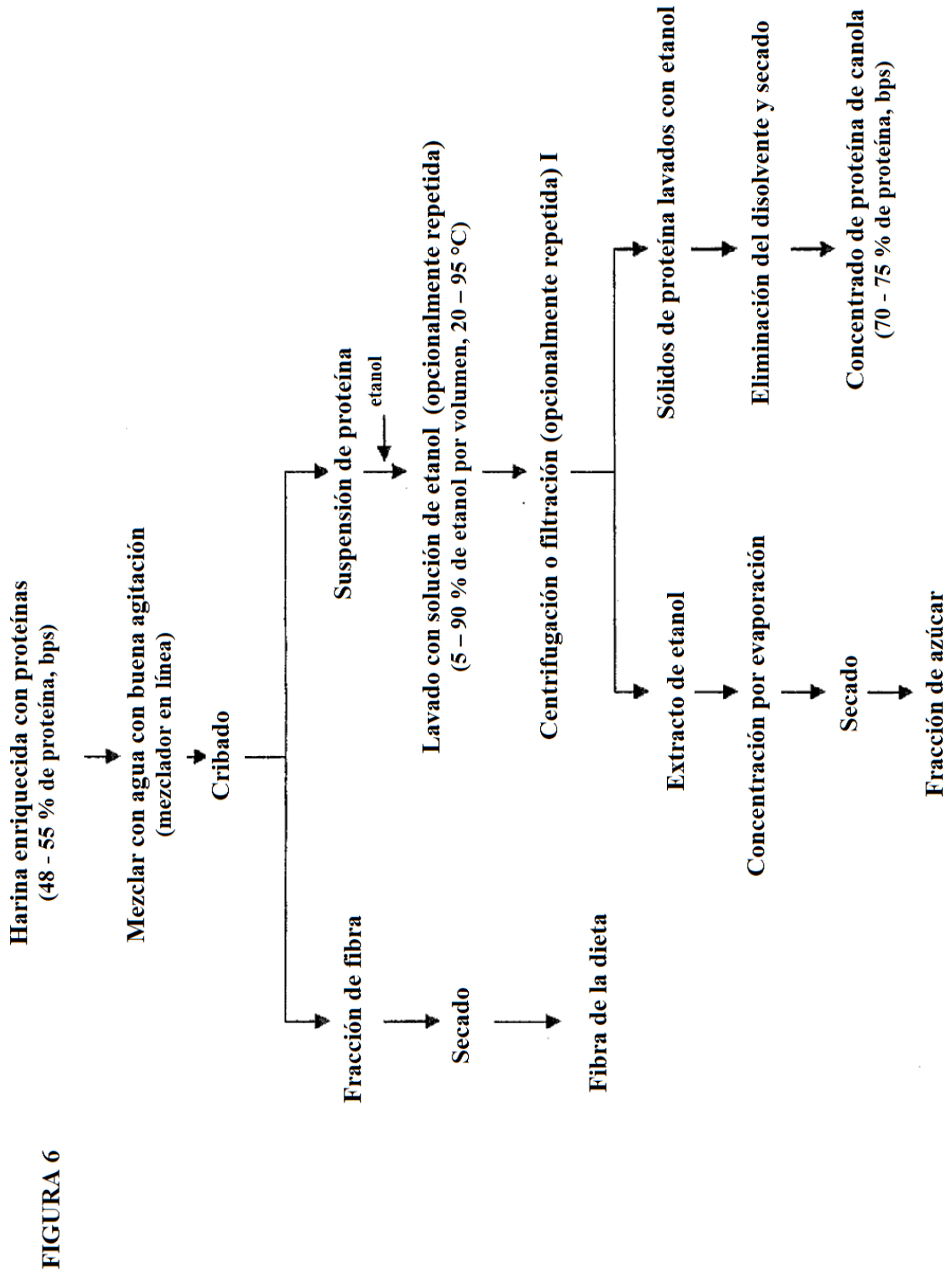


FIGURA 7
Harina enriquecida con proteínas o harina de canola desgrasada

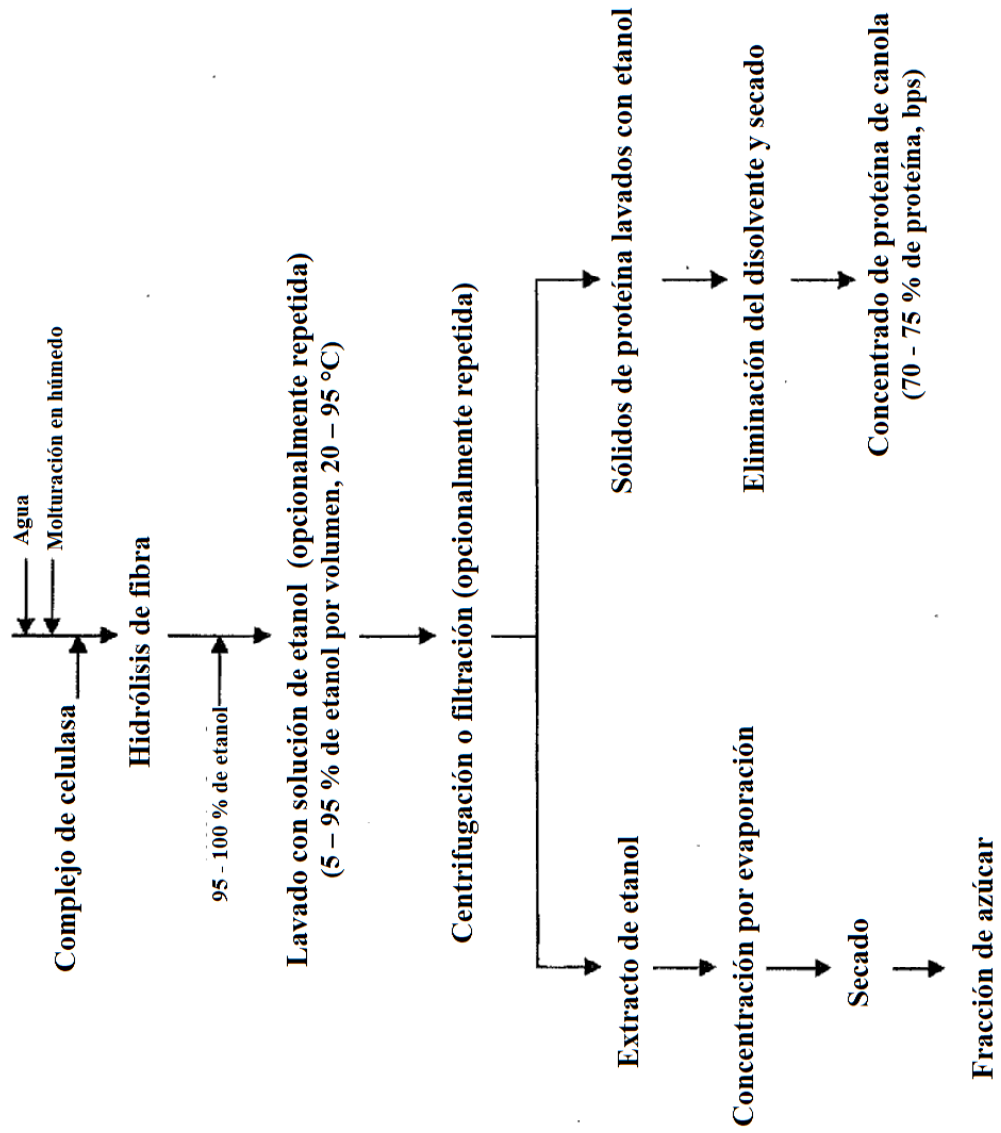


FIGURA 8

Harina desgrasada o enriquecido con proteínas

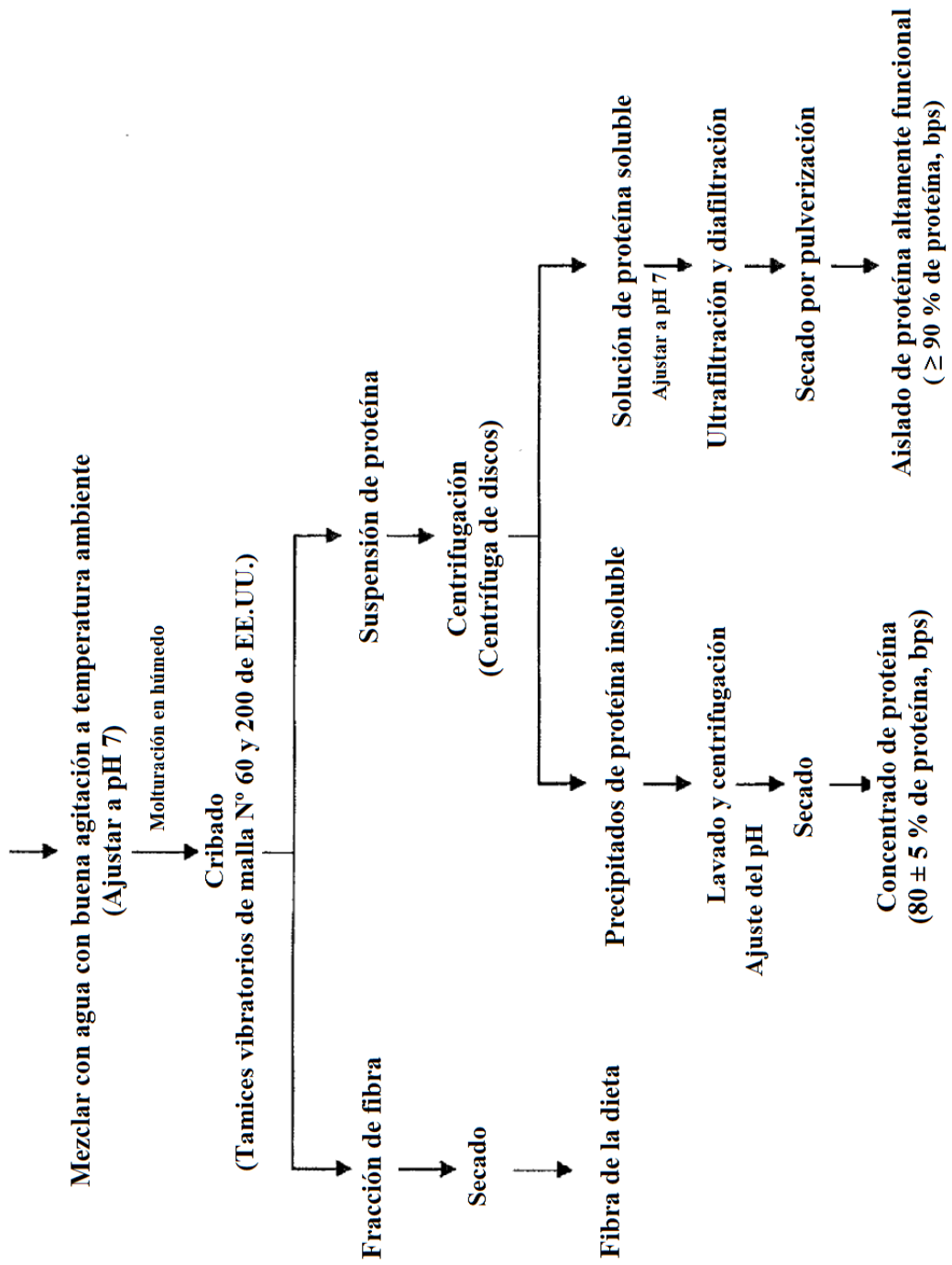
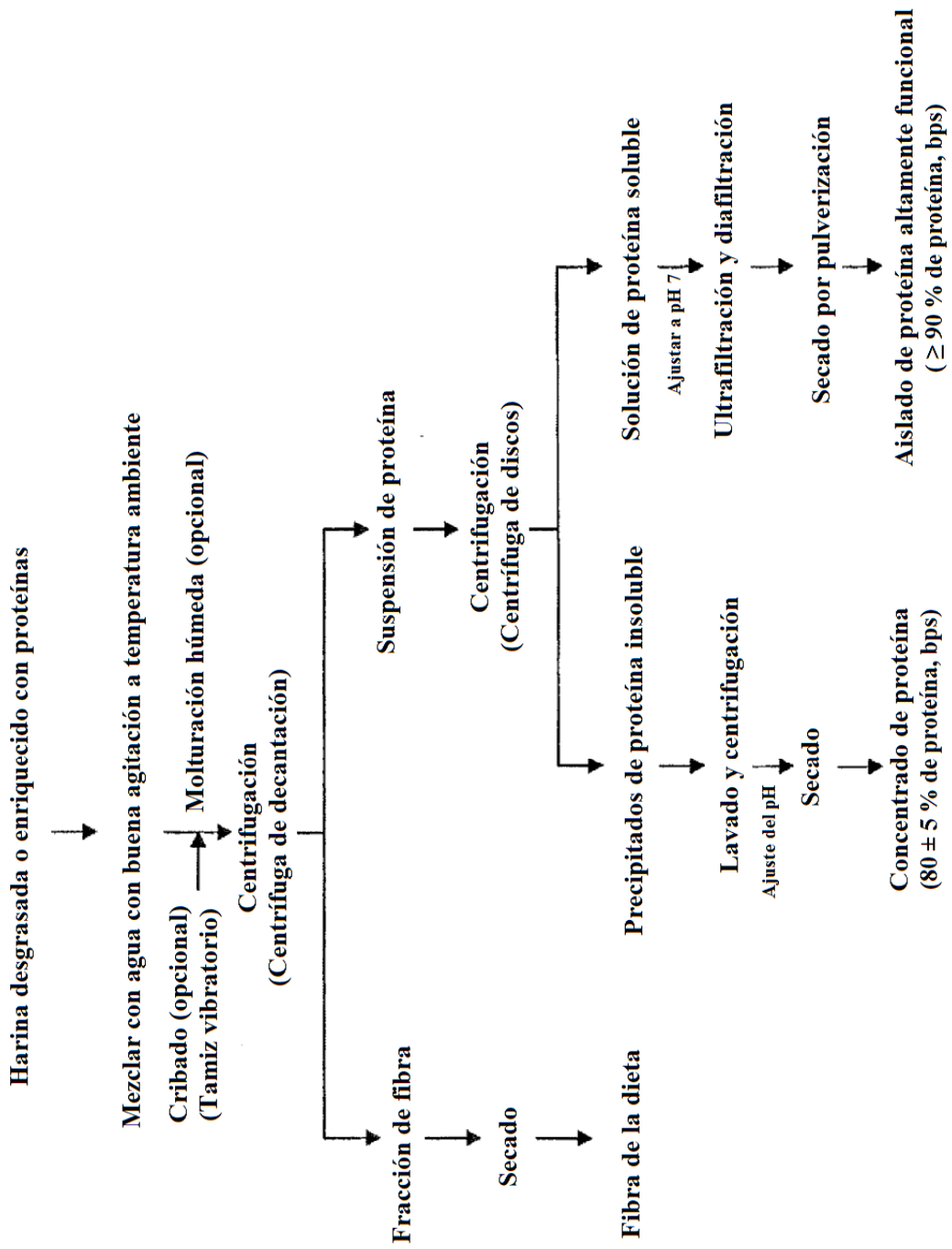


FIGURA 9



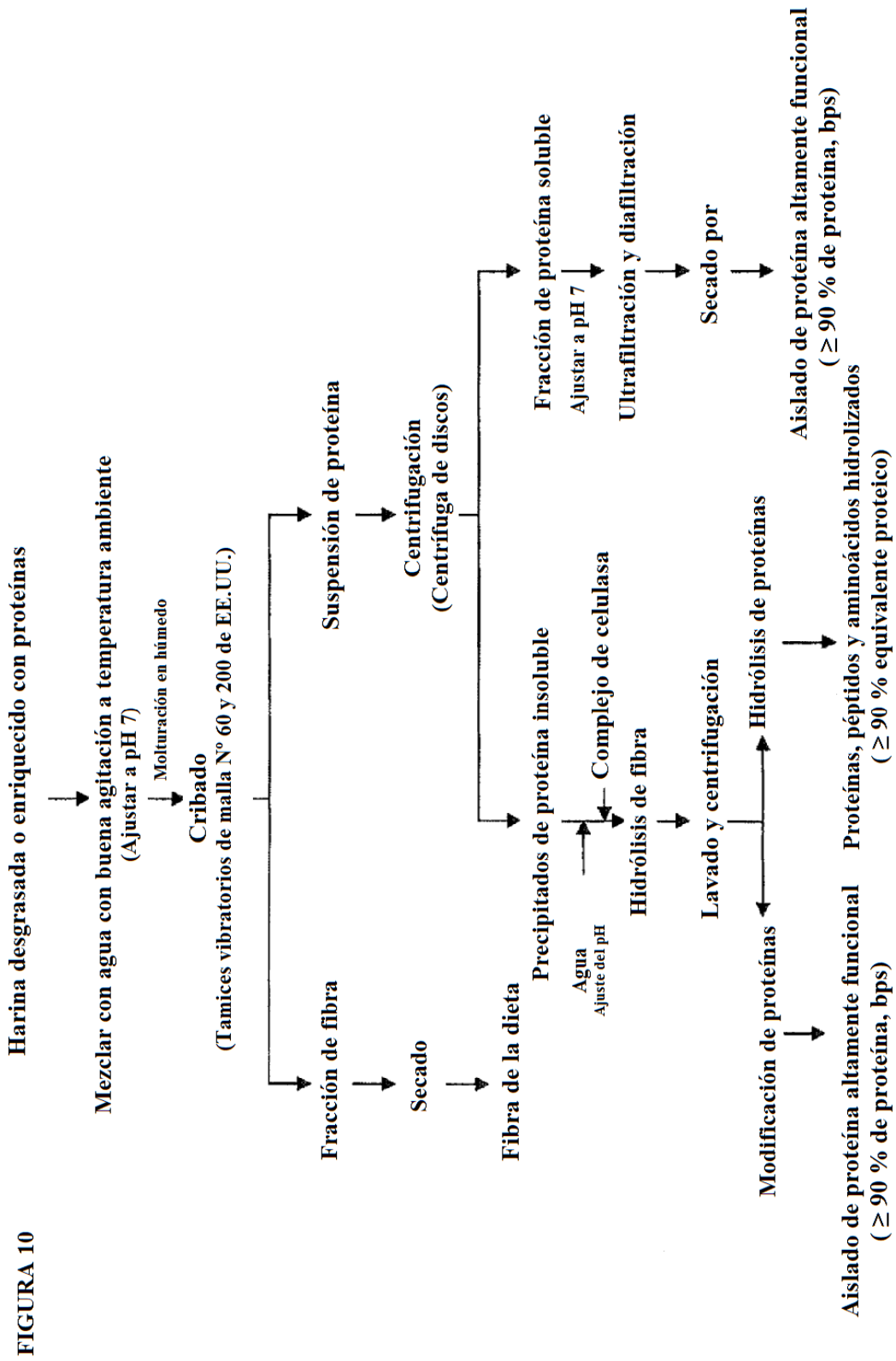


FIGURA 11

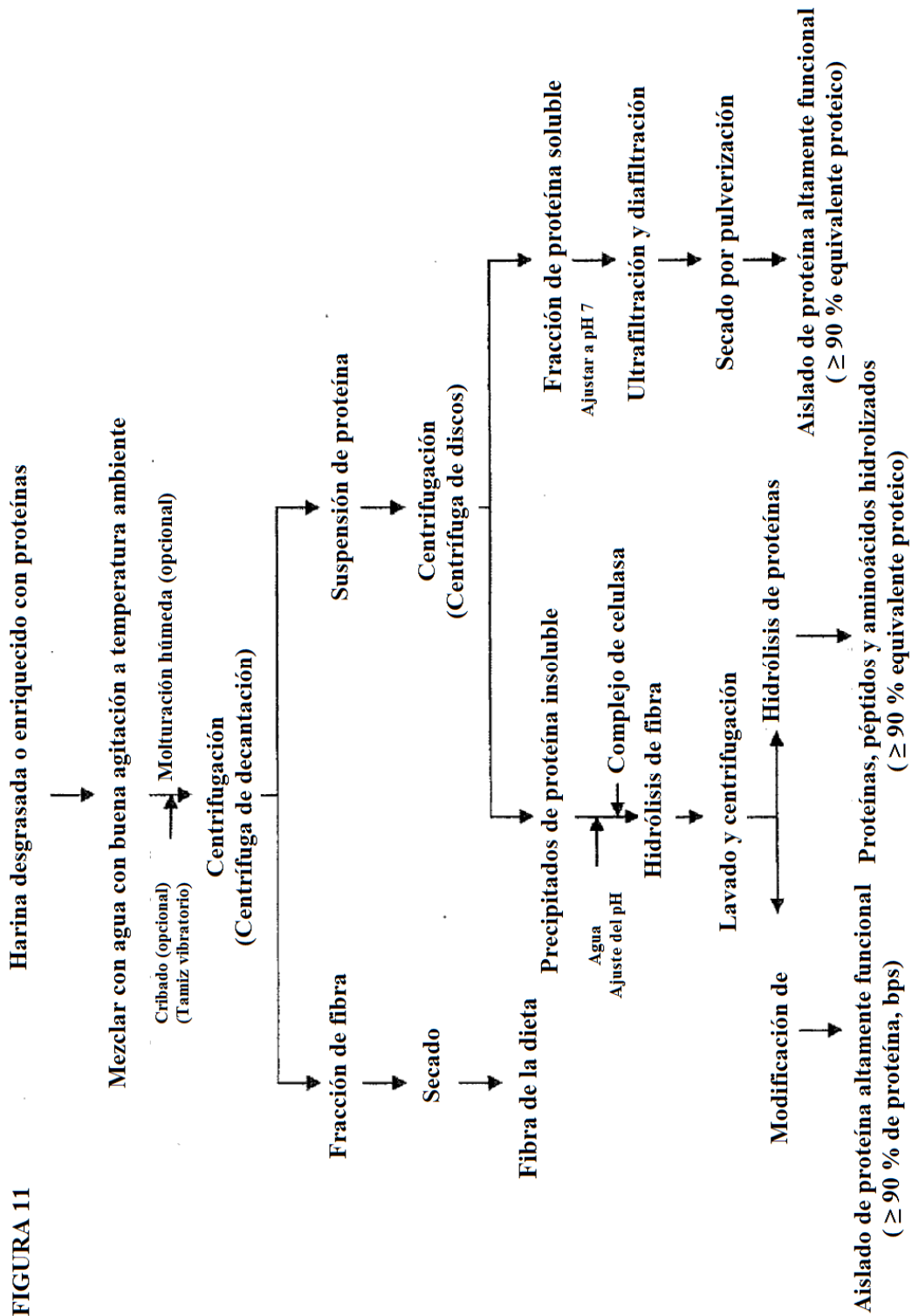


FIGURA 12

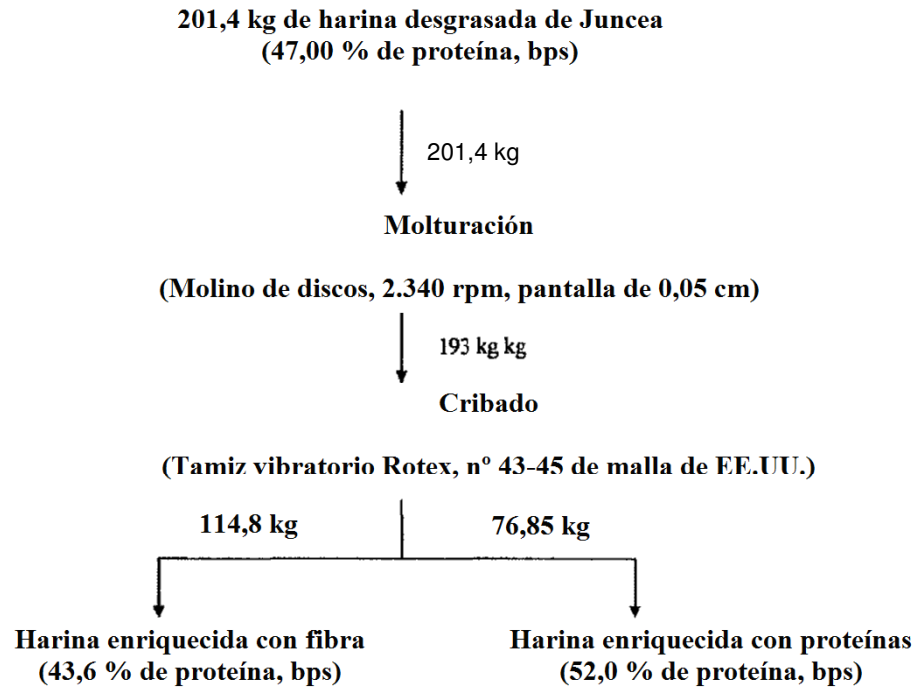


FIGURA 13

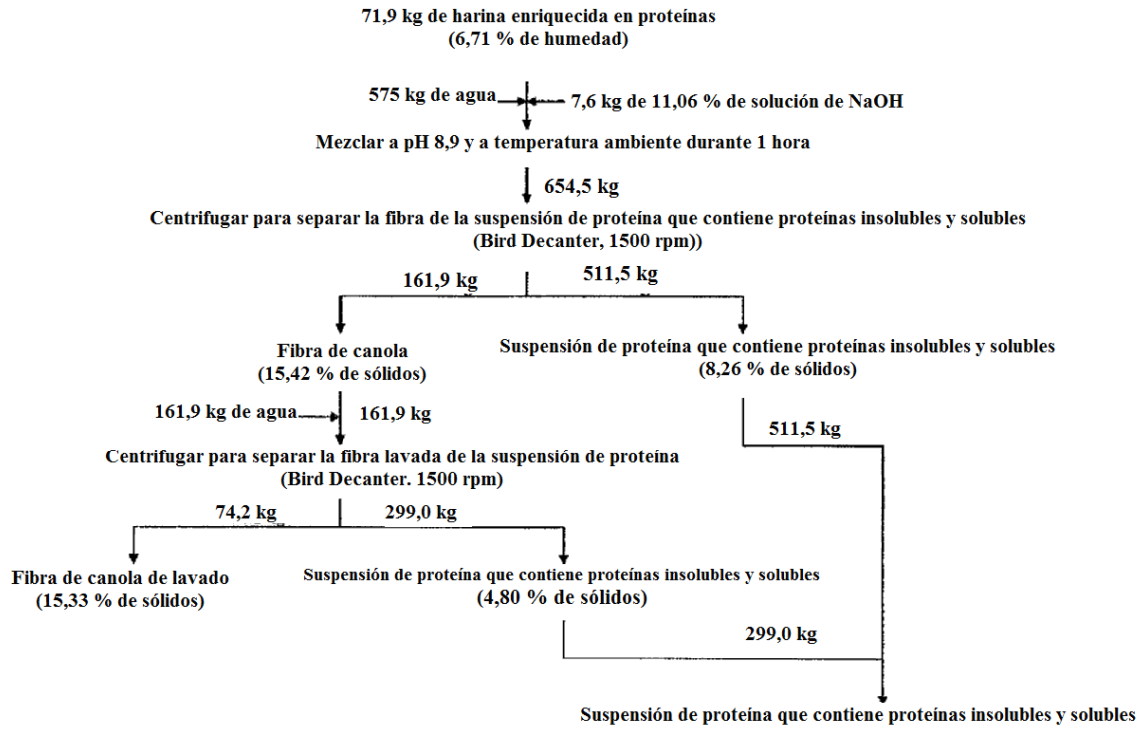


FIGURA 14

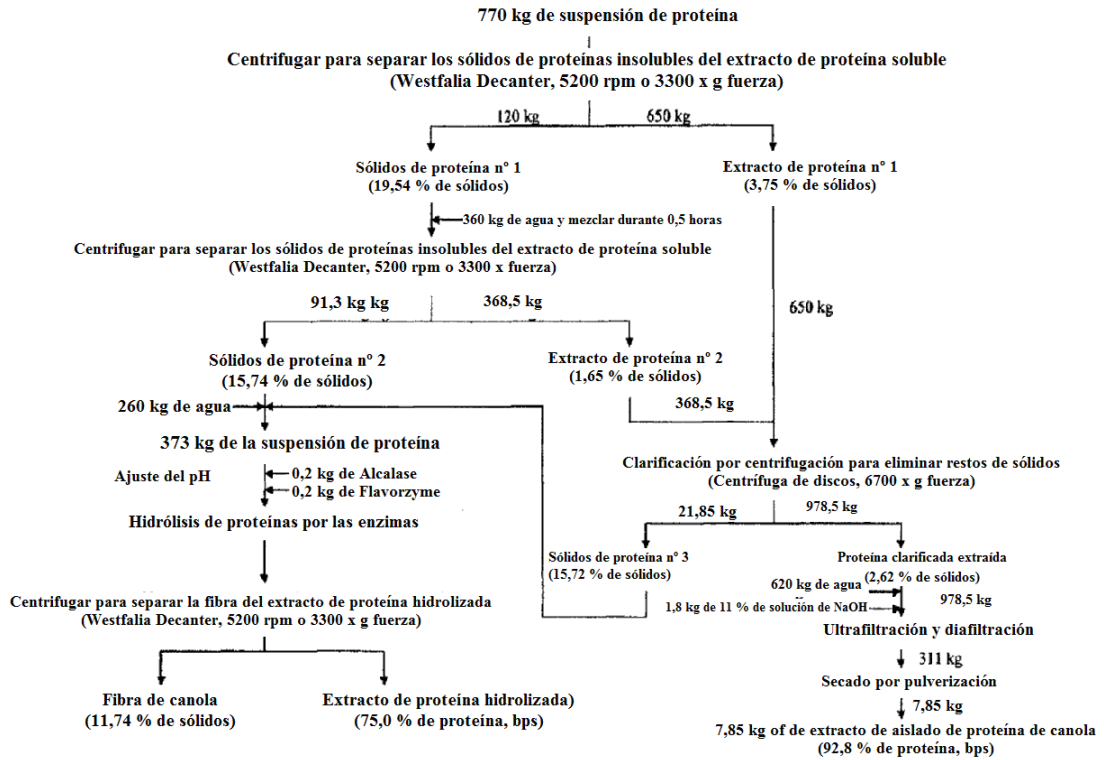


FIGURA 15

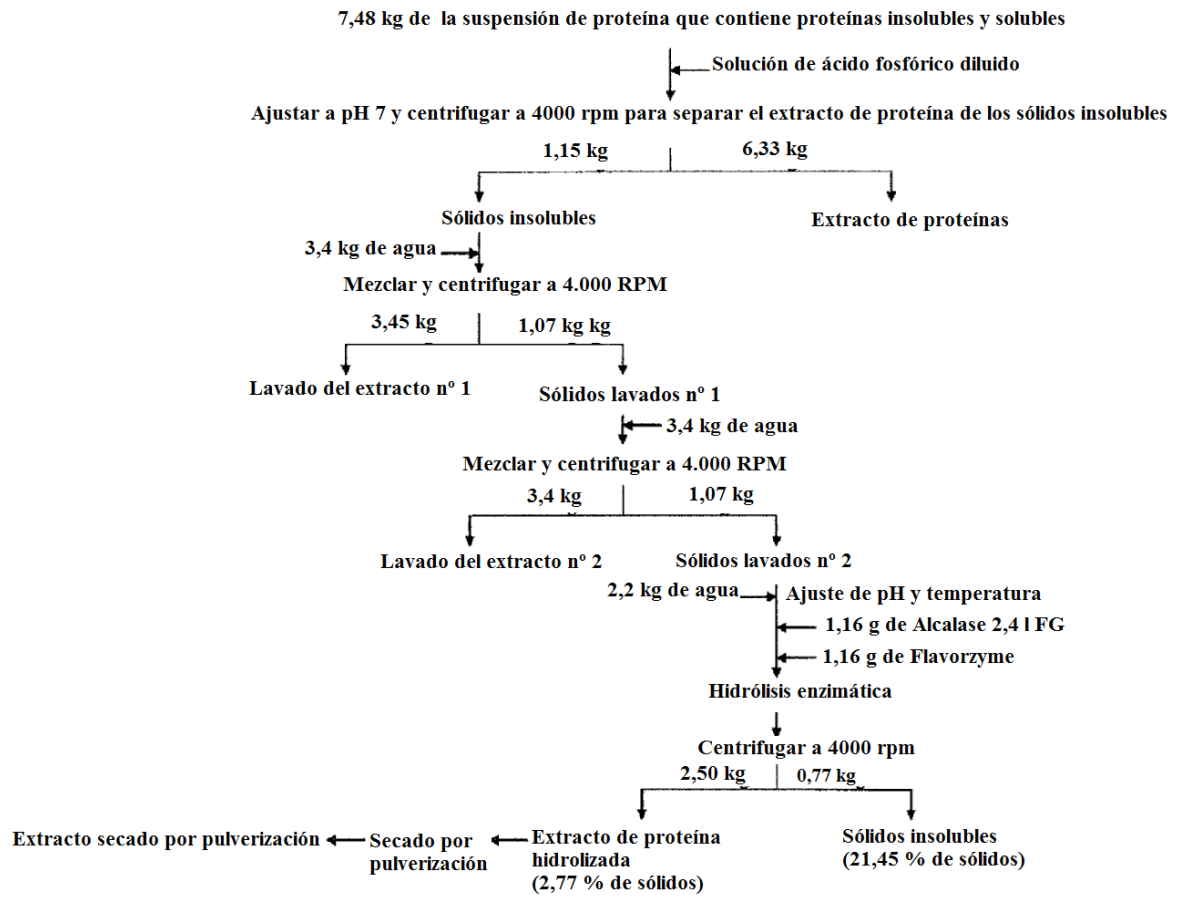


FIGURA 16

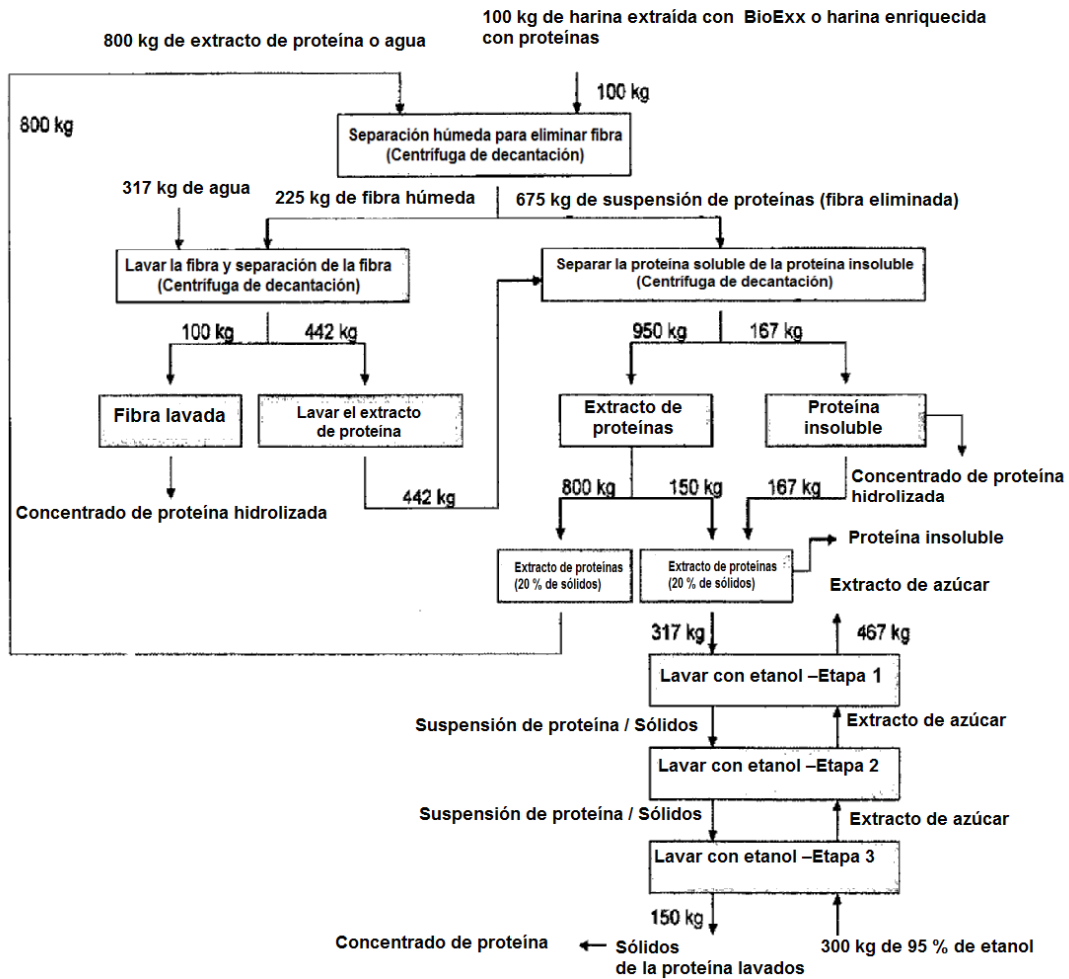


FIGURA 17

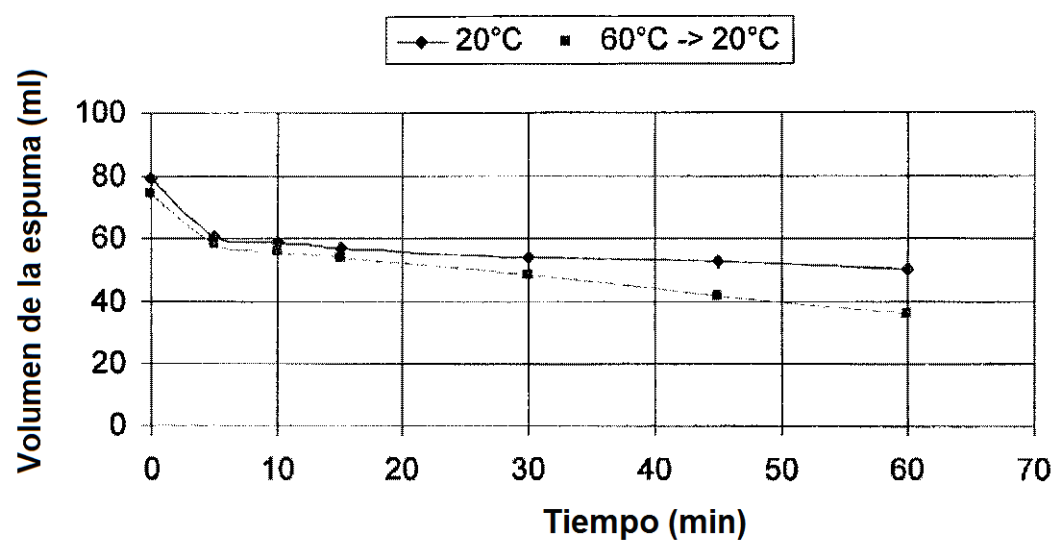


FIGURA 18

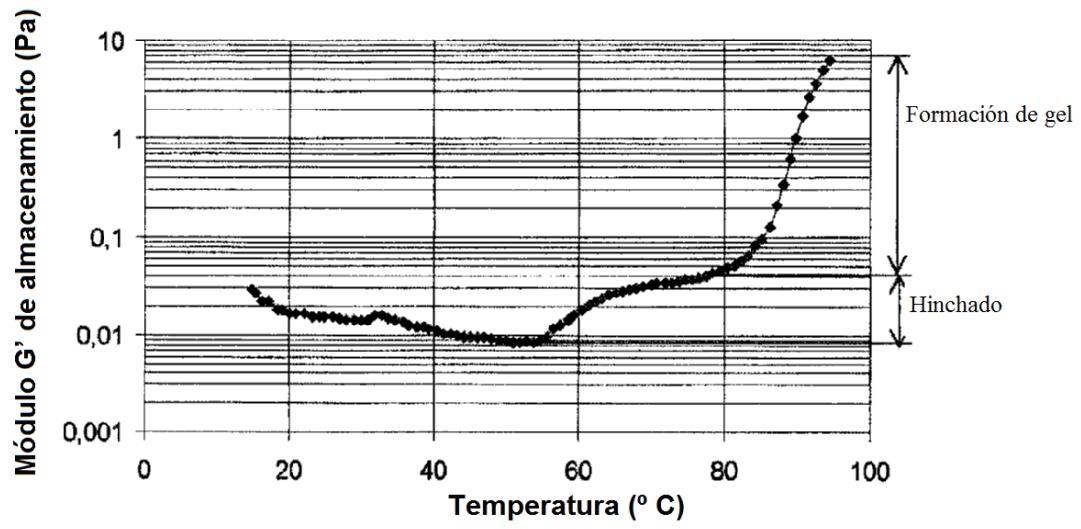


FIGURA 19

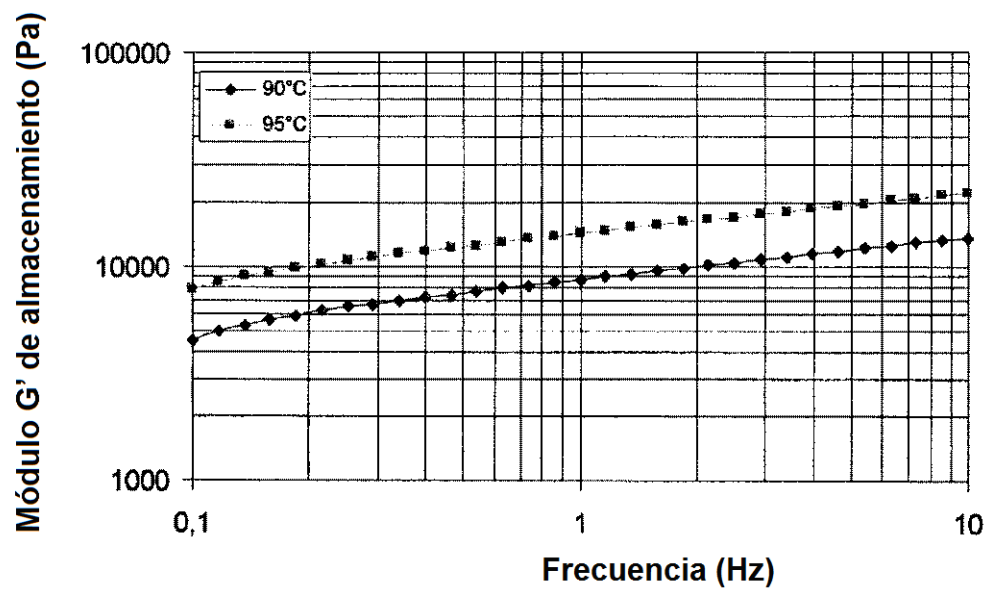


FIGURA 20

