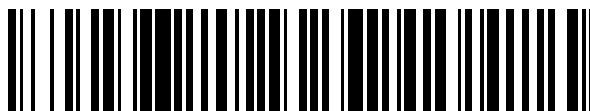


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 651 303**

51 Int. Cl.:

**A23J 1/14** (2006.01)

**A23J 3/16** (2006.01)

**A23L 2/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.06.2010 PCT/CA2010/001017**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.01.2011 WO11000098**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.06.2010 E 10793475 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2017 EP 2482670**

54 Título: **Preparación de aislado de proteína de soja usando extracción de cloruro de calcio ("S703")**

30 Prioridad:

**30.06.2009 US 213647 P**

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

**25.01.2018**

73 Titular/es:

**BURCON NUTRASCIENCE (MB) CORP. (100.0%)  
1388 Waller Avenue  
Winnipeg, Manitoba R3T 1P9, CA**

72 Inventor/es:

**SEGALL, KEVIN, I.;  
SCHWEIZER, MARTIN;  
GREEN, BRENT, E.;  
MEDINA, SARAH y  
GOSNELL, BRANDY**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 651 303 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**

Preparación de aislado de proteína de soja usando extracción de cloruro de calcio ("S703")

Campo de invención

La presente invención se refiere a la preparación de productos de proteína de soja.

- 5 En las Solicitudes de Patentes Provisionales de los Estados Unidos Nos. 61/107,112 (7865-373) presentada el 21 de octubre de 2008, 611193,457 (7865-374) presentada el 2 de diciembre de 2008, 611202,070 (7865-376) presentada el 26 de enero de 2009, 611202,553 presentada el 12 de marzo de 2009 (7865-383), 611213,717 (7865389) presentada el 7 de julio de 2009, 61/272,241 (7865-400) presentada el 3 de septiembre de 2009 y la Solicitud de la Patente de los Estados Unidos No. 12/603,087 (7865-415) presentada el 21 de octubre de 2009 (Publicación de la Patente de los Estados Unidos No. 2010-0098818), asignada al cesionario de la misma, se describe la preparación de un producto de proteína de soja, preferiblemente un aislado de proteína de soja, que es completamente soluble y está capaz de proporcionar soluciones transparentes y termoestables a bajos valores de pH. Este producto de proteína de soja se puede usar para el enriquecimiento de proteínas, en particular, refrescos y bebidas deportivas, así como otros sistemas acuosos ácidos, sin precipitación de proteína. El producto de proteína de soja se produce extrayendo una fuente de proteína de soja con solución acuosa de cloruro de calcio a pH natural, diluyendo opcionalmente la solución acuosa de proteína de soja resultante, ajustando el pH de la solución acuosa de proteína de soja a un pH de aproximadamente 1.5 a aproximadamente 4.4, preferiblemente aproximadamente 2.0 a aproximadamente 4.0, para producir una solución de proteína de soja clara acidificada, que se puede concentrar opcionalmente y/o diafiltrar antes del secado.
- 10
- 15
- 20 El documento EP0752212 describe un procedimiento de preparación de proteínas de semillas de soja fraccionadas poco alergénicas que comprende tratar semillas de soja con una solución acuosa a pH 4 o menos que contiene un ácido seleccionado de ácido sulfúrico, ácido acético y ácido cítrico y, opcionalmente, de 0 a 200 µm de sal o un hidróxido de un metal alcalinotérreo para formar una fracción de precipitación, eliminar la fracción de precipitación y recoger una fracción sobrenadante. También se describen alimentos que contienen la proteína de semillas de soja fraccionada obtenida
- 25

Resumen de la invención

Ahora se ha encontrado sorprendentemente que un producto de proteína de soja que tiene un contenido de proteína de al menos 60% en peso (N x 6.25) d.b. se puede formar mediante un procedimiento que implica la extracción de la fuente de proteína de soja con cloruro de calcio a bajos valores de pH.

- 30 En un aspecto de la presente invención, un material fuente de proteína de soja se extrae con solución acuosa de cloruro de calcio a pH bajo y la solución acuosa de proteína de soja resultante se diluye, se ajusta en pH dentro del intervalo ácido y luego se somete a ultrafiltración y opcional diafiltración para proporcionar una solución de proteína de soja concentrada y opcionalmente diafiltrada, que se puede secar para proporcionar el producto de proteína de soja.
- 35 El producto de proteína de soja proporcionado por el procedimiento de la presente invención, que tiene un contenido de proteína de al menos 60% en peso (N x 6.25) d.b., es soluble a valores de pH ácido para proporcionar soluciones acuosas transparentes y termoestables de los mismos. El producto de proteína de soja se puede usar para el enriquecimiento de proteínas, en particular, refrescos y bebidas deportivas, así como otros sistemas acuosos sin precipitación de proteína. El producto de proteína de soja es preferiblemente un aislado que tiene un contenido de proteína de al menos 90% en peso, preferiblemente al menos 100% en peso (N x 6.25) d.b.
- 40

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento de producción de un producto de proteína de soja que tiene un contenido de proteína de soja de al menos 60% en peso (N x 6.25), en peso seco, que comprende:

- 45 (a) extracción de una fuente de proteína de soja que es harina de soja, hojuelas de soja o harina de soja con solución acuosa de sal de calcio, generalmente solución de cloruro de calcio, a un pH de 1.5 a 5.0 para causar la solubilización de proteína de soja de la fuente de la proteína de soja y para formar una solución acuosa de proteína de soja,
- (b) separación de la solución acuosa de proteína de soja de la fuente de proteína de soja residual,
- 50 (c) dilución de la solución acuosa de proteína de soja con 0.5 a 10 volúmenes de agua a una conductividad de menos de 90 mS
- (d) ajuste del pH de la solución de proteína acuosa a un valor diferente dentro del intervalo de 1.5 a 5.0, a un pH de 2.0 a 4.0,

(e) concentración de la solución de proteína de soja ajustada al pH mientras se mantiene la fuerza iónica sustancialmente constante para producir una solución concentrada de proteína de soja que tenga una concentración de proteína de 50 a 300 g/l,

(f) opcionalmente diafiltrar la solución concentrada de proteína de soja, y

5 (g) secado de la solución de proteína de soja concentrada y opcionalmente diafiltrada para proporcionar un producto de proteína de soja que tiene un contenido de proteína de al menos 60% en peso.

El producto de proteína de soja preferiblemente es un aislado que tiene un contenido de proteína de al menos 90% en peso, preferiblemente al menos 100 % en peso (N x 6.25) d.b.

10 Aunque esta especificación se refiere principalmente a la producción de un aislado de proteína de soja, las etapas de concentración y/o diafiltración descritas en este documento se pueden manipular para producir un producto de proteína de soja de menor pureza, por ejemplo, un concentrado de proteína de soja que tiene un contenido de proteína de al menos 60% en peso, pero que tiene propiedades sustancialmente similares al aislado.

15 El producto de proteína de soja obtenido mediante el procedimiento de la invención se puede mezclar con bebidas en polvo para la formación de refrescos acuosos o bebidas deportivas disolviéndolos en agua. Tal mezcla puede ser una bebida en polvo.

El producto de proteína de soja obtenido mediante el procedimiento de la invención se puede proporcionar como una solución acuosa del mismo que tiene un alto grado de claridad a valores de pH ácido y que es termoestable a estos valores de pH.

20 El producto de proteína de soja obtenido por el procedimiento de la presente invención se puede proporcionar como una solución acuosa, que es termoestable a pH bajo. La solución acuosa puede ser una bebida, que puede ser una bebida clara en la que el producto de proteína de soja es completamente soluble y transparente o una bebida opaca en la que el producto de proteína de soja no aumenta la opacidad. El producto de proteína de soja también tiene buena solubilidad a aproximadamente pH 7. Una solución acuosa del producto de proteína de soja, preparada a un pH casi neutro, tal como un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 8, puede ser una bebida.

25 El producto de proteína de soja producido según el procedimiento de la presente invención carece del sabor característico de soja de los aislados de proteína de soja y es apropiado, no solo para el enriquecimiento proteico de medios ácidos, sino que se puede usar en una amplia variedad de aplicaciones convencionales de aislados de proteínas, que incluyen, pero no se limitan a la fortificación de proteínas de alimentos y bebidas procesados, emulsificación de aceites, como formador de cuerpos en productos horneados y agente espumante en productos que atrapan gases. Además, el producto de proteína de soja puede ser esparcido en fibras de proteína, útil en análogos de carne, y se puede usar como un sustituto o diluyente de clara de huevo en productos alimenticios en los que se usa clara de huevo como aglutinante. El producto de proteína de soja también se puede usar en suplementos nutricionales. Otros usos del producto de proteína de soja son en alimentos para mascotas, alimentación animal y en aplicaciones industriales y cosméticas y en productos para el cuidado personal.

35 Descripción general de la invención

40 La etapa inicial del procedimiento de proporcionar el producto de proteína de soja implica solubilizar la proteína de soja de una fuente de proteína de soja. La fuente de proteína de soja es harina de soja, hojuelas de soja, sémola de soja o harina de soja. La fuente de proteína de soja se puede usar en forma de grasa completa, forma parcialmente desgrasada o forma completamente desgrasada. Cuando la fuente de proteína de soja contiene una cantidad apreciable de grasa, generalmente se requiere una etapa de eliminación de aceite durante el procedimiento. La proteína de soja recuperada de la fuente de proteína de soja puede ser la proteína que se encuentra naturalmente en la soja o el material proteínico puede ser una proteína modificada por manipulación genética pero que posee propiedades hidrófobas y polares características de la proteína natural.

45 La solubilización de proteína a partir del material fuente de proteína de soja se realiza más convenientemente usando solución de cloruro de calcio, aunque se pueden usar soluciones de otras sales de calcio. Además, la extracción de la proteína de soja de la fuente de proteína de soja se puede realizar usando solución de sal de calcio en combinación con otra solución de sal tal como cloruro de sodio.

50 A medida que aumenta la concentración de la solución de sal de calcio, el grado de solubilización de la proteína de la fuente de proteína de soja aumenta inicialmente hasta que se alcanza un valor máximo. Cualquier aumento posterior en la concentración de sal no aumenta la proteína total solubilizada. La concentración de solución de sal de calcio que causa la máxima solubilización de proteína varía dependiendo de la sal en cuestión. Usualmente se prefiere utilizar un valor de concentración menor que 1.0 M, y, más preferiblemente, un valor de 0.10 M a 0.15 M.

## ES 2 651 303 T3

- 5 En un procedimiento discontinuo, la solubilización de la proteína se realiza a una temperatura de aproximadamente 1 °C a aproximadamente 100 °C, preferiblemente de 15 ° a 35 °C, preferiblemente acompañada por agitación para disminuir el tiempo de solubilización, que es usualmente aproximadamente 1 a aproximadamente 60 minutos. Se prefiere realizar la solubilización para extraer sustancialmente tanta proteína de la fuente de proteína de soja como sea posible, para proporcionar un alto rendimiento global del producto.
- 10 En un procedimiento continuo, la extracción de la proteína de soja de la fuente de proteína de soja se lleva a cabo de cualquier manera consistente con realizar una extracción continua de proteína de soja de la fuente de proteína de soja. En una realización, la fuente de proteína de soja se mezcla continuamente con solución salina de calcio y la mezcla se transporta a través de una tubería o conducto que tiene una longitud y una velocidad de flujo durante un tiempo de residencia suficiente para realizar la extracción deseada según los parámetros descritos en este documento. En dicho procedimiento continuo, la etapa de solubilización se realiza rápidamente, en un tiempo de hasta aproximadamente 10 minutos, preferiblemente para realizar la solubilización para extraer sustancialmente tanta proteína de la fuente de proteína de soja como sea posible. La solubilización en el procedimiento continuo se realiza a temperaturas entre aproximadamente 1°C y aproximadamente 100°C, preferiblemente entre 15°C y 35°C.
- 15 La extracción se realiza a un pH de 1.5 a 5.0. El pH del sistema de extracción (fuente de proteína de soja y solución de sal de calcio) se puede ajustar a cualquier valor deseado dentro del intervalo de 1.5 a 5.0 para la etapa de extracción mediante el uso de cualquier ácido de grado alimenticio conveniente, usualmente ácido clorhídrico o ácido fosfórico.
- 20 La concentración de la fuente de proteína de soja en la solución de sal de calcio durante la etapa de solubilización puede variar ampliamente. Los valores de concentración típicos son de aproximadamente 5 a aproximadamente 15% p/v.
- La etapa de extracción de proteína con la solución de sal de calcio acuosa tiene el efecto adicional de solubilizar las grasas que pueden estar presentes en la fuente de proteína de soja, que luego da como resultado que las grasas estén presentes en la fase acuosa.
- 25 La solución de proteína que resulta de la etapa de extracción generalmente tiene una concentración de proteína de 5 a 50 g/l, preferiblemente de 10 a 50 g/l.
- 30 La solución de sal de calcio acuosa puede contener un antioxidante. El antioxidante puede ser cualquier antioxidante conveniente, tal como sulfito de sodio o ácido ascórbico. La cantidad de antioxidante empleado puede variar desde aproximadamente 0.01 a aproximadamente 1% en peso de la solución, preferiblemente aproximadamente 0.05% en peso. El antioxidante sirve para inhibir la oxidación de cualquier compuesto fenólico en la solución de proteína.
- 35 La fase acuosa resultante de la etapa de extracción se puede separar entonces de la fuente de proteína de soja residual, de cualquier manera, conveniente, tal como empleando una centrífuga decantadora, seguido de centrifugación y/o filtración de disco, para eliminar el material residual de la fuente de proteína de soja. La fuente de proteína de soja residual separada se puede secar para su eliminación. Alternativamente, la fuente de proteína de soja residual separada se puede procesar para recuperar alguna proteína residual, tal como mediante un procedimiento de precipitación isoeléctrica convencional o cualquier otro procedimiento conveniente para recuperar dicha proteína residual.
- 40 Cuando la fuente de proteína de soja contiene cantidades significativas de grasa, como se describe en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,844,086 y 6,005,076, asignadas al cesionario de la misma, entonces las etapas de desengrase descritas en esta se pueden realizar en la proteína acuosa separada. Alternativamente, la eliminación de grasa de la solución acuosa de proteína separada se puede lograr mediante cualquier otro procedimiento conveniente.
- 45 La solución acuosa de proteína de soja se puede tratar con un adsorbente, tal como carbón activado en polvo o carbón activado granulado, para eliminar el color y/o los compuestos de olor. Tal tratamiento con adsorbente se puede llevar a cabo en cualquier condición conveniente, generalmente a temperatura ambiente de la solución de proteína acuosa separada. Para el carbono activado en polvo, se emplea una cantidad de aproximadamente 0.025% a aproximadamente 5% p/v, preferiblemente de aproximadamente 0.05% a aproximadamente 2% p/v. El agente adsorbente se puede eliminar de la solución de proteína de soja por cualquier medio conveniente, tal como por filtración.
- 50 La solución acuosa de proteína de soja resultante se diluye con agua en una cantidad de 0.5 a 10 volúmenes, preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 volúmenes, para disminuir la conductividad de la solución acuosa de proteína de soja a un valor de menos de 90 mS, preferiblemente de 4 a 31 mS.
- El agua con la que se mezcla la solución de proteína de soja puede tener una temperatura de 2 ° a 70 °C, preferiblemente de 10 ° a 50 °C, más preferiblemente de 20 ° a 30 °C.

La solución de proteína de soja opcionalmente diluida se ajusta en pH a un valor diferente del pH de extracción, pero todavía dentro del intervalo de 1.5 a 5.0, a un pH de 2.0 a 4.0, mediante la adición de cualquier ácido de grado alimenticio, tal como ácido clorhídrico o ácido fosfórico, o álcali de grado alimenticio, generalmente hidróxido de sodio según sea necesario.

- 5 La solución de proteína de soja ajustada y opcionalmente con pH ajustado tiene una conductividad generalmente inferior a 95 mS, preferiblemente de 4 a 36 mS.

- 10 La solución acuosa de proteína de soja se puede someter a un tratamiento térmico para inactivar factores antinutricionales lábiles al calor, tales como inhibidores de tripsina, presentes en tal solución como resultado de la extracción del material fuente de proteína de soja durante la etapa de extracción. Dicha etapa de calentamiento también proporciona el beneficio adicional de reducir la carga microbiana. En general, la solución de proteína se calienta a una temperatura de 70 ° a 160 °C, preferiblemente de 80 ° a 120 °C, más preferiblemente de 85 °C a 95 °C, durante 10 segundos a 60 minutos, preferiblemente de 30 segundos a 5 minutos. La solución de proteína de soja acidificada tratada térmicamente puede luego enfriarse para un procesamiento adicional como se describe a continuación, a una temperatura de 2°C a 60°C, preferiblemente de 20°C a 35°C.

- 15 La solución acuosa de proteína de soja resultante se podría secar directamente para producir un producto de proteína de soja. Sin embargo, según la presente invención, y para proporcionar un aislado de proteína de soja que tenga un contenido de impurezas reducido y un contenido de sal reducido, la solución acuosa de proteína de soja se procesa antes del secado.

- 20 La solución acuosa de proteína de soja se concentra para aumentar la concentración de proteína de la misma mientras se mantiene la fuerza iónica del mismo sustancialmente constante. Tal concentración generalmente se realiza para proporcionar una solución concentrada de proteína de soja que tiene una concentración de proteína de 50 a 300 g/l, preferiblemente de 100 a 200 g/l.

- 25 Antes de la etapa de concentración, la solución acuosa de proteína de soja se puede someter a una operación de pulido para eliminar cualquier residuo de material de soja residual no eliminado en la etapa de separación discutida anteriormente. Tal etapa de pulido se puede realizar de cualquier manera conveniente, tal como por filtración.

- 30 La etapa de concentración se puede realizar de cualquier manera conveniente consistente con la operación discontinua o continua, tal como empleando cualquier técnica de membrana selectiva conveniente, tal como ultrafiltración o diafiltración, usando membranas, tales como membranas de fibra hueca o membranas enrolladas en espiral, con un corte de peso molecular apropiado, como 3,000 a 1,000,000 dalton, preferiblemente 5,000 a 100,000 dalton, teniendo en cuenta los diferentes materiales y configuraciones de membrana, y, para un funcionamiento continuo, dimensionado para permitir que el grado deseado de concentración como solución acuosa de proteína pase a través de las membranas.

- 35 Como es bien sabido, la ultrafiltración y las técnicas de membrana selectiva similares permiten que las especies de bajo peso molecular pasen a través de ellas, al tiempo que evitan que las especies de mayor peso molecular lo hagan. Las especies de bajo peso molecular incluyen no solo las especies iónicas de la sal de grado alimenticio, sino también materiales de bajo peso molecular extraídos del material de fuente, tales como carbohidratos, pigmentos, proteínas de bajo peso molecular y factores antinutricionales, tales como el inhibidor de la tripsina, que ellos mismos son proteínas de bajo peso molecular. El corte de peso molecular de la membrana se elige usualmente para asegurar la retención de una proporción significativa de la proteína en la solución, al tiempo que permite que los contaminantes pasen teniendo en cuenta los diferentes materiales y las configuraciones de la membrana.

- 40 La solución concentrada de proteína de soja se puede someter entonces a una etapa de diafiltración usando agua o una solución salina diluida. La solución de diafiltración puede estar a su pH natural o a un pH igual al de la solución de proteína que se diafiltra o a cualquier valor de pH entre estas. Tal diafiltración se puede realizar usando de 2 a 40 volúmenes de solución de diafiltración, preferiblemente de 5 a 25 volúmenes de solución de diafiltración. En la operación de diafiltración, se eliminan cantidades adicionales de contaminantes de la solución acuosa de proteína de soja pasando a través de la membrana con el permeado. Esto purifica la solución de proteína acuosa y también puede reducir su viscosidad. La operación de diafiltración se puede realizar hasta que no estén presentes cantidades significativas adicionales de contaminantes o color visible en el permeado o hasta que el retenido haya sido suficientemente purificado para, cuando se haya secado, proporcionar un aislado de proteína de soja con un contenido de proteína de al menos 90% en peso % (N x 6.25) d.b. Tal diafiltración se puede realizar usando la misma membrana que para la etapa de concentración. Sin embargo, si se desea, la etapa de diafiltración se puede realizar usando una membrana separada con un corte de peso molecular diferente, tal como una membrana que tiene un corte de peso molecular en el intervalo de 3,000 a 1,000,000 dalton, preferiblemente de 5,000 a 100,000 dalton, teniendo en cuenta los diferentes materiales y las configuraciones de la membrana.

- 55 La diafiltración también se puede aplicar en puntos múltiples durante el procedimiento de concentración. Cuando se aplica diafiltración antes de la concentración o a la solución parcialmente concentrada, la solución diafiltrada resultante se concentra adicionalmente. La reducción de la viscosidad lograda diafiltrándose múltiples veces a

medida que se concentra la solución de proteína puede permitir que se logre una mayor concentración de proteína final, totalmente concentrada. Esto reduce el volumen de material a secar.

5 La etapa de concentración y la etapa de diafiltración se pueden realizar en este documento de tal manera que el producto de proteína de soja recuperado posteriormente contenga menos de 90% en peso de proteína (N x 6.25) d.b., tal como al menos 60% en peso de proteína (N x 6.25) d.b. Al concentrar parcialmente y/o diafiltrar parcialmente la solución acuosa de proteína de soja, es posible eliminar solo parcialmente los contaminantes. Esta solución de proteína puede luego secarse para proporcionar un producto de proteína de soja con niveles más bajos de pureza. El producto de proteína de soja todavía puede producir soluciones de proteínas claras en condiciones ácidas.

10 Un antioxidante puede estar presente en el medio de diafiltración durante al menos parte de la etapa de diafiltración. El antioxidante puede ser cualquier antioxidante conveniente, tal como sulfito de sodio o ácido ascórbico. La cantidad de antioxidante empleada en el medio de diafiltración depende de los materiales empleados y puede variar desde aproximadamente 0.01 a aproximadamente 1% en peso, preferiblemente aproximadamente 0.05% en peso. El antioxidante sirve para inhibir la oxidación de cualquier fenol presente en la solución concentrada de proteína de soja.

15 La etapa de concentración y la etapa de diafiltración opcional se pueden realizar a cualquier temperatura conveniente, generalmente de 2 °C a 60 °C, preferiblemente de 20 °C a 35 °C, y durante el período de tiempo para realizar el grado de concentración deseado y la diafiltración. La temperatura y otras condiciones utilizadas hasta cierto punto dependen del equipo de membrana utilizado para realizar el procesamiento de la membrana, la concentración de proteína deseada de la solución y la eficacia de la eliminación de contaminantes en el permeado.

20 Hay dos inhibidores de tripsina principales en la soja, a saber, el inhibidor de Kunitz, que es una molécula lábil al calor con un peso molecular de aproximadamente 21,000 Dalton, y el inhibidor de Bowman-Birk, una molécula más termoestable con un peso molecular de aproximadamente 8,000 Dalton. El nivel de actividad inhibidora de tripsina en el producto final de proteína de soja puede controlarse mediante la manipulación de diversas variables de procedimiento.

25 Como se indicó anteriormente, el tratamiento térmico de la solución acuosa de proteína de soja se puede usar para inactivar los inhibidores de la tripsina lábiles al calor. La solución de proteína de soja parcialmente concentrada o totalmente concentrada también se puede tratar térmicamente para inactivar los inhibidores de tripsina lábiles al calor.

30 Además, las etapas de concentración y/o diafiltración se pueden operar de una manera favorable para la eliminación de inhibidores de tripsina en el permeado junto con los otros contaminantes. La eliminación de los inhibidores de tripsina se promueve usando una membrana de mayor tamaño de poro (tal como aproximadamente 30,000 a aproximadamente 1,000,000 Da), operando la membrana a temperaturas elevadas (tales como aproximadamente 30 °C a aproximadamente 60 °C) y empleando mayores volúmenes de medio de diafiltración (tal como de aproximadamente 20 a aproximadamente 40 volúmenes).

35 La extracción y/o el procesamiento de la membrana de la solución de proteína a un pH inferior (1.5-3.0) puede reducir la actividad del inhibidor de la tripsina en relación con el procesamiento de la solución a un pH superior (3.0-5.0). Cuando la solución de proteína se concentra y se diafiltra en el extremo inferior del intervalo de pH, se puede desear elevar el pH del retenido antes del secado. El pH de la solución de proteína concentrada y diafiltrada se puede elevar al valor deseado, por ejemplo, pH 3, mediante la adición de cualquier álcali de grado alimenticio tal como hidróxido de sodio. Si se desea reducir el pH del retenido antes del secado, esto se puede hacer mediante la adición de cualquier ácido de grado alimenticio conveniente, tal como ácido clorhídrico o ácido fosfórico.

40 Además, se puede lograr una reducción en la actividad del inhibidor de la tripsina exponiendo materiales de soja a agentes reductores que alteran o reordenan los enlaces disulfuro de los inhibidores. Los agentes reductores apropiados incluyen sulfito de sodio, cisteína y N-acetilcisteína.

45 La adición de tales agentes reductores se puede realizar en diversas etapas del procedimiento global. El agente reductor se puede adicionar con el material fuente de proteína de soja en la etapa de extracción, se puede adicionar a la solución acuosa de proteína de soja clarificada después de eliminar el material fuente de proteína de soja residual, se puede adicionar a la solución de proteína concentrada antes o después de la diafiltración o se puede mezclar en seco con el producto de proteína de soja seco. La adición del agente reductor se puede combinar con una etapa de tratamiento térmico y las etapas de procesamiento de la membrana, como se describió anteriormente.

50 Si se desea retener los inhibidores de tripsina activos en la solución de proteína concentrada, esto se puede lograr eliminando o reduciendo la intensidad del etapa de tratamiento térmico, sin utilizar agentes reductores, operando las etapas de concentración y diafiltración en el extremo superior del intervalo de pH (3.0 a 5.0), usando una membrana de concentración y diafiltración con un tamaño de poro más pequeño, operando la membrana a temperaturas más bajas y empleando menos volúmenes de medio de diafiltración.

55

La solución de proteína concentrada y opcionalmente diafiltrada se puede someter a una operación de desengrase adicional, si se requiere, como se describe en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,844,086 y 6,005,076. Alternativamente, la eliminación de grasa de la solución de proteína concentrada y opcionalmente diafiltrada se puede lograr mediante cualquier otro procedimiento conveniente.

5 La solución de proteína acuosa concentrada y diafiltrada se puede tratar con un adsorbente, tal como carbón activado en polvo o carbón activado granulado, para eliminar compuestos de color y/u olor. Tal tratamiento adsorbente se puede llevar a cabo en cualquier condición conveniente, generalmente a la temperatura ambiente de la solución de proteína concentrada. Para el carbono activado en polvo, se emplea una cantidad de aproximadamente 0.025% a aproximadamente 5% p/v, preferiblemente de aproximadamente 0.05% a  
10 aproximadamente 2% p/v. El adsorbente se puede eliminar de la solución de proteína de soja por cualquier medio conveniente, tal como por filtración.

La solución acuosa de proteína de soja concentrada y diafiltrada se puede secar mediante cualquier técnica conveniente, tal como secado por pulverización o liofilización. Se puede realizar una etapa de pasteurización en la solución de proteína de soja antes del secado para reducir la carga microbiana. Tal etapa de pasteurización se  
15 puede realizar en cualquier condición de pasteurización deseada. Generalmente, la solución de proteína de soja concentrada y opcionalmente diafiltrada se calienta a una temperatura de 55 ° a 70 °C, preferiblemente de 60 ° a 65 °C, durante 30 segundos a 60 minutos, preferiblemente de 10 minutos a 15 minutos. La solución concentrada de proteína de soja y diafiltrada pasteurizada luego se puede enfriar para el secado, preferiblemente a una temperatura de aproximadamente 25 ° a aproximadamente 40 °C.

20 El producto de proteína de soja seco tiene un contenido de proteína superior al 60% en peso (N x 6,25) d.b. Preferiblemente, el producto de proteína de soja seco es un aislado con un alto contenido de proteína, en exceso de 90% en peso de proteína, preferiblemente al menos 100% en peso (N x 6.25) d.b.

Los productos de proteína de soja producidos por el procedimiento de la presente invención son solubles en un entorno acuoso ácido, lo que hace que el producto sea ideal para la incorporación en bebidas, tanto carbonatadas  
25 como no carbonatadas, para proporcionar fortificación de proteínas a las mismas. Tales bebidas tienen una amplia gama de valores de pH ácido, que varían desde aproximadamente 2.5 a aproximadamente 5. Los productos de proteína de soja se pueden adicionar a tales bebidas en cualquier cantidad conveniente para proporcionar fortificación de proteínas a tales bebidas, por ejemplo, al menos aproximadamente 5 g de la proteína de soja por porción. El producto de proteína de soja adicionado se disuelve en la bebida y no perjudica la claridad de la bebida,  
30 incluso después del procesamiento térmico. El producto de proteína de soja se puede mezclar con bebida seca antes de la reconstitución de la bebida por disolución en agua. En algunos casos, la modificación de la formulación normal de las bebidas para tolerar la composición de la invención puede ser necesaria cuando los componentes presentes en la bebida pueden afectar negativamente a la capacidad de la composición para permanecer disuelta en la bebida.

### 35 Ejemplos

#### Ejemplo comparativo 1:

Este ejemplo comparativo ilustra la preparación de soluciones de proteínas transparentes, termoestables que utilizan extracción con solución de cloruro de calcio a pH bajo, que es útil para comprender la presente invención.

40 Se combinaron hojuelas blancas de soja (10 g) con una solución de cloruro de calcio 0.15 M (100 ml) y el pH de las muestras se ajustó inmediatamente a 4.8 y 1.5 con HCl. Las muestras se extrajeron a temperatura ambiente durante 30 minutos usando un agitador magnético. El pH de las muestras se controló y ajustó dos veces durante la extracción de 30 minutos. El extracto se separó de la harina agotada mediante centrifugación a 10,200 g durante 10 minutos y los concentrados se clarificaron adicionalmente mediante filtración usando papel de filtro de 25 µm de tamaño de poro. La claridad de los filtrados se midió usando un HunterLab ColorQuest XE operado en modo de  
45 transmisión para suministrar una lectura de porcentaje de turbidez. Las muestras se diluyeron luego con un volumen de agua purificada por ósmosis inversa y el nivel de turbidez se midió de nuevo. El pH de las muestras diluidas se ajustó entonces a 3 usando ya sea HCl o NaOH según sea necesario. El nivel de turbidez de las muestras ajustadas al pH se analizó a continuación. Luego las muestras se trataron térmicamente a 95 °C, durante 30 segundos, se enfriaron inmediatamente a temperatura ambiente en agua helada y se volvió a evaluar el nivel de turbidez.

50 Los valores de turbidez determinados para las diversas muestras se muestran en las tablas 1 y 2.

Tabla 1 - Valores de turbidez para el tratamiento de muestras de extracción con solución de cloruro de calcio a pH 1.5

muestra	turbidez (%)
filtrado	27.8
filtrado diluido	17.1
filtrado diluido a pH 3	16.8
filtrado diluido a pH 3 después del tratamiento térmico	10.4

5 Tabla 2 - Valores de turbidez para el tratamiento de muestras de extracción con solución de cloruro de calcio a pH 4.8

muestra	turbidez (%)
filtrado	36.2
filtrado diluido	99.1
filtrado diluido a pH 3	8.4
filtrado diluido a pH 3 después del tratamiento térmico	6.0

10 Como se puede ver a partir de los resultados presentados en las tablas 1 y 2, los filtrados iniciales fueron algo turbios, sin embargo, se pudo haber obtenido una claridad mejorada usando un filtro más fino. La dilución con un volumen de agua mejoró la claridad de la muestra de pH 1.5 pero introdujo la precipitación en la muestra de pH 4.8. Al ajuste del pH de las muestras diluidas a 3 se obtuvo una buena claridad para la muestra que originalmente tenía un pH de 4.8, mientras que la muestra que originalmente tenía un pH de 1.5 tenía una ligera turbidez. Después del tratamiento térmico ambas muestras se consideraron claras.

**Ejemplo comparativo 2:**

15 Este ejemplo comparativo ilustra la preparación de un aislado de proteína de soja útil para comprender la presente invención.

20 Se añadieron 20 kg de harina de soja desgrasada, mínimamente tratada térmicamente a 200 l de solución de cloruro de calcio 0.15 M a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos para proporcionar una solución de proteína acuosa. Inmediatamente después de dispersar la harina en la solución de cloruro de calcio, el pH del sistema se ajustó a 3 mediante la adición de HCl diluido. El pH se controló y se corrigió a 3 periódicamente durante el transcurso de la extracción de 30 minutos. La harina de soja residual se eliminó por centrifugación para producir 174 l de solución de proteína que tenía un contenido de proteína de 3.37% en peso. La solución de proteína se combinó luego con 174 l de agua purificada por ósmosis inversa y el pH se corrigió a 3. Esta solución luego se pulió por filtración para producir 385 l de solución de proteína filtrada que tenía un contenido de proteína de 1.21 % en peso.

25 La solución de proteína filtrada se redujo en volumen a 25 l por concentración en una membrana de PVDF que tenía un corte de peso molecular de 5,000 dalton. La solución de proteína concentrada se diafiltró a continuación con 125 l de agua purificada por ósmosis inversa. La solución de proteína concentrada diafiltrada resultante tenía un contenido de proteína de 14.51% en peso y representaba un rendimiento de 81.3% en peso de la solución de proteína filtrada. La solución de proteína concentrada diafiltrada se secó luego para producir un producto que se encontró que tenía un contenido de proteína de 99.18% (N x 6.25) d.b. El producto se denominó S005- A13-09A S703.

30 Se preparó una solución de 3.2% en peso de proteína de S005-A13-09A S703 en agua y se evaluó el color y la claridad usando un instrumento HunterLab Color Quest XE operado en modo de transmisión. El pH de la solución se midió con un medidor de pH.

Los valores de pH, color y claridad se establecen en la siguiente tabla 3:



Tabla 3 – puntuaciones de pH y HunterLab para solución de proteína al 3.2% de S005-A13-09A S703

muestra	pH	L *	a *	b *	turbidez (%)
S703	3.12	87.31	0.67	18.99	43.9

5 Como se puede ver a partir de la tabla 3, la solución de S703 en agua era semitransparente, no transparente. El nivel relativamente alto de turbidez en esta muestra dio como resultado que el valor de L\* fuera algo menor de lo esperado.

El color del polvo seco también se evaluó con el instrumento HunterLab Color Quest XE en modo de reflectancia. Los valores de color se establecen en la siguiente tabla 4:

Tabla 4 - Puntuaciones de HunterLab para polvo seco S005-A13-09A S703

muestra	L *	a *	b *
S703	85.67	0.05	10.57

10 Como se puede ver a partir de la tabla 4, el producto seco era de color muy claro.

**Ejemplo comparativo 3:**

Este ejemplo comparativo contiene una evaluación de la estabilidad térmica en agua del aislado de proteína de soja producido por el procedimiento del ejemplo comparativo 2 (S703).

15 Se produjo una solución de proteína al 2% p/v de S005-A13-09A S703 en agua y el pH se ajustó a 3. La claridad de esta solución se evaluó mediante la medición de turbidez con el instrumento HunterLab Color Quest XE. La solución luego se calentó a 95 °C, se mantuvo a esta temperatura durante 30 segundos y luego se enfrió inmediatamente a temperatura ambiente en un baño de hielo. La claridad de la solución tratada térmicamente se midió de nuevo.

La claridad de la solución de proteína antes y después del calentamiento se expone en la siguiente tabla 5:

Tabla 5 - Efecto del tratamiento térmico sobre la claridad de la solución S005-A13-09A 8703

muestra	turbidez (%)
antes de calentar	43.6
después de calentar	30.7

20 Como se puede ver a partir de los resultados en la tabla 5, se encontró que la solución inicial de S005-A13-09A S703 era bastante turbia. Sin embargo, la solución era termoestable, con el nivel de turbidez realmente reducido en cierta medida por el tratamiento térmico.

**Ejemplo comparativo 4:**

25 Este ejemplo comparativo contiene una evaluación de la solubilidad en agua del aislado de proteína de soja producido por el procedimiento del ejemplo comparativo 2 (S703). La solubilidad se probó basándose en la solubilidad de la proteína (denominado procedimiento de proteína, una versión modificada del procedimiento de Morr et al., J. Food Sci. 50:1715-1718) y la solubilidad total del producto (denominado procedimiento de pellas).

30 Se pesó suficiente proteína en polvo para suministrar 0.5 g de proteína en un vaso de precipitados y luego se adicionó una pequeña cantidad de agua purificada por ósmosis inversa (RO) y la mezcla se agitó hasta que se formó una pasta suave. Luego se adicionó agua adicional para llevar el volumen a aproximadamente 45 ml. El contenido del vaso de precipitados se agitó luego lentamente durante 60 minutos usando un agitador magnético. El pH se determinó inmediatamente después de dispersar la proteína y se ajustó al nivel apropiado (2, 3, 4, 5, 6 o 7) con NaOH o HCl diluido. También se preparó una muestra a pH natural. Para las muestras ajustadas al pH, el pH se midió y corrigió dos veces durante los 60 minutos de agitación. Después de los 60 minutos de agitación, las muestras se prepararon hasta 50 ml de volumen total con agua RO, produciendo una dispersión de proteína al 1%

35

5 p/v. El contenido de proteína de las dispersiones se midió usando un determinador de nitrógeno Leco FP528. Se transfirieron luego alícuotas (20 ml) de las dispersiones a tubos de centrifuga previamente pesados que se habían secado durante la noche en un horno a 100 °C, luego se habían enfriado en un desecador y se habían tapado los tubos. Las muestras se centrifugaron a 7800 g durante 10 minutos, lo que sedimentó material insoluble y produjo un sobrenadante transparente. El contenido de proteína del sobrenadante se midió por análisis de Leco y luego el sobrenadante y las tapas de los tubos se descartaron y el material de pellas se secó durante la noche en un horno ajustado a 100 °C. A la mañana siguiente, los tubos se transfirieron a un desecador y se dejaron enfriar. Se registró el peso del material de pellas secas. El peso seco del polvo de proteína inicial se calculó multiplicando el peso del polvo utilizado por un factor de  $((100 - \text{contenido de humedad del polvo (\%)})/100)$ . A continuación, la solubilidad del producto se calculó de dos maneras diferentes:

- 1) Solubilidad (procedimiento de proteína) (%) =  $(\% \text{ de proteína en sobrenadante} / \% \text{ de proteína en dispersión inicial}) \times 100$
- 2) Solubilidad (procedimiento de pellas) (%) =  $(1 - \text{material de pellas insoluble en peso seco} / ((\text{peso de 20 ml de dispersión} / \text{peso de 50 ml de dispersión}) \times \text{polvo de proteína en peso seco inicial})) \times 100$

15 El valor de pH natural del aislado proteico producido en el ejemplo 1 en agua (1% de proteína) se muestra en la tabla 6:

Tabla 6 - pH natural de la solución S703 preparada en agua al 1% de proteína

Lote	Producto	pH natural
S005-A13-09A	S703	3.36

Los resultados de solubilidad obtenidos se establecen en las siguientes tablas 7 y 8:

20 Tabla 7 - Solubilidad de S703 a diferentes valores de pH basados en el procedimiento de la proteína

Lote	Producto	Solubilidad (procedimiento de proteína) (%)						
		pH 2	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH Nat.
S005-A13-09A	S703	95.8	100	81.7	0.0	71.7	100	100

Tabla 8 - Solubilidad de S703 a diferentes valores de pH basados en el procedimiento de pellas

Lote	Producto	Solubilidad (procedimiento de proteína) (%)						
		pH 2	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH Nat.
S005-A13-09A	S703	95.9	95.9	83.8	11.9	69.2	96.0	95.2

25 Como se puede ver a partir de los resultados de las tablas 7 y 8, el producto S703 era altamente soluble a valores de pH 2, 3 y 7, así como también a pH natural. La solubilidad fue ligeramente menor a pH 4.

**Ejemplo comparativo 5:**

Este ejemplo comparativo contiene una evaluación de la claridad en agua del aislado de proteína de soja producido por el procedimiento del ejemplo comparativo 2 (S703).

30 La claridad de la solución de proteína al 1% p/v preparada como se describe en el ejemplo 3 se evaluó midiendo la absorbancia a 600 nm, con una menor puntuación de absorbancia que indica una mayor claridad. El análisis de las muestras en un instrumento HunterLab ColorQuest XE en modo de transmisión también proporcionó una lectura de porcentaje de turbidez, otra medida de claridad.

Los resultados de claridad se establecen en las siguientes tablas 9 y 10:

Tabla 9 - Claridad de la solución S703 a diferentes valores de pH según la evaluación de A600

Lote	Producto	A600						
		pH 2	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH Nat.
S005-A13-09A	S703	0.098	0.152	1.381	>3.0	1.876	0.155	0.192

Tabla 10 - Claridad de la solución S703 a diferentes valores de pH según lo evaluado por el análisis de HunterLab

Lote	Producto	Lectura de turbidez HunterLab (%)						
		pH 2	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH Nat.
S005-A13-09A	S703	12.0	20.8	86.3	91.6	90.0	19.7	29.8

5 Como se puede ver a partir de los resultados de las tablas 9 y 10, las soluciones de S703 eran claras o ligeramente turbias a pH 2-3. También se obtuvo una solución ligeramente turbia a pH 7.

**Ejemplo comparativo 6:**

10 Este ejemplo comparativo contiene una evaluación de la solubilidad en un refresco (Sprite) y bebida deportiva (Gatorade Naranja) del aislado de proteína de soja producido por el procedimiento del ejemplo comparativo 2 (S703). La solubilidad se determinó con la proteína adicionada a las bebidas sin corrección de pH y nuevamente con el pH de las bebidas fortificadas con proteína ajustadas al nivel de las bebidas originales.

15 Cuando se evaluó la solubilidad sin corrección del pH, se pesó una cantidad suficiente de proteína en polvo para suministrar 1 g de proteína en un vaso de precipitados y se adicionó una pequeña cantidad de bebida y se agitó hasta que se formó una pasta suave. Se adicionó una bebida adicional para llevar el volumen a 50 ml, y luego las soluciones se agitaron lentamente en un agitador magnético durante 60 minutos para producir una dispersión de proteína al 2% p/v. El contenido de proteína de las muestras se analizó usando un determinador de nitrógeno LECO FP528, luego se centrifugó una alícuota de las bebidas que contenían proteínas a 7800 g durante 10 minutos y se midió el contenido de proteína del sobrenadante.

$$(\%) \text{ Solubilidad} = (\% \text{ de proteína en sobrenadante} / \% \text{ de proteína en dispersión inicial}) \times 100$$

20 Cuando se evaluó la solubilidad con corrección de pH, se midió el pH del refresco (Sprite) (3.39) y bebida deportiva (Gatorade Naranja) (3.19) sin proteína. Se pesó una cantidad suficiente de proteína en polvo para suministrar 1 g de proteína en un vaso de precipitados y se adicionó una pequeña cantidad de bebida y se agitó hasta que se formó una pasta suave. Se adicionó una bebida adicional para llevar el volumen a aproximadamente 45 ml, y luego las soluciones se agitaron lentamente en un agitador magnético durante 60 minutos. Se midió el pH de las bebidas que contenían proteínas y luego se ajustó al pH de la no proteína original con HCl o NaOH, según sea necesario. El volumen total de cada solución se llevó luego a 50 ml con bebida adicional, produciendo una dispersión de proteína al 2% p/v. El contenido de proteína de las muestras se analizó usando un determinador de nitrógeno LECO FP528 y luego se centrifugó una alícuota de las bebidas que contenían proteínas a 7800 g durante 10 minutos y se midió el contenido de proteína del sobrenadante.

30  $(\%) \text{ Solubilidad} = (\% \text{ de proteína en sobrenadante} / \% \text{ de proteína en dispersión inicial}) \times 100$

Los resultados obtenidos se establecen en la siguiente tabla 11:

Tabla 11 - Solubilidad de S703 en Sprite y Gatorade Naranja

Lote	Producto	Sin corrección de pH		Corrección de pH	
		(%) Solubilidad en Sprite	(%) Solubilidad en Gatorade Naranja	(%) Solubilidad en Sprite	(%) Solubilidad en Gatorade Naranja
S005-A13-09A	S703	94.8	100	99.0	93.6

Como se puede ver a partir de los resultados de la tabla 11, el S703 era altamente soluble en el Sprite y el Gatorade Naranja. Como S703 es un producto acidificado, la adición de proteína tuvo poco efecto sobre el pH de la bebida.

**Ejemplo comparativo 7**

5 Este ejemplo comparativo contiene una evaluación de la claridad en un refresco y bebida deportiva del aislado de proteína de soja producido por el procedimiento del ejemplo comparativo 2 (S703).

La claridad de las dispersiones de proteínas al 2% p/v preparadas en refresco (Sprite) y bebida deportiva (Gatorade Naranja) en el ejemplo comparativo 6 se evaluaron usando los métodos descritos en el ejemplo comparativo 5. Para las mediciones de absorbancia a 600 nm, el espectrofotómetro se borró con la bebida adecuada antes de realizar la medición.

10 Los resultados obtenidos se establecen en las siguientes tablas 12 y 13:

Tabla 12 - Claridad (A600) de S703 en Sprite y Gatorade Naranja

Lote	Producto	Sin corrección de pH		Corrección de pH	
		A600 en Sprite	A600 en Gatorade Naranja	A600 en Sprite	A600 en Gatorade Naranja
S005-A13-09A	S703	0.460	0.404	0.471	0.539

Tabla 13 - Lecturas de turbidez HunterLab para S703 en Sprite y Gatorade Naranja

Lote	Producto	Sin corrección de pH		Corrección de pH	
		(%) Turbidez en Sprite	(%) Turbidez en Gatorade Naranja	(%) Turbidez en Sprite	(%) Turbidez en Gatorade Naranja
Sin proteína		0.0	44.0	0.0	44.0
S005-A13-09A	S703	58.5	74.3	55.6	79.5

15 Como se puede ver a partir de los resultados de las tablas 12 y 13, los buenos resultados de solubilidad obtenidos para el S703 en el Sprite y el Gatorade Naranja no se tradujeron en claridad en estas bebidas. De hecho, las soluciones resultantes fueron bastante turbias.

Resumen de la divulgación

20 En resumen, de esta divulgación, la presente invención proporciona un procedimiento de producción de un aislado de proteína de soja que es soluble en medios ácidos, basado en la extracción de un material fuente de proteína de soja usando solución acuosa de cloruro de calcio a pH bajo. Las modificaciones son posibles dentro del alcance de las reivindicaciones.

**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento de producción de un producto de proteína de soja que tiene un contenido de proteína de soja de al menos 60 % en peso (N x 6.25) en peso seco, que comprende:
- 5 (a) extracción de una fuente de proteína de soja que es harina de soja, hojuelas de soja, sémola de soja o harina de soja con una solución acuosa de sal de calcio a un pH de 1.5 a 5 para provocar la solubilización de proteína de soja de la fuente de proteína de soja y formar una solución acuosa de proteína de soja,
- (b) separación de la solución acuosa de proteína de soja de la fuente de proteína de soja residual, y
- (c) dilución de dicha solución acuosa de proteína de soja con 0.5 a 10 volúmenes de agua a una conductividad de menos de 90 mS,
- 10 (d) ajuste del pH de la solución acuosa a un valor diferente dentro del intervalo de 1.5 a 5 a un pH de 2.0 a 4.0,
- (e) concentración de la solución de proteína de soja ajustada al pH mientras se mantiene la fuerza iónica del mismo sustancialmente constante para producir una solución concentrada de proteína de soja que tiene una concentración de proteína de 50 a 300 g/l, y la solución concentrada de proteína de soja opcionalmente se diafiltra y
- 15 (f) secado de la solución de proteína de soja concentrada y opcionalmente diafiltrada para proporcionar un producto de proteína de soja que tiene un contenido de proteína de al menos 60% en peso.
2. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que dicha etapa de extracción se realiza usando una solución acuosa de cloruro de calcio que tiene una concentración de menos de 1.0 M, preferiblemente de 0.10 a 0.15 M.
3. El procedimiento según la reivindicación 1 o 2, en el que dicha etapa de extracción se realiza a una temperatura de 15 ° a 35 °C.
- 20 4. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicha solución acuosa de proteína de soja tiene una concentración de proteína de 5 a 50 g/l, preferiblemente de 10 a 50 g/l.
5. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que, después de dicha etapa de separación, dicha solución acuosa de proteína de soja se trata con un adsorbente para eliminar los compuestos de color y/u olor de la solución acuosa de proteína de soja.
- 25 6. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicha solución acuosa de proteína de soja se diluye para proporcionar una conductividad de dicha solución de proteína de soja de 4 a 31 mS, preferiblemente con una temperatura de 2 °C a 70 °C, preferiblemente 10 ° a 50 °C, más preferiblemente 20 ° a 30 °C.
- 30 7. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicha solución de proteína de soja, después de las etapas de dilución y ajuste del pH tiene una conductividad de menos de 95 mS, preferiblemente de 4 a 36 mS.
8. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicha solución acuosa de proteína se somete a una etapa de tratamiento térmico para inactivar inhibidores de tripsina lábiles al calor, preferiblemente la etapa de tratamiento térmico también pasteuriza la solución acuosa de proteína de soja, en el que dicho tratamiento térmico se realiza a una temperatura de 70 ° a 160 °C, durante 10 segundos a 60 minutos, preferiblemente a una temperatura de 80 ° a 120 °C, durante 10 segundos a 5 minutos, más preferiblemente a una temperatura de 85 °C a 95 °C, durante 30 segundos a 5 minutos.
- 35 9. El procedimiento según la reivindicación 8, en el que la solución de proteína de soja tratada térmicamente se enfría a una temperatura de 2 ° a 60 °C, preferiblemente de 20 ° a 35 °C, para un procesamiento adicional.
- 40 10. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que dicha solución de proteína de soja se concentra manteniendo la fuerza iónica del mismo sustancialmente constante para producir una solución concentrada de proteína de soja que tiene una concentración de proteína de 100 a 200 g/l, y la solución concentrada de proteína de soja se diafiltra opcionalmente, en el que dicha etapa de concentración y/o etapa de diafiltración opcional se realiza preferiblemente por ultrafiltración usando una membrana que tiene un corte de peso molecular de 3,000 a 1,000,000 Dalton, preferiblemente 5,000 a 100,000 Dalton, preferiblemente a una temperatura de 2 ° a 60 °C, más preferiblemente 20 ° a 35 °C.
- 45 11. Procedimiento según la reivindicación 10, en el que se realiza una etapa de diafiltración usando agua, solución salina diluida, agua acidificada o solución salina diluida acidificada en la solución de proteína de soja antes o

después de su concentración parcial o completa, preferiblemente usando de 2 a 40 volúmenes de solución de diafiltración, más preferiblemente de 5 a 25 volúmenes de solución de diafiltración.

- 5 12. El procedimiento según la reivindicación 11, en el que dicha diafiltración se realiza hasta que no están presentes cantidades adicionales significativas de contaminantes o color visible en el permeado, y hasta que el retenido se haya purificado suficientemente para, cuando se seca, proporcionar un aislado de proteína de soja con un contenido de proteína de al menos 90% en peso (N x 6.25) d.b., preferiblemente en presencia de un antioxidante.
- 10 13. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en el que la solución de proteína de soja concentrada y opcionalmente diafiltrada se somete a una etapa de tratamiento térmico para inactivar inhibidores de tripsina lábiles al calor, preferiblemente a una temperatura de 70 ° a 160 °C, durante 10 segundos a 60 minutos, más preferiblemente una temperatura de 80 ° a 120 °C, durante 10 segundos a 5 minutos, más preferiblemente 85 ° a 95 °C, durante 30 segundos a 5 minutos y la solución de proteína de soja tratada térmicamente se enfría preferiblemente a temperatura de 2 ° a 60 °C, preferiblemente de 20 ° a 35 °C, para un procesamiento adicional.
- 15 14. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, en el que dicha solución de proteína de soja concentrada y opcionalmente diafiltrada se trata con un adsorbente para eliminar compuestos de color y/u olor y/o dicha solución de proteína de soja concentrada y opcionalmente diafiltrada se pasteuriza antes del secado, preferiblemente a una temperatura de 55 ° a 70 °C, durante 30 segundos a 60 minutos, preferiblemente 60 ° a 65 °C, durante 10 a 15 minutos.
- 20 15. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14, en el que dicha solución de proteína de soja concentrada y opcionalmente diafiltrada se seca para proporcionar un aislado de proteína de soja que tiene un contenido de proteína de al menos 90% en peso (N x 6.25) d.b, preferiblemente de al menos 100% en peso (N x 6.25) d.b.
- 25 16. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que un agente reductor está presente durante la etapa de extracción, y/o la etapa de concentración y/o etapa de diafiltración opcional, y/o se adiciona a la solución de proteína de soja concentrada y opcionalmente diafiltrada antes del secado y/o el producto de proteína de soja seca, para romper o reordenar los enlaces disulfuro de los inhibidores de tripsina para lograr una reducción en la actividad del inhibidor de tripsina.