

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 594 811**

51 Int. Cl.:

**A23L 11/30** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.05.2013 PCT/EP2013/060025**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.11.2013 WO13171259**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.05.2013 E 13725302 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.07.2016 EP 2849581**

54 Título: **Método para la fabricación de bioproductos con un perfil de azúcar modificado**

30 Prioridad:

**16.05.2012 EP 12168274  
16.05.2012 US 201261647667 P  
12.03.2013 US 201361777938 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**22.12.2016**

73 Titular/es:

**HAMLET PROTEIN A/S (100.0%)  
Saturnvej 51  
8700 Horsens, DK**

72 Inventor/es:

**ELLEGÅRD, KATRINE, HVID;  
THOMSEN, KARL, KRISTIAN y  
HANSEN, OLE, KAAE**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**ES 2 594 811 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Método para la fabricación de bioproductos con un perfil de azúcar modificado

**Campo de la invención**

- 5 La presente invención se refiere a un método para la producción de bioproductos con un perfil de azúcar modificado que está enriquecido en contenido de monosacárido y sacarosa y reducido en contenido de oligosacárido indigerible. Además, la presente invención se refiere a un método en el que los azúcares fermentables originalmente presentes o proporcionados por  $\alpha$ -galactosidasa pueden convertirse adicionalmente con un hongo o bacteria.

Además, se refiere a los productos obtenibles por el método, así como al uso de los productos obtenidos.

**Antecedentes de la invención**

- 10 Existe la necesidad de bioproductos que puedan usarse principalmente como ingredientes en alimentos o piensos. Los constituyentes básicos en tales productos son proteínas, grasas e hidratos de carbono.

Biomásas adecuadas para tales productos son gramíneas y cultivos oleaginosos, tales como semillas, cereales y legumbres. Los cereales tienen un contenido de proteína de hasta el 15 %, por ejemplo, trigo, y las legumbres tienen un contenido de hasta el 45 %, por ejemplo, soja, basado en la materia seca.

- 15 Un problema general especialmente relacionado con las legumbres es el contenido de oligosacáridos indigeribles que provocan flatulencia cuando fermentan en el estómago. La presencia de los oligosacáridos rafinosa, estaquiosa y verbascosa puede reducirse sumergiendo en agua o enzimáticamente por hidrólisis con  $\alpha$ -galactosidasa. El problema asociado a esto es que se añade al coste del producto final debido al uso de agua en el remojo o por un tratamiento enzimático que tiene que realizarse a un contenido de agua relativamente alto del 80 % o más.

- 20 El documento US 6.238.725 B1 desvela un método de preparación de una leguminosa en el que los oligosacáridos que provocan flatulencia se eliminan sumergiendo en agua.

El documento WO 02/15712 A2 desvela un método de fabricación de un producto de proteína de soja usando  $\alpha$ -galactosidasa en el que el contenido de agua en el proceso es del 80 - 90 %. El producto de soja obtenido tiene un contenido de proteína de mínimo el 60 % y un contenido total de rafinosa y estaquiosa de menos del 5 %.

- 25 El documento US 2003/019041 A1 desvela un método para la fabricación de un concentrado de proteína de soja usando una enzima de glucosidasa ( $\alpha$ -galactosidasa) en el que el contenido de agua en el proceso según los ejemplos es de aproximadamente el 90 %. Después de la hidrólisis, los hidratos de carbono y las sales se eliminan por ultrafiltración. El concentrado de soja obtenido tiene un contenido de proteína de mínimo el 65 % y un contenido combinado de rafinosa y estaquiosa de menos del 4 %.

- 30 El documento WO 2009/143591 desvela un método de procesamiento de soja usando enzima(s) que es capaz de convertir los polisacáridos insolubles en azúcares solubles e hidrolizar las proteínas a un contenido de agua de como máximo el 35 %. No se desvela el nivel de degradación.

- 35 El objeto de la presente invención es proporcionar un método mejorado para la producción de bioproductos con un perfil de azúcar modificado que está enriquecido en contenido de monosacárido y sacarosa y reducido en contenido de oligosacárido indigerible, que puede realizarse a costes más bajos debido al bajo contenido de agua en el proceso.

Aún otro objeto es proporcionar un método en el que los azúcares fermentables originalmente presentes o proporcionados por  $\alpha$ -galactosidasa puedan convertirse adicionalmente con un hongo por ejemplo, levaduras y/o bacterias, por ejemplo, *Lactobacillus*.

Estos objetos se cumplen con el proceso y los productos de la presente invención.

- 40 **Sumario de la invención**

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un método para la producción de un bioproducto sólido en el que al menos el 80 % del contenido de oligosacárido (rafinosa, estaquiosa y verbascosa) indigerible de la planta original se ha degradado en mono- y disacáridos digeribles que comprende las siguientes etapas:

- 45 1) proporcionar una mezcla de biomasa molida o en copos o de otra manera desintegrada, que comprende oligosacáridos y opcionalmente polisacáridos, y que además comprende partes de plantas proteináceas, agua y una o más preparaciones de enzima que contienen  $\alpha$ -galactosidasa(s);
- 2) hacer reaccionar la mezcla resultante de la etapa (1) con mezcla continua y bajo condiciones en las que el contenido

de agua en la mezcla inicial no supera el 65 % en peso, durante 0,15-36 horas a una temperatura de aproximadamente 20-65 °C;

3) incubar la mezcla reaccionada de la etapa (2) a una temperatura y en un periodo de tiempo que inactiven dicha(s)  $\alpha$ -galactosidasa(s).

5 Es sorprendente que la hidrólisis enzimática, es decir, la descomposición catalítica por reacción con agua pueda realizarse a un contenido de agua que no supera el 65 % en peso. Normalmente, el bajo contenido de agua tiende a retardar la reacción debido a problemas de contacto mecánico con el sustrato. Dar una explicación científica en esta fase sería arriesgar. Se cree que la combinación de pretratamiento del sustrato, la actividad de la  $\alpha$ -galactosidasa y el procedimiento de mezcla durante la reacción son los factores clave.

10 El beneficio es que el producto que resulta del método solo contiene cantidades menores de agua debido al bajo contenido de agua durante el proceso, y por consiguiente, el secado del producto puede realizarse a bajo coste debido a la cantidad menor de agua a eliminar.

15 La invención proporciona además un bioproducto sólido obtenible por un proceso según la invención que comprende proteínas vegetales en una cantidad de hasta aproximadamente el 60% y opcionalmente glicéridos de hasta el 25 % en peso de materia seca.

La invención también proporciona un bioproducto sólido obtenible por un proceso como se define en las reivindicaciones 13 - 20.

Finalmente, la invención proporciona un alimento, pienso, producto cosmético o farmacéutico o un suplemento nutricional que contiene del 1 al 99 % en peso de un bioproducto sólido según la invención.

#### 20 Definiciones

En el contexto de la presente invención, se pretende que los siguientes términos comprendan lo siguiente, a menos que se defina en otra parte en la descripción.

25 Se pretende que los términos “aproximadamente” o “~” indiquen, por ejemplo, la incertidumbre de medición comúnmente experimentada en la técnica, que puede estar en el orden de magnitud de, por ejemplo, +/- 1, 2, 5, 10, 20, o incluso el 50 %.

30 El término “que comprende” se interpretará como que especifica la presencia de la(s) parte(s), etapa(s), característica(s), composición (composiciones), producto(s) químico(s) o componente(s) establecidos, aunque no se excluye la presencia de una o más partes, etapas, características, composiciones, productos químicos o componentes adicionales. Por ejemplo, una composición que comprende un compuesto químico puede comprender así compuestos químicos adicionales, etc.

El término indigerible se interpretará como no digerible por los humanos y animales monogástricos/no rumiantes.

35 El término “al menos el 80 % del contenido de oligosacárido indigerible original se ha degradado” se interpretará como que especifica que el contenido total de los oligosacáridos indigeribles se ha degradado al menos el 80 % y también incluye productos en el que un tipo de oligosacárido puede degradarse a un grado mayor que otro tipo de oligosacárido, e incluso en el que un tipo de oligosacárido puede degradarse solamente en un grado menor, siempre que el contenido total del oligosacárido original-de partida se haya reducido como se especificó por al menos el 80 %.

#### Biomasa:

Comprende material biológico producido por la fotosíntesis y que puede usarse como materia prima en la producción industrial.

40 En este contexto, biomasa se refiere a materia vegetal en forma de gramíneas, cereales, semillas, frutos secos, judías y guisantes, etc., y mezclas de los mismos.

Además, se prefiere una biomasa que comprende legumbres debido al contenido y composición de proteína. También contienen hidratos de carbono que comprenden alfa-galactósidos. En general, el alfa-galactósido principal es estaquiosa, excepto en los guisantes forrajeros en los que el oligosacárido principal es verbascosa.

#### 45 Desintegrado de otra forma:

Significa desintegrado por cocción y/o por maceración y/o cocción a presión ácida o alcalina, o tratamiento ultrasónico.

Hidratos de carbono:

Comprenden mono-, di-, oligo- y polisacáridos.

Los azúcares C5 (pentosas) son hidratos de carbono en los que los azúcares monoméricos componentes están compuestos de un anillo con cinco átomos de carbono, por ejemplo, arabinosa.

- 5 Los azúcares C6 (hexosas) son hidratos de carbono en los que los azúcares monoméricos componentes están compuestos de un anillo con seis átomos de carbono, por ejemplo, galactosa.

Oligosacáridos y polisacáridos:

- 10 Un oligosacárido es un polímero de sacárido que contiene un número pequeño (que incluye hasta, por ejemplo, 8-10) de azúcares monoméricos componentes, también conocidos como azúcares simples. Ejemplos típicos son el trisacárido rafinosa (D-galactosa- $\alpha$ 1,6-D-glucosa- $\alpha$ 1, $\beta$ 2-D-fructosa), el tetrasacárido estaquiosa (D-galactosa- $\alpha$ 1,6-D-galactosa- $\alpha$ 1,6-D-glucosa- $\alpha$ 1, $\beta$ 2-D-fructosa) y el pentasacárido verbascosa (D-galactosa- $\alpha$ 1,6-D-galactosa- $\alpha$ 1,6-D-galactosa- $\alpha$ 1,6-D-glucosa- $\alpha$ 1, $\beta$ 2-D-fructosa).

- 15 Los polisacáridos son polímeros de sacárido que contienen un gran número de azúcares monoméricos componentes, también conocidos como hidratos de carbono complejos. Si los azúcares monoméricos son del mismo tipo el polisacárido se denomina un homopolisacárido, pero cuando se encuentra presente más de un tipo se llaman heteropolisacáridos.

Ejemplos incluyen polisacáridos de almacenamiento tales como almidón y polisacáridos estructurales tales como celulosa y arabinoxilano.

Materiales proteínicos:

- 20 Comprenden compuestos orgánicos hechos de aminoácidos dispuestos en una cadena lineal y unidos juntos por un enlace denominado un enlace peptídico. A una longitud de cadena de hasta aproximadamente 50 aminoácidos, el compuesto se denomina un péptido; a mayor peso molecular el compuesto orgánico se denomina un polipéptido o una proteína.

Grasas:

- 25 Comprenden ésteres entre ácidos grasos y glicerol. Una molécula de glicerol puede esterificarse a una, dos y tres moléculas de ácido graso que producen un monoglicérido, un diglicérido o un triglicérido, respectivamente. Usualmente, las grasas consisten principalmente en triglicéridos y cantidades menores de lecitinas, esteroides, etc. Si la grasa es líquida a temperatura ambiente, normalmente se denomina aceite. Con respecto a los aceites, grasas y productos relacionados en este contexto, se hace referencia al "Lipid Glossary 2", F.D. Gunstone, The Oily Press, 2004.

Glicéridos:

- 30 Comprenden mono-, di- y triglicéridos.

Auxiliares de procesamiento:

1. Enzimas

- 35 La(s) enzima(s) son una clase muy grande de sustancias de proteína que actúan como catalizadores. Comúnmente, se dividen en seis clases, y las clases principales que entran dentro del alcance de la presente invención pueden ser transferasas que transfieren grupos funcionales y las hidrolasas que hidrolizan diversos enlaces.

En este contexto, las enzimas de glucósido hidrolasa son importantes y especialmente la(s)  $\alpha$ -galactosidasa(s), que es una enzima que hidroliza la alfa-galactosa terminal en alfa-galactósidos, que comprende oligosacáridos de galactosa y galacto-mananos, que liberan residuos de D-galactosa.

- 40 La actividad de  $\alpha$ -galactosidasa en una preparación se expresa en unidades/g del producto de enzima real y se ensaya haciendo reaccionar p-nitrofenil- $\alpha$ -D-galactopiranosido con agua y enzima durante 10 min a 25 °C para formar D-galactosa y p-nitrofenilo que se monitoriza espectrofotométricamente a 410 nm.

Una unidad de  $\alpha$ -galactosidasa es la actividad enzimática que libera un micromol ( $10^6$  moles) de p-nitrofenilo por minuto.

Ejemplos adicionales de enzimas comprenden: proteasa(s), peptidasa(s),  $\beta$ -galactosidasa(s), amilasa(s), glucanasa(s), pectinasa(s), hemicelulasa(s), fitasa(s), lipasa(s), fosfolipasa(s) y oxido-reductasa(s).

- 45 2. Componentes vegetales y agentes de procesamiento orgánico

Algunas de las propiedades funcionales que son importantes en este contexto son: Antioxidantes, acción antibacteriana, propiedades humectantes y estimulación de enzimas.

5 La lista de componentes basados en planta es enorme, pero los más importantes son los siguientes: Romero, tomillo, orégano, flavonoides, ácidos fenólicos, saponinas y  $\alpha$ - y  $\beta$ -ácidos de lúpulo, por ejemplo, de humulona y lupolona, para la modulación de hidratos de carbono solubles. Ácidos orgánicos adicionales, por ejemplo, ácido sórbico, propiónico, láctico, cítrico y ascórbico y sus sales para el ajuste de las propiedades de valor de pH, conservación y quelantes son parte de este grupo de auxiliares de procesamiento.

### 3. Agentes de procesamiento inorgánico

10 Comprenden las composiciones inorgánicas que son capaces de conservar la mezcla de fermentación contra el ataque bacteriano durante el procesamiento, por ejemplo, bisulfito de sodio, etc.

Antiaglomerantes y agentes mejoradores de flujo en el producto final, por ejemplo, silicato de potasio y aluminio, etc.

#### Productos alimenticios procesados:

Comprenden productos lácteos, productos de carne procesada, dulces, postres, postres de helado, productos enlatados; comidas liofilizadas, aderezos, sopas, alimentos precocinados, pan, pasteles, etc.

15 Productos de piensos procesados:

Comprenden pienso listo para usar o ingredientes de pienso para animales tales como cerdos, terneros, aves, animales de peletería, ovejas, gatos, perros, peces y crustáceos, etc.

#### Productos farmacéuticos:

20 Comprenden productos, normalmente en forma de un comprimido o en forma granulada, que contienen uno o más ingredientes biológicamente activos previstos para curar y/o aliviar los síntomas de una enfermedad o una afección. Los productos farmacéuticos comprenden además excipientes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables. Los bioproductos sólidos desvelados en el presente documento son muy adecuados para su uso como un ingrediente farmacéuticamente aceptable en un comprimido o granulado.

#### Productos cosméticos:

25 Comprenden productos previstos para la higiene personal, así como el aspecto mejorado, tales como acondicionadores y preparaciones para el baño.

### Descripción detallada de la invención

Los oligosacáridos indigeribles vegetales originales cuyo contenido se degrada por el proceso de la invención son principalmente rafinosa, estaquiosa y verbascosa.

30 El contenido de agua en la mezcla de reacción inicial no supera el 65 % en peso, lo cual implica que el contenido de materia seca en la mezcla es de al menos el 35 %.

35 El tiempo de reacción es 0,15-36 horas a una temperatura de aproximadamente 20-65 °C. La temperatura puede variar, por ejemplo, de 25-60 °C, 30-55 °C, de 35 a 50 °C, de 40 a 45 °C; el tiempo de reacción puede variar, por ejemplo, de 10 minutos a 36 horas, de 20 minutos a 30 horas, de 1 a 24 horas, de 2 a 20 horas, de 4 a 18 horas, de 8 a 16 horas o de 12 a 14 horas.

40 En una realización del método de la invención comprende además que los hongos, tales como la levadura viva, y/o bacterias, se añade a la biomasa que comprende oligosacáridos y/o polisacáridos y partes de plantas proteínaceas en una relación de materia seca entre hongo/bacteria y biomasa de 1:2 a 1:400, y que la incubación en la etapa (3) se lleve a cabo a una temperatura y en un periodo de tiempo que inactiva dicha(s)  $\alpha$ -galactosidasa(s) y hongos y/o bacterias. Así, se incluyen relaciones de materia seca tales como: 1:2; 1:3; 1:4; 1:5; 1:6; 1:7; 1:8; 1:9; 1:10; 1:20; 1:30; 1:40; 1:50; 1:60; 1:70; 1:80; 1:90; 1:100; 1:200 y 1:300. La incubación de la mezcla reaccionada puede llevarse a cabo a aproximadamente 70-150 °C, por ejemplo, 85-150 °C, que incluye 70, 75, 80, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150 °C durante 0,5-240 minutos, por ejemplo, 6-240 minutos, que incluyen 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 minutos.

45 Cuando se eligen las condiciones para la incubación, el experto en la materia sabe que cuando se usan temperaturas muy altas, son necesarios tiempos de incubación relativamente cortos.

En esta realización, la etapa de reacción (2) puede realizarse bajo condiciones anaerobias y/o aerobias.

5 En una segunda realización, la cantidad de la(s) preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa es del 0,001 al 1,0 % en peso de la biomasa en la mezcla inicial en la que la(s) preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa están teniendo una actividad de 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa/g de producto enzimático, y/o la reacción en la etapa (2) se realiza bajo condiciones en las que el contenido de agua en la mezcla inicial es del 30 al 65 % en peso, lo cual implica que el contenido de materia seca en la mezcla es del 35 al 70 % en peso.

Así, el contenido de agua puede variar para ser, por ejemplo, del 35 al 60 %, del 40 al 55 % o del 45 al 50 %. Por lo tanto, el contenido de materia seca en la mezcla de reacción proporcionada en la etapa (1) puede variar correspondientemente para ser, por ejemplo, del 40 al 65 %, del 45 al 60 % o del 50 al 55 %, por ejemplo, ser del 45 %, 50 %, 55 %, 57,5 %, 60 %, 62,5 %, 65 % o 67,5 %.

10 La cantidad de una o más preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa puede variar, por ejemplo, del 0,01 al 1,0%, del 0,025 al 0,75 %, del 0,05 al 0,5 %, del 0,075 al 0,25 % o del 0,1 al 0,125 % de la(s) preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa que tienen una actividad de 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa/g de producto enzimático. La actividad de la(s) preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa puede también ser menor o mayor que 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa/g de producto enzimático, por ejemplo, de 5 a 200.000, o de 100.000 a 150.000, 50 a 50.000 o de 500 a  
15 10.000 unidades/g de producto enzimático, siempre y cuando la cantidad de enzima aplicada se adapte a la concentración del producto enzimático. Cuanto mayor sea la cantidad y la actividad de la preparación de  $\alpha$ -galactosidasa, menor será el tiempo de reacción generalmente necesario y viceversa. El experto en la materia dentro de la tecnología de enzimas será consciente de esto.

20 En una tercera realización, la reacción en la etapa (2) se realiza en uno o más transportadores no verticales de husillo con paletas interconectadas o de husillo continuo con medios de entrada para la mezcla de reacción y aditivos y medios de salida para el producto, así como medios de control para la velocidad de rotación, temperatura y pH. Esta realización puede ser una variante en la que el transportador de husillo continuo puede ser un tipo opcionalmente modificado de un transportador de tornillo de un solo álabe o varios álabes o de tornillo cruzado diseñado para transportar la mezcla de reacción y al mismo tiempo elevar el material de modo que se transporte y se agite sin compactarlo. La etapa de reacción  
25 (2) también puede realizarse en una mezcladora de tornillo vertical, por ejemplo, una mezcladora Nauta.

En una cuarta realización del método de la invención, uno o más auxiliares de procesamiento, tales como los productos de lúpulo que contienen  $\alpha$ - y  $\beta$ -ácidos de lúpulo, se añaden en cualquiera de las etapas (1), (2) y/o (3). El uno o más auxiliares de procesamiento también pueden ser una enzima, un componente vegetal y/o agente de procesamiento orgánico y/o agente de procesamiento inorgánico, como se define anteriormente en la sección de definición de la presente  
30 solicitud.

En una quinta realización, los hongos y/o bacterias que pueden añadirse a la biomasa es levadura viva seleccionada de entre las cepas *Saccharomyces cerevisiae*, que incluyen levadura de cerveza usada y levadura de destilería usada y levaduras usadas a partir de la producción de vino y levadura de panificación, así como cepas de *Bacillus cereus* y cepas de levadura que fermentan los azúcares C5. La levadura viva puede añadirse, por ejemplo, en una cantidad del 0,25 al  
35 10 %, tal como del 0,5 %, 1%, 1,5 %, 2 %, 2,5 %, 3 %, 3,5 %, 4 %, 4,5, 5 %, 6 %, 7 %, 8 % 9.

Las partes de plantas proteináceas comprendidas en la biomasa pueden, en una 6ª realización, ser legumbres, tales como soja, guisante, haba, altramuz, y/o cereales, tales como trigo, y/o gramíneas y además ser como se define en la sección de definiciones de la presente solicitud. La biomasa puede, en una 7ª realización, comprender además aceites y grasas, por ejemplo, a partir de semillas de plantas oleaginosas, por ejemplo, semillas de colza y soja, y además como se  
40 define anteriormente en la sección de definiciones de la presente solicitud.

En una 8ª realización, la mezcla de reacción que resulta de la etapa (3) se seca a un contenido de agua de no más del 10 % en peso.

En realizaciones adicionales, la cantidad de dicha una o más preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa es del 0,25 al 1,0 % en peso de la materia seca de la biomasa en la mezcla inicial en la que la preparación de  $\alpha$ -galactosidasa está  
45 teniendo una actividad de 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa por g del producto enzimático, y dicha reacción en la etapa (2) se realiza durante 4-36 horas a una temperatura de 30-60 °C; o

la cantidad de dicha una o más preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa es del 0,25 al 1,0 % en peso de la materia seca de la biomasa en la mezcla inicial en la que la preparación de  $\alpha$ -galactosidasa está teniendo una actividad de 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa por g del producto enzimático, y dicha reacción en la etapa (2) se realiza durante 4-  
50 36 horas a una temperatura de 50-60 °C; o

la cantidad de dicha una o más preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa es de 0,01 al 1,0 % en peso de la materia seca de la biomasa en la mezcla inicial en la que la preparación de  $\alpha$ -galactosidasa está teniendo una actividad de 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa por g del producto enzimático, y dicha reacción en la etapa (2) se realiza durante 8-36 horas

a una temperatura de 50-60 °C; o

la cantidad de dicha una o más preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa es del 0,05 al 1,0 % en peso de la materia seca de la biomasa en la mezcla inicial en la que la preparación de  $\alpha$ -galactosidasa está teniendo una actividad de 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa por g del producto enzimático, dicha reacción en la etapa (2) se realiza bajo condiciones en las que el contenido de agua en la mezcla inicial es del 40-65 % y a una temperatura de 50-60 °C; o

los hongos y/o bacterias son levadura viva añadida en una cantidad del 0,25 % al 10 %.

En una realización final, el método se realiza como un proceso discontinuo, de lotes alimentados o continuo.

El bioproducto sólido obtenible por el proceso definido en las reivindicaciones 1 a 16 comprende proteínas en una cantidad de hasta aproximadamente el 60 % en peso; la cantidad puede ser menor que el 60 %, por ejemplo, 10-59 %, 40-59 %, 45-58 %, 48-55 % o 50-53 % en peso de materia seca. La cantidad de glicéridos puede ser, por ejemplo, 0-20 %, 2-20 %, 5-18 % o 10-15 % en peso de materia seca.

El bioproducto sólido definido en la reivindicación 22 puede comprender hasta aproximadamente el 75 % de proteína, por ejemplo, del 40-75 %, del 45-70 %, del 48 al 65 %, del 50-60 % o del 53-55 % en peso de proteína. Puede comprender además glicéridos en una cantidad de hasta el 25 % en peso de materia seca, por ejemplo, 0-20 %, 2-20 %, 5-18 % o 10-15 % en peso de materia seca.

El bioproducto sólido obtenible por el proceso de las reivindicaciones 11-16 puede comprender hasta el 60 % en peso de proteína o puede comprender más del 60 % en peso de proteína, por ejemplo, del 40-75 %, del 45-70 %, del 48 al 65 %, del 50-60 % o del 53-55 % en peso de proteína. Pueden comprender además glicéridos en una cantidad de hasta el 25 % en peso de materia seca, por ejemplo, 0-20 %, 2-20 %, 5-18 % o 10-15 % en peso de materia seca.

La cantidad de proteína puede ser especialmente alta cuando la biomasa se ha fermentado con levadura viva según el proceso de la reivindicación 2.

Los oligosacáridos rafinosa, estaquiosa y verbascosa se degradan por el método de la invención a mono- y disacáridos, tales como galactosa y sacarosa. La sacarosa es un producto de interés que resulta del método, debido a que un alto contenido de sacarosa en el bioproducto resultante contribuirá a una sensación de saciedad después del consumo. La cantidad de sacarosa puede ser tan alta como del 15-20 % en peso de materia seca.

En una realización, el bioproducto sólido de la invención comprende una cantidad total de rafinosa, estaquiosa y verbascosa de menos del 8 % en peso; por ejemplo, menos del 6 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 o menos del 1 % en peso.

En otra realización, el bioproducto sólido de la invención comprende una cantidad total de rafinosa de menos del 3,0 %, por ejemplo, menos del 2 %, menos del 1,5 %, menos del 1 % o menos del 0,75 % o menos del 0,5 % o menos del 0,25 %.

En aún otra realización, el bioproducto sólido de la invención comprende una cantidad total de estaquiosa de menos del 1,0 %, por ejemplo, menos del 0,75 % o menos del 0,5 % o menos del 0,25 %.

La invención también se refiere al uso de un bioproducto sólido según la invención en un producto alimenticio procesado para consumo humano y/o animal; como un ingrediente que va a usarse en un producto alimenticio o pienso; o como un ingrediente de un producto cosmético o farmacéutico o un suplemento nutricional.

Finalmente, la invención se refiere a un producto alimenticio, pienso, cosmético o farmacéutico o un suplemento nutricional que contiene del 1 al 99 % en peso de un bioproducto sólido según la invención.

### **Ejemplos**

40 Ejemplo 1

Hidrólisis enzimática en un proceso a escala de laboratorio de una biomasa que comprende oligosacáridos de soja

1.1 Materiales y métodos:

La hidrólisis enzimática de los oligosacáridos estaquiosa y rafinosa se realizó en 10 g de una biomasa de soja desgrasada y agua que contiene la enzima  $\alpha$ -galactosidasa añadida en una cantidad para alcanzar un cierto contenido de materia seca (DM) de la mezcla, y una cierta concentración de enzimas.

La mezcla se realizó para asegurar la homogeneidad de la mezcla.

La enzima usada en concentraciones variables basada en la materia seca de harina de soja fue un producto comercial de Advanced Enzyme Technologies, Maharashtra, India, comercializado con el nombre comercial SEBSoy 5.0 L.

La actividad de SEBSoy 5.0 L se normalizó a 5.000 U/g.

- 5 La hidrólisis enzimática se realizó en pequeños recipientes de vidrio a 34 °C y 55 °C durante 4 a 16 horas, seguido por tratamiento térmico a 100 °C para inactivar la enzima.

Después de que se terminara la hidrólisis enzimática, el contenido de hidratos de carbono solubles se extrajo agitando una suspensión acuosa de una suspensión de 10 % de DM durante 30 minutos, seguido por centrifugación durante 10 minutos a 3.000 x g.

- 10 Se analizó el contenido de mono- y oligosacáridos en los extractos acuosos de la biomasa por cromatografía de capa fina en placas de gel de sílice 60 de CCF (Merck). Los diferentes componentes se cuantificaron por comparación con patrones de concentración conocida (*Carbohydrate analysis - A practical approach*; IRL Press, Oxford. Ed. M.F. Chaplan & J.F. Kennedy, 1986).

### 1.2 Resultados:

#### 1.2a. Respuesta de dosis a diferentes temperaturas

- 15 Los resultados enumerados en la siguiente tabla se obtuvieron después de un tiempo de reacción de 4 horas, a 45 % de DM:

Dosis de SEBSoy	Temperatura 34 °C		Temperatura 55 °C	
	Estaquiosa	Rafinosa	Estaquiosa	Rafinosa
Referencia	6,0 %	2,0 %	6,0 %	2,0 %
0,05 %	-	-	4,0 %	3,0 %
0,10 %	2,5 %	3,5 %	1,5 %	2,5 %
0,25 %	1,5 %	3,0 %	<0,25 %	0,75 %
0,50 %	0,25 %	1,0 %	-	-

A partir de los resultados puede observarse que la estaquiosa se reduce a concentraciones de enzima inferiores cuando la estaquiosa produce una molécula de D-galactosa y una molécula de rafinosa en la primera etapa en la hidrólisis.

- 20 La reducción total del contenido combinado de estaquiosa y rafinosa es casi una función lineal de la concentración de enzimas.

Además, puede observarse que un aumento en la temperatura de 34 °C a 55 °C se corresponde con el mismo efecto a un aumento de dosis por un factor de 2 a 3.

#### 1.2-b. Efecto como una función del tiempo de reacción

- 25 Los resultados enumerados en la siguiente tabla se obtuvieron con una dosis de 0,05 % de SEBSoy, y a una reacción de temperatura de 55 °C, a 45 % de DM:

Tiempo de reacción en horas	Estaquiosa	Rafinosa	Estaquiosa + rafinosa
4	3,5 0%	4,00 %	7,50 %
8	0,75 %	2,00 %	2,75 %
16	<0,25 %	0,75 %	<1,00 %

A partir de los resultados puede observarse que cada aumento del tiempo de reacción por un factor de 2 reduce el contenido combinado de estaquiosa y rafinosa por un factor de casi 3.



1.2-c. Efecto como una función del contenido de materia seca en la mezcla de reacción

Los resultados enumerados en la siguiente tabla se obtuvieron con una dosis de 0,25 % de SEBSoy, y a un tiempo de reacción de 4 horas a una temperatura de 55 °C:

Materia seca en % en peso	Estaquiosa	Rafinosa	Estaquiosa + refinosa
50	0,25 %	1,00 %	1,25 %
55	0,50 %	1,25 %	1,75 %
60	0,75 %	1,50 %	2,25 %
65	1,50 %	1,75 %	3,25 %

- 5 A partir de los resultados puede observarse que hay un aumento en el contenido total de estaquiosa y refinosa como una función de materia seca y en el intervalo del 50 al 60 % el aumento es equidistante.

Ejemplo 2

Hidrólisis enzimática en un proceso a escala de laboratorio de una biomasa que comprende oligosacáridos de guisantes

2.1 Materiales y métodos:

- 10 La hidrólisis enzimática de los oligosacáridos estaquiosa, refinosa y verbascosa se realizó en 10 g de una biomasa de guisante molido y agua que contiene la enzima  $\alpha$ -galactosidasa añadida en una cantidad para alcanzar un contenido de materia seca (DM) de la mezcla de 50 %, y una cierta concentración de enzimas.

La preparación de enzima y el método usado fueron como se describió en el Ejemplo 1 bajo el párrafo 1.1

2.2 Resultados:

- 15 2.2 Respuesta de dosis a diferentes temperaturas

Los resultados enumerados en las siguientes tablas se obtuvieron después de un tiempo de reacción de 4 horas, a 50 % de DM:

Dosis de SEBSoy	Temperatura 34 °C			
	Estaquiosa	Rafinosa	Verbascosa	Oligosacáridos totales
Referencia	4,5 %	0,5 %	3,0 %	8,0 %
0,05 %	3,5 %	2,0 %	2,5 %	8,0 %
0,10 %	3,0 %	3,0 %	2,0 %	8,0 %
0,25 %	2,0 %	2,0 %	1,5 %	5,5 %
0,50 %	0,5 %	1,5 %	0,5 %	2,5 %

- 20 A partir de los resultados puede observarse que el usar un tiempo de reacción de 4 horas a 34 °C requiere una dosis del 0,25 % para conseguir una reducción del contenido total de oligosacáridos.

Dosis de SEBSoy	Temperatura 55 °C
-----------------	-------------------

## ES 2 594 811 T3

	Estaquiosa	Rafinosa	Verbascosa	Oligosacáridos totales
Referencia	4,5 %	0,5 %	3,0 %	8,0 %
0,05 %	2,0 %	1,5 %	1,5 %	5,0 %
0,10 %	0,5 %	1,5 %	0,5 %	2,5 %
0,25 %	<0,25 %	0,25 %	<0,25 %	<0,75 %
0,50 %	<0,25 %	<0,25 %	<0,25 %	<0,75 %

A partir de los resultados puede observarse que usando un tiempo de reacción de 4 horas a 55 °C se requiere una dosis de solo el 0,05 % para conseguir una reducción del contenido total de oligosacáridos. Esto se corresponde con un aumento en la actividad enzimática por un factor de aproximadamente cinco cuando la temperatura de reacción se eleva desde 34 °C hasta 55 °.

### Ejemplo 3

Hidrólisis enzimática en un proceso discontinuo de una biomasa que comprende oligosacáridos y proteínas de soja

#### 3.1 Materiales y métodos:

Se alimentaron 200 kg de copos de soja de los que se eliminaron los disolventes instantáneamente a un transportador de husillo de un solo álabe cerrado capaz de transportar, levantar y mezclar el material. Al mismo tiempo se añadieron 170 litros de agua y 200 ml de enzima SEBSoy 5.0 L (0,1 % de dosis de una preparación que tiene una actividad de 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa por g de producto enzimático) para alcanzar un contenido de materia seca de aproximadamente el 50 % en peso en la mezcla.

La mezcla se hidrolizó durante 16 horas a 34 °C y se secó a un contenido de agua del 5,6 %. Los extractos acuosos de la biomasa se analizaron para el contenido de hidratos de carbono por el método de ácido sulfúrico fenólico y los oligosacáridos se cuantificaron después de la separación por CCF (Carbohydrate analysis - A practical approach; IRL Press, Oxford. Ed. M.F. Chaplan & J.F. Kennedy, 1986).

#### 3.2 Resultados:

Los resultados se tabulan a continuación:

Objeto	Valores analíticos
Proteína en DM	59,6 %
Hidratos de carbono solubles	10,3 %
Estaquiosa	<0,25 %
Rafinosa	<0,25 %

A partir de los resultados puede observarse que un producto de la invención tiene un contenido de proteína de aproximadamente el 60 % en peso de materia seca y un bajo contenido de oligosacáridos.

### Ejemplo 4

Hidrólisis enzimática y fermentación por diferentes levaduras en un proceso discontinuo de una biomasa que comprende oligosacáridos y proteínas de soja

#### 4.1 Materiales y métodos:

Se alimentaron 200 kg de copos de soja de los que se eliminaron los disolventes instantáneamente a un transportador de husillo de un solo álabe cerrado capaz de transportar, levantar y mezclar el material. Al mismo tiempo se añadieron 170 litros de agua y una suspensión de levadura de cerveza usada o levadura de panificación y 200 ml de enzima SEBSoy 5.0 L (0,1 % de dosis de una preparación que tiene una actividad de 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa por g del producto enzimático) para alcanzar un contenido de materia seca de aproximadamente el 50 % en peso en la mezcla.

Las dos mezclas se hidrolizaron durante 16 horas a 34 °C y se secaron hasta un contenido de materia seca de 95 ± 0,3 %.

El producto se analizó como en el ejemplo previo.

4.2 Resultados:

5 Los resultados se tabulan a continuación:

Objeto	Valores analíticos	
	Proceso con 3,5 % de levadura de cerveza usada añadida	Proceso con 1,0 % de levadura de panificación añadida
Proteína en DM	62,2 %	61,9 %
Hidratos de carbono solubles	8,2 %	7,2 %
Estaquiosa	<0,25	<0,25 %
Rafinosa	<0,25	<0,25 %

A partir de los resultados puede observarse que un producto de la invención tiene un contenido de proteína ligeramente mayor que el 60 % en peso de materia seca cuando el proceso se realiza con fermentación de levadura. El producto resultante tiene un bajo contenido de oligosacáridos.

10 Ejemplo 5

Hidrólisis enzimática comparativa en un proceso a escala de laboratorio de una biomasa que comprende oligosacáridos de soja

En este ejemplo se ilustran los efectos de la reducción de oligosacáridos por  $\alpha$ -galactosidasa bajo los parámetros de procesamiento (temperatura y materia seca) de la presente invención contra aquellos del documento WO 2009/143591.

15 En el documento WO 2009/143591 se reivindica que el contenido de agua es como máximo del 35 % o mejor del 30 % o incluso mejor del 25 %. Se menciona que la temperatura óptima para la hidrólisis enzimática está entre 60 y 80 °C.

5.1 Materiales y métodos:

20 La hidrólisis enzimática de los oligosacáridos estaquiosa y rafinosa se realizó en 10 g de una biomasa de soja desgrasada y harina de soja de grasa completa y agua que contiene la enzima  $\alpha$ -galactosidasa añadida en una cantidad para alcanzar un cierto contenido de materia seca (DM) de la mezcla, y una cierta concentración de enzimas.

La mezcla se realizó para asegurar la homogeneidad de la mezcla.

Las enzimas usadas en concentraciones variables basadas en la materia seca de soja desgrasada o de harina de soja fueron productos comerciales disponibles de Advanced Enzyme Technologies, Maharashtra, India, comercializados con el nombre comercial SEBSoy, y  $\alpha$ -galactosidasa de Enzyme Development Corporation (EDC) New York, EE.UU.

25 La actividad de las preparaciones de enzima se normalizó a 5.000 U/g.

La hidrólisis enzimática se realizó en pequeños recipientes de vidrio a 55 °C o 70 °C durante 4 y 16 horas, seguido por tratamiento térmico a 100 °C para inactivar la enzima.

30 Después de que se terminara la hidrólisis enzimática, el contenido de hidratos de carbono solubles se extrajo agitando una suspensión acuosa de una suspensión de 10 % de DM durante 30 minutos, seguido por centrifugación durante 10 minutos a 3.000 x g.

Se analizó el contenido de mono- y oligosacáridos en los extractos acuosos de la biomasa por cromatografía de capa fina en placas de gel de sílice 60 de CCF (Merck). Los diferentes componentes se cuantificaron por comparación con patrones de concentración conocida (*Carbohydrate analysis - A practical approach*; IRL Press, Oxford. Ed. M.F. Chaplan & J.F. Kennedy, 1986).

35 5.2 Resultados:

A. Parámetros de la presente invención: DM 45 %, temperatura 55 °C y tiempo de reacción 16 horas

Biomasa	Enzima	Estaquirosa	Rafinosa	Estaquirosa + rafinosa	Reducción de oligosacáridos en %
Soja desgrasada	-	6,0 %	3,0 %	9,0 %	0
Soja desgrasada	0,05 % de SEBSoy	< 0,25 %	0,75 %	< 1,0 %	> 89
Soja desgrasada	0,05 % de EDC	< 0,25 %	0,5 %	< 0,75 %	> 92
Soja con grasa completa	-	5,0 %	2,0 %	7,0 %	0
Soja con grasa completa	0,05 % de SEBSoy	< 0,25 %	0,5 %	< 0,75 %	> 89
Soja con grasa completa	0,05 % de EDC	< 0,25 %	< 0,25 %	< 0,5 %	> 92

5 A partir de los resultados puede observarse que en los parámetros de procesamiento de la presente invención, la reducción de oligosacáridos en la biomasa es mayor del 89 % después de un tiempo de reacción de 16 horas a una dosis enzimática del 0,05 %.

B. Parámetros de la presente invención: DM 45 %, temperatura 55 °C y tiempo de reacción 4 horas

Biomasa	Enzima	Estaquirosa	Rafinosa	Estaquirosa + rafinosa	Reducción de oligosacáridos en %
Soja desgrasada	-	6,0 %	3,0 %	9,0 %	0
Soja desgrasada	0,25 % de SEBSoy	< 0,25 %	< 0,25 %	< 0,5 %	>94
Soja desgrasada	0,25 % de EDC	< 0,25 %	< 0,25 %	< 0,5 %	>94
Soja con grasa completa	-	5,0 %	2,0 %	7,0 %	0
Soja con grasa completa	0,25 % de SEBSoy	< 0,25 %	< 0,25 %	< 0,5 %	>93
Soja con grasa completa	0,25 % de EDC	< 0,25 %	< 0,25 %	< 0,5 %	>93

10 A partir de los resultados puede observarse que en los parámetros de procesamiento de la presente invención la reducción de oligosacáridos en la biomasa es mayor del 93 % después de un tiempo de reacción de 4 horas a una dosis enzimática del 0,25 %.

C. Parámetros del documento WO 2009/143591: DM 70 %, temperatura 70 °C y tiempo de reacción 4 horas

Biomasa	Enzima	Estaquirosa	Rafinosa	Estaquirosa + rafinosa	Reducción de oligosacáridos en %
Soja desgrasada	-	6,0 %	3,0 %	9,0 %	0
Soja desgrasada	0,25 % de SEBSoy	4,0 %	3,0 %	7,0 %	22
Soja desgrasada	0,25 % de EDC	2,5 %	3,0 %	5,5 %	39
Soja con grasa completa	-	5,0 %	2,0 %	7,0 %	0
Soja con grasa completa	0,25 % de SEBSoy	3,0 %	2,5 %	5,5 %	21
Soja con grasa completa	0,25 % de EDC	3,0 %	2,0 %	5,0 %	28

A partir de los resultados puede observarse que en los parámetros de procesamiento del documento WO 2009/143591 la reducción de oligosacáridos en la biomasa se encuentra en el intervalo del 21 - 39 % después de un tiempo de reacción de 4 horas a una dosis enzimática del 0,25 %.

## D. Parámetros del documento WO 2009/143591: DM 70 %, temperatura 70 °C y tiempo de reacción 16 horas

Biomasa	Enzima	Estaquiosa	Rafinosa	Estaquiosa + rafinosa	Reducción de oligosacáridos en %
Soja desgrasada	-	6,0 %	3,0 %	9,0 %	0
Soja desgrasada	0,05 % de SEBSoy	6,0 %	3,0 %	9,0 %	0
Soja desgrasada	0,05 % de EDC	3,5 %	3,0 %	6,5 %	28
Soja con grasa completa	-	5,0 %	2,0 %	7,0 %	0
Soja con grasa completa	0,05 % de SEBSoy	5,0 %	2,0 %	7,0 %	0
Soja con grasa completa	0,05 % de EDC	4,0 %	2,0 %	6,0 %	14

5 A partir de los resultados puede observarse que en los parámetros de procesamiento del documento WO 2009/143591 la reducción de oligosacáridos en la biomasa se encuentra en el intervalo del 0 - 28 % después de un tiempo de reacción de 16 horas a una dosis enzimática del 0,05 %.

## 5.3 Conclusión:

10 A partir de los resultados es evidente que los parámetros de procesamiento usados en el documento WO 2009/143591 (temperatura y contenido de materia seca) no son capaces de producir la transformación del 80 % o más de los oligosacáridos presentes en una biomasa que se origina a partir de soja; así, no es posible obtener el nivel elevado de degradación en mono- y disacáridos digeribles como puede obtenerse por el método de la invención.

## REIVINDICACIONES

1. Un método para la producción de un bioproducto sólido, en el que al menos el 80 % del contenido de oligosacárido indigerible original se ha degradado en mono- y disacáridos digeribles, que comprende las siguientes etapas:
- 5 1) proporcionar una mezcla de biomasa molida o en copos o de otra forma desintegrada, que comprende oligosacáridos y opcionalmente polisacáridos, y que además comprende partes de plantas proteináceas, agua y una o más preparaciones de enzima que contienen  $\alpha$ -galactosidasa(s);
- 2) hacer reaccionar la mezcla resultante de la etapa (1) con mezcla continua y bajo condiciones en las que el contenido de agua en la mezcla inicial no supera el 65 % en peso, durante 0,15-36 horas a una temperatura de aproximadamente 20-65 °C;
- 10 3) incubar la mezcla reaccionada de la etapa (2) a una temperatura y en un periodo de tiempo que inactiven dicha(s)  $\alpha$ -galactosidasa(s).
2. Método según la reivindicación 1, que comprende además que hongos y/o bacterias se añaden a la biomasa en una cantidad que produce una relación de materia seca de hongos/bacterias con respecto a la biomasa de 1:2 a 1:400, en el que dicha incubación en la etapa (3) se lleva a cabo a una temperatura y en un periodo de tiempo que inactivan dicha(s)
- 15  $\alpha$ -galactosidasa(s) y hongos y/o bacterias.
3. Método según la reivindicación 2, en el que dicha reacción en la etapa (2) se realiza bajo condiciones anaerobias y/o aerobias.
4. Método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la cantidad de dicha(s) preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa es del 0,001 al 1,0 % en peso de la materia seca de la biomasa en la mezcla inicial en la que la(s) preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa están teniendo una actividad de 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa por g del producto enzimático, y/o dicha reacción en la etapa (2) se realiza bajo condiciones en las que el contenido de agua en la mezcla inicial es del 30 al 65 % en peso.
- 20 5. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que comprende además que dicha reacción en la etapa (2) se realiza en uno o más transportadores no verticales de husillo con paletas interconectadas o de husillo continuo con medios de entrada para la mezcla de reacción y aditivos y medios de salida para el producto, así como medios de control para la velocidad de rotación, temperatura y pH, o en una mezcladora de tornillo vertical, por ejemplo, una mezcladora Nauta.
- 25 6. Método según la reivindicación 5, en el que el transportador de husillo continuo es un tipo opcionalmente modificado de un transportador de tornillo de un solo álabe o varios álaves o de tornillo cruzado diseñado para transportar la mezcla de reacción y al mismo tiempo elevar el material de modo que se transporte y se agite sin compactarlo.
- 30 7. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que uno o más auxiliares de procesamiento, tales como productos de lúpulo que contienen  $\alpha$ - y  $\beta$ -ácidos de lúpulo, se añaden en cualquiera de las etapas (1) y (2).
8. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 2-7, en el que dicho hongo y/o bacteria es levadura viva seleccionada de entre las cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, que incluyen levadura de cerveza usada y levadura de destilería usada y levaduras usadas a partir de la producción de vino y levadura de panificación, así como cepas de fermentación que fermentan los azúcares C5.
- 35 9. Método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que dichas partes de plantas proteináceas son legumbres, tales como soja, haba, guisante, altramuza, y/o cereales, tales como trigo, y/o semillas, tales como semillas de colza, y/o gramíneas cuyas partes vegetales pueden desgranarse.
- 40 10. Método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que dicha biomasa comprende además aceites y grasas, por ejemplo, a partir de semillas de plantas oleaginosas, por ejemplo, semillas de colza y soja.
11. Método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el bioproducto resultante de la etapa (3) se seca a un contenido de agua de no más del 10 % en peso.
- 45 12. Método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la reacción de la mezcla en la etapa (2) se produce a 20-55 °C.
13. Método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la cantidad de dicha(s) preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa es del 0,25 al 1,0 % en peso de la materia seca de biomasa en la mezcla inicial en la que dicha(s) preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa están teniendo una actividad de 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa por g del producto enzimático, y dicha reacción en la etapa (2) se realiza durante 4-36 horas a una

temperatura de 30-60 °C.

- 5 14. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en el que la cantidad de dicha(s) preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa es del 0,25 al 1,0 % en peso de la materia seca de biomasa en la mezcla inicial en la que dicha(s) preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa están teniendo una actividad de 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa por g del producto enzimático, y dicha reacción en la etapa (2) se realiza durante 4-36 horas a una temperatura de 50-60 °C.
- 10 15. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en el que la cantidad de dicha(s) preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa es del 0,01 al 1,0 % en peso de la materia seca de la biomasa en la mezcla inicial en la que dicha(s) preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa están teniendo una actividad de 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa por g de producto enzimático, y dicha reacción en la etapa (2) se realiza durante 8-36 horas a una temperatura de 50-60 °C.
- 15 16. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en el que la cantidad de dicha(s) preparación (preparaciones) de  $\alpha$ -galactosidasa es de 0,05 al 1,0 % en peso de la materia seca de la biomasa en la mezcla inicial en la que las preparaciones de  $\alpha$ -galactosidasa están teniendo una actividad de 5.000 unidades de  $\alpha$ -galactosidasa por g del producto enzimático, dicha reacción en la etapa (2) se realiza bajo condiciones en las que el contenido de agua en la mezcla inicial es del 40-65 % y a una temperatura de 50-60 °C.
17. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 2-16, en el que el hongo y/o bacteria es levadura viva añadida en una cantidad del 0,25 % al 10 %.
- 20 18. Método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes realizado como un proceso discontinuo, de lotes alimentados o continuo.
19. Un bioproducto sólido obtenible por un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 13 - 18.
20. Un bioproducto sólido obtenible por un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 18, que comprende proteínas vegetales en una cantidad de hasta aproximadamente el 60 % en peso y opcionalmente glicéridos en una cantidad de hasta el 25 % en peso de materia seca.
- 25 21. Bioproducto sólido según la reivindicación 20 que comprende proteínas vegetales en una cantidad de menos de aproximadamente el 60 % en peso.
22. Un bioproducto sólido obtenible por un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 2-18, que comprende proteínas vegetales en una cantidad de hasta aproximadamente el 75 % en peso y opcionalmente glicéridos en una cantidad de hasta el 25 % en peso de materia seca.
- 30 23. Bioproducto sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 19-22, en el que la cantidad total de rafinosa, estaquiosa y verbascosa es menos del 8 % en peso, por ejemplo, menos del 5 % en peso o menos del 2 % en peso.
24. Bioproducto sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 19-23, en el que la cantidad de rafinosa es menos del 3,0 %, por ejemplo, menos del 2 %, menos del 1,5 %, menos de 1 %, menos de 0,75 %, menos de 0,5 % o menos de 0,25 %.
- 35 25. Bioproducto sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 19-24, en el que la cantidad de estaquiosa es menos del 1,0 %, por ejemplo, menos de 0,75 % o menos del 0,5 % o menos del 0,25 %.
26. Uso de un bioproducto según cualquiera de las reivindicaciones 19-25, en un producto alimenticio procesado para consumo humano y/o animal o como un ingrediente que va a usarse en un producto alimenticio o pienso o como un ingrediente de un producto cosmético o farmacéutico o un suplemento nutricional.
- 40 27. Un alimento, pienso, producto cosmético o farmacéutico o un suplemento nutricional que contiene del 1 al 99 % en peso de un bioproducto sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 19-25.