

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 676 925**

51 Int. Cl.:

A23J 1/14

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.01.2014** **PCT/FR2014/000023**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.08.2014** **WO14118449**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.01.2014** **E 14706872 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.04.2018** **EP 2950662**

54 Título: **Procedimiento de fraccionamiento de las fracciones solubles de guisante**

30 Prioridad:

31.01.2013 FR 1350853

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

26.07.2018

73 Titular/es:

ROQUETTE FRÈRES (100.0%)
1 rue de la Haute Loge
62136 Lestrem, FR

72 Inventor/es:

BARATA, MANUEL;
DUFLOT, PIERRICK;
DHALLEINE, CLAIRE y
VERRIN, JEAN-MARC

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 676 925 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

Procedimiento de fraccionamiento de las fracciones solubles de guisante

La presente invención se refiere a un procedimiento original de fraccionamiento de las fracciones solubles de guisante, que comprende una etapa de microfiltración o de centrifugación, seguida de una etapa de ultrafiltración, y de una eventual etapa de ósmosis inversa. Se consigue así reducir la fuga de proteínas hacia las fracciones solubles, mejorar el rendimiento de la etapa unitaria de concentración por evaporación de las fracciones solubles, y se consigue aislar de manera selectiva las proteínas de interés. Se trata además de un procedimiento simple de realizar, siendo los dispositivos utilizados a nivel de cada etapa unitaria clásicos y bien conocidos por el experto en la materia.

Desde los años 70, el guisante es la leguminosa de semilla más desarrollada en Europa y principalmente en Francia, en particular como recurso proteico para la alimentación animal, pero también humana. El guisante contiene aproximadamente un 27% en peso de materias proteicas. El término "guisante" se considera aquí en su acepción más amplia e incluye, en particular, todas las variedades salvajes de "guisante liso" ("smooth pea"), y todas las variedades mutantes de "guisante liso" y de "guisante rugoso" ("wrinkled pea"), y esto sean cuales sean las utilizaciones a las que se destinen generalmente dichas variedades (alimentación humana, nutrición animal y/u otras utilizaciones).

Entre los constituyentes del guisante, los más valorizados actualmente son el almidón, las fibras y las proteínas, también designados bajo la expresión de constituyentes nobles. El procedimiento de valoración correspondiente consiste en realizar inicialmente una leche de almidón, mediante la mezcla en una amasadora entre la harina de guisante y agua. Después de haber extraído de esta leche el almidón y las fibras, se dispone de un producto rico en proteínas. Se efectúa entonces una operación de floculación sobre la leche, en particular por termocoagulación, cuyo objetivo es insolubilizar la o las proteínas de interés. En esta etapa del procedimiento, es necesario realizar una separación, en particular por decantación centrífuga, a fin de aislar una composición muy rica en proteínas, también denominada "flóculo". El sobrenadante constituye lo que el experto en la materia designa generalmente bajo la expresión de "fracciones solubles".

Conviene, en primer lugar, precisar que el término "fracciones solubles" constituye un abuso de lenguaje en el sentido que dicha fracción contiene un cierto número de partículas insolubles, como coloides diversos y variados pero también y sobre todo proteínas. En primer lugar, estas fracciones solubles deben concentrarse por evaporación, de manera que se pueda recuperar los insolubles (y en particular las proteínas) que contienen. En la actualidad, las fracciones solubles se explotan muy poco; se utilizan de manera casi exclusiva como fuente de nitrógeno en fermentación y como alimento nutritivo para ganado una vez que dichas fracciones se han enriquecido con fibras.

La solicitante ha protegido recientemente, a través de las solicitudes de patente francesas nº 09 51962 y nº 12 57680, un procedimiento de extracción de β -amilasas a partir de una fracción soluble de planta de almidón, incluyendo el guisante, comprendiendo dicho procedimiento una etapa de clarificación por microfiltración y una etapa de concentración/purificación por ultrafiltración.

Ahora bien, se debe de constatar que el rendimiento del procedimiento global que conduce del guisante inicial a la composición rica en proteínas (el "flóculo") está lejos de alcanzar el 100%. Se estima que, a escala industrial, se encuentra dentro de las fracciones solubles entre el 5% y el 25%, pero más generalmente alrededor del 20% en peso de las proteínas inicialmente contenidas en el guisante de partida. Esta fuga masiva de proteínas, a través de las fracciones solubles, no deja de plantear un cierto número de inconvenientes.

El primero de ellos es una pérdida seca de proteínas de interés, que actualmente únicamente se valorizan a través del flóculo de proteínas procedente de la etapa de decantación. Si se consiguiera aislar de manera global la parte de proteínas contenida en las fracciones solubles, ésta podría incorporarse ventajosamente o redirigirse en el flóculo de proteínas, para enriquecerlo.

El segundo problema planteado por el procedimiento tal como existe actualmente es un rendimiento muy mediocre a nivel de la etapa unitaria de concentración por evaporación de las fracciones solubles: la riqueza en proteínas es tal que el fenómeno de obstrucción del evaporador es muy importante y necesita frecuentes paradas para la limpieza. En efecto, debido a su sensibilidad térmica, las proteínas coagulan y tienen una predisposición a obstruir los dispositivos de evaporación.

Finalmente y según un tercer punto de vista, recientes trabajos han mostrado que una parte de las proteínas procedentes de la fracción soluble (fracción denominada PA1b) puede utilizarse ventajosamente en la fabricación de un insecticida: esto resulta de la enseñanza del documento FR 2 778 407 A1. Existe por lo tanto también una ventaja técnica en aislar de manera selectiva una o más fracciones proteicas, dentro de las fracciones solubles.

En conocimiento de la solicitante, esta problemática no se ha tratado jamás en su conjunto, es decir para encontrar soluciones que tengan como objetivo resolver el triple problema técnico tal como se ha anunciado anteriormente. El documento "Pilot scale recovery of proteins from a pea whey discharge by ultrafiltration" (Lei (Leigh) Gao, Khai D. Nguyen and Alphonsus C. Utioh, Lebensm.-Wiss. u.-Technol., vol 34, p. 149-158, 2001) se interesa por la recuperación de proteínas de guisantes por centrifugación seguida de ultrafiltración. Otro procedimiento para la recuperación de las proteínas de leguminosas, en particular a partir de la fracción soluble, se describe en el documento US 4 766 204. La

solicitud de patente WO 2006/052003 se refiere, por su parte, a un procedimiento de preparación de polipéptidos solubles procedentes de un efluente líquido de transformación de guisante, por filtración membranaria y después secado.

5 Trabajando en la búsqueda de una solución global para optimizar el rendimiento del procedimiento de extracción de proteínas a partir del guisante, la solicitante ha conseguido elaborar un procedimiento que resuelve el triple problema técnico:

- reducir la fuga de proteínas hacia las fracciones solubles,
- mejorar el rendimiento de la etapa unitaria de concentración por evaporación de las fracciones solubles,
- aislar de manera selectiva las proteínas de interés dentro de las fracciones solubles.

10 Este procedimiento se basa en la sucesión de diferentes etapas de separación de dichas fracciones solubles, a) mediante una centrifugación o una microfiltración, b) después una ultrafiltración, c) y finalmente según la invención una ósmosis inversa.

15 De manera muy ventajosa, la realización de estas etapas de manera secuenciada permite, a nivel de cada unidad de filtración, aislar una fracción proteica de interés. Típicamente, las globulinas y ácido fítico se recuperan a nivel del retenido de microfiltración o del residuo (o sedimento) de centrifugación. El permeado de microfiltración o el sobrenadante de centrifugación sufre después una etapa de ultrafiltración: las albúminas constituyen entonces la mayor parte de la materia seca del retenido de ultrafiltración, estando destinado el permeado a sufrir la eventual etapa de ósmosis inversa. Esta última permite aislar, por un lado, una fracción rica en glúcidos de tipo α -galactosidasas a nivel del retenido y, por otro lado, los aminoácidos, glúcidos y otras sales presentes en el permeado. Se podrá hacer
20 referencia al esquema de principio de la figura nº 1 de la presente solicitud.

Las otras figuras 2 a 5 ilustran los resultados y un perfil electroforético obtenidos en los ensayos ejemplificados en la presente solicitud.

25 Se consigue por lo tanto aislar de manera muy precisa diferentes categorías de proteínas de interés, que pueden valorizarse posteriormente en una aplicación dada. De manera muy ventajosa, el retenido de microfiltración y el sedimento resultante de la centrifugación son ricos en ácido fítico. Ahora bien, este ácido inhibe la absorción de diversos cationes (Zn, Cu, Co, Mn, Ca, Fe) formando unas sales insolubles (fitatos). Esta propiedad se explota en enología: el tratamiento con fitato de calcio es el único que autorizado (en Francia) para eliminar el hierro los vinos tintos.

30 De manera ventajosa también, el retenido procedente de la etapa de ósmosis inversa es particularmente rico en α -galactósido, pero también en la fracción denominada PA1b que conoce una aplicación directa en la fabricación de insecticidas de origen totalmente biológico (como se divulga en el documento FR 2 778 407 antes citado). Además, todo o parte de las fracciones ricas en las diferentes proteínas de interés, y obtenidas a nivel de cada etapa unitaria de filtración, puede redirigirse a nivel del flóculo, aguas abajo de la etapa de decantación centrífuga. Se aumenta así la riqueza del flóculo de proteínas.

35 Finalmente, el permeado final procedente de la etapa de ósmosis inversa que contiene ventajosamente los aminoácidos, glúcidos y otras sales, partículas de tamaños muy pequeños, puede concentrarse fácilmente mediante un evaporador, sin por ello ocasionar problemas de obstrucción, que necesitan frecuentes paradas de producción para intervenciones de limpieza, incluso de cambio de los dispositivos.

40 Asimismo, un primer objeto de la presente invención consiste en un procedimiento de tratamiento de las fracciones solubles del guisante que comprende:

a) una etapa de microfiltración o de centrifugación de dichas fracciones solubles que conduce a un permeado de microfiltración o a un sobrenadante de centrifugación,

b) seguida de una etapa de ultrafiltración del permeado de microfiltración o del sobrenadante de centrifugación, que conduce a un permeado y a un retenido de ultrafiltración,

45 c) seguida de una etapa de ósmosis inversa del permeado de ultrafiltración que conduce a un permeado y a un retenido procedente de la ósmosis inversa.

Una de las originalidades de la presente invención consiste en someter a las fracciones solubles de guisantes, composiciones a priori no nobles, a un cierto número de etapas de tratamiento para valorizar su contenido. Conviene distinguir bien este tipo de procedimiento en el que se aplican unas etapas unitarias de tratamiento directamente a las
50 fracciones solubles, procedimientos de la técnica anterior que pueden recurrir a estas mismas etapas individuales, pero para tratar:

- o bien las proteínas de guisantes libres de fracciones solubles para purificar dichas proteínas de guisantes,

- o bien estas mismas proteínas de guisante todavía cargadas de fracciones solubles y para realizar exactamente una separación entre proteínas y fracciones solubles.

5 La primera etapa del procedimiento según la invención es por lo tanto una etapa a) de microfiltración o de centrifugación que tiene lugar sobre las fracciones solubles de guisantes, tal como se obtiene a partir de la etapa de decantación centrífuga. Esta etapa tiene, en particular, por objetivo aislar una fracción proteica rica en globulinas.

La microfiltración de las fracciones solubles de guisante conduce a un permeado y a un retenido de microfiltración. Es el permeado el que se trata después en la etapa ulterior b) de ultrafiltración. La centrifugación de los solubles de guisante conduce por su parte a un sobrenadante y a un sedimento de centrifugación. Es el sobrenadante el que se trata después en la etapa ulterior b) de ultrafiltración.

10 Cuando la primera etapa es una microfiltración, ésta es preferiblemente una microfiltración tangencial membranaria. Más particularmente, la microfiltración tangencial se realiza preferiblemente con unas membranas cerámicas que presentan una porosidad de 0,01 µm a 1 µm, preferiblemente de 0,05 µm a 0,5 µm.

15 De manera facultativa, esta primera etapa de microfiltración o centrifugación puede ir precedida de una etapa de floculación de las partículas insolubles contenidas en la fracción soluble de plantas de almidón, mediante cualquier técnica conocida, por otro lado, por el experto en la materia.

20 La segunda etapa del procedimiento según la invención consiste en una etapa b) de ultrafiltración, efectuada sobre el permeado de microfiltración o sobre el sobrenadante de centrifugación. Permite obtener, por un lado, un retenido de ultrafiltración rico en albúminas y, por otro lado, un permeado rico en la fracción denominada PA1b de la cual ya se ha hecho mención antes para valorizarse en la fabricación de insecticida. El permeado en su totalidad puede, por lo tanto, valorizarse directamente para esta aplicación insecticida; no es necesario tratarlo/separarlo más de lo necesario.

Más particularmente, se recomienda realizar la ultrafiltración con la ayuda de membranas que presentan un umbral de corte comprendido entre 0,1 y 0,5 µm, manteniéndose la presión transmembranaria inferior a 4 bares.

Finalmente, el procedimiento según la presente invención comprende una tercera etapa c) que sigue siendo opcional, pero que se efectúa preferiblemente: se trata de una ósmosis inversa realizada sobre el permeado de ultrafiltración.

25 La solicitante recomienda efectuar esta ósmosis con unas membranas que presentan un umbral de corte comprendido entre 100 Da y 500 Da.

Los ejemplos siguientes permiten ilustrar mejor la solicitud, sin, no obstante, limitar su alcance.

Ejemplos

Ejemplo 1 (de referencia)

30 Este ejemplo ilustra la eficacia de combinar la microfiltración con la ultrafiltración para obtener, en primer lugar, un retenido de microfiltración rico en globulinas, y, en segundo lugar, un permeado de ultrafiltración rico en glúcidos.

Se empieza en primer lugar por fabricar la fracción soluble de guisantes.

35 Se prepara inicialmente harina de guisante por trituración de guisantes forrajeros pelados en un molino de martillos de tipo ALPINE equipado de una rejilla de 100 µm. Se ponen en remojo en agua después 300 kg de harina con un 87% de materia seca a la concentración final de un 25% en seco, a un pH de 6,5. Se introducen entonces 1044 kg de suspensión de harina con un 25% de materia seca (es decir por lo tanto 261 kg de harina seca) con 500 kg de agua en una batería de hidrociclones compuestas de 14 niveles. Se alimenta por la suspensión de harina en el nivel nº 5. Esta separación conduce a la obtención de una fase ligera que corresponde a la salida del nivel nº 1. Está constituida de la mezcla proteínas, fibras internas y solubles.

40 Esta fase ligera en la salida de hidrociclones contiene en mezcla (142 kg en seco en total): las fibras (aproximadamente un 14,8% en peso, es decir 21 kg en seco), las proteínas (aproximadamente un 42,8% en peso, es decir 60,8 kg en seco) y los solubles (aproximadamente un 42,4% en peso, es decir 60,2 kg en seco). Esta fracción presenta una materia seca del 11,4%. Se procede a la separación de las fibras sobre un decantador centrífugo de tipo WESTFALIA empleado en una unidad industrial fecular de tratamiento de la patata. La fase ligera en la salida de decantador centrífugo contiene una mezcla de proteínas y de solubles, mientras que la fase pesada contiene las fibras de guisante. 45 La fase pesada contiene 105 kg de fibras con un 20% de materia seca. Se constata que la casi-totalidad de las fibras se encuentra claramente en esta fracción.

50 En cuanto a la fracción de proteínas y solubles, ésta contiene 1142 kg de una mezcla en solución de solubles y de proteínas (fracción con un 6% de materia seca). Se procede a la floculación de las proteínas en su punto isoelectrico por ajuste de la fase ligera en la salida de decantador centrífugo a un pH de 4,5 y calentamiento a 50°C.

Las proteínas así puestas a flocular se dejan 10 minutos en una cuba de maduración. Después de la precipitación de las proteínas, se procede a una decantación centrífuga, que permite recuperar, después del secado, un sedimento

que contiene 56 kg de proteínas (un 86% de Nx6,25 en seco) con un 93% de materia seca.

Se procede así hasta obtener 2500 litros de solubles de guisante cuyo pH se ajusta a 7,0 por adición de sosa al 50%. La temperatura de la suspensión así obtenida se llevó a 70°C. La composición de la suspensión así obtenida (SOLF_1) se da en la tabla 1.1.

5

Tabla 1.1

	SOLF_1	
Contenido de materia seca	2,5	g por 100 g
Contenido de proteína (Nx6.25)	27	g por 100 g de materia seca
Contenido de cenizas	16	g por 100 g de materia seca
Contenido de glúcidos totales	47	g por 100 g de materia seca
De los cuales:		
Rafinosa		
Estaquiosa		
Verbacosa		
Otros	4,0	g por 100 g de materia seca
	13,4	g por 100 g de materia seca
	15,1	g por 100 g de materia seca
	10	g por 100 g de materia seca

La solución se bombea a través de una unidad de microfiltración equipada de membranas cerámicas tipo Inside Ceram® que tiene un umbral de corte de 0,14 µm (19 canales de 4,5 mm). Durante toda la filtración, la temperatura se ajusta a 60°C y la presión transmembranaria se mantiene a un valor comprendido entre 0,4 y 0,6 bares.

- 10 Se recuperan así 707 litros de permeado de microfiltración (P014_1) y 1768 litros de retenido de microfiltración (R014_1). Las composiciones de cada una de las fracciones se dan en la tabla 1.2.

Tabla 1.2

	P014_1	R014_1	
Contenido de materia seca	2,5	2,5	%
	26,5	27,2	g / 100 g de materia seca
Contenido de proteína (Nx6.25)	21,0	14,0	g / 100 g de materia seca
Contenido de cenizas	45,0	47,0	g / 100 g de materia seca
Contenido de glúcidos totales	7,5	11,8	g / 100 g de materia seca
Otros			

- 15 Se bombean 550 litros del permeado (P014_1) a través de una unidad de ultrafiltración. La unidad de ultrafiltración está equipada de membranas cerámicas de tipo KERASEP® BX comercializadas por la compañía NOVASEP y que tiene un umbral de corte de 15 Kda (7 canales de 6 mm). Durante toda la filtración, la temperatura se ajusta a 60°C y la presión transmembranaria se mantiene a un valor comprendido entre 1 y 3 bares.

Se recuperan 467 litros de permeado de ultrafiltración (P15_1) y 33 litros de retenido (R15_1). Las composiciones de cada una de las fracciones se dan en la tabla 1.3.

Tabla 1.3

	P15_1	R15_1	
Contenido de materia seca	2,2	7,2	%
	15,0	75,1	g / 100 g de materia seca
Contenido de proteína (Nx6.25)	23,6	10,3	g / 100 g de materia seca
Contenido de cenizas	52,6	12,5	g / 100 g de materia seca
Contenido de glúcidos totales	8,8	2,1	g / 100 g de materia seca
Otros			

Ejemplo 2 (de referencia)

En comparación con el ejemplo anterior, éste ilustra el beneficio de la diafiltración para optimizar la riqueza del retenido.

- 5 Se ajustan 600 litros de solubles de guisantes procedentes de procedimiento de coagulación isoeléctrico a un pH de 7,0 por adición de sosa al 50%. La temperatura de la suspensión así obtenida se llevó a 60°C. La composición de la suspensión es la dada en la tabla 1.1 anterior.

10 La solución se bombea a través de una unidad de microfiltración equipada de membranas cerámica de tipo Inside Ceram® que tiene un umbral de corte de 0,14 µm (19 canales de 4,5 mm). Durante toda la filtración, la temperatura se ajusta a 60°C y la presión transmembranaria se mantiene a un valor comprendido entre 0,4 y 0,6 bares.

Se recuperan así 160 litros de permeado de microfiltración (P014_2) y 400 litros de retenido de microfiltración (R014_2).

15 Se bombean 110 litros del permeado (P014_2) a través de una unidad de ultrafiltración. La unidad de ultrafiltración está equipada de membranas cerámica de tipo KERASEP® BX comercializadas por la compañía NOVASEP y que tiene un umbral de corte de 15 Kda (7 canales de 6 mm). La fracción de retenido se mantiene en reciclado total sobre la alimentación y el permeado se evacúa. La alimentación se adiciona por un caudal permanente de agua a razón de un volumen de agua para 7 volúmenes de permeado evacuado. Durante toda la filtración, la temperatura se ajusta a 60°C y la presión transmembranaria se mantiene a un valor comprendido entre 2 y 3 bares.

20 Se recuperan así 107 litros de permeado de ultrafiltración (P15_2) y 7 litros de retenido (R15_2). El retenido (R15_2) se atomiza. La composición de las fracciones analizadas se da en la tabla 2.1.

Tabla 2.1

	P15_2	R15_2	
Contenido de materia seca	3,3	11,0	%
	15,8	81,7	g / 100 g de materia seca
Contenido de proteína (Nx6.25)	20,4	10,3	g / 100 g de materia seca
Contenido de cenizas	51,0	6,8	g / 100 g de materia seca
Contenido de glúcidos totales	12,8	1,2	g / 100 g de materia seca
Otros			

Ejemplo 3 (según la invención)

25 Este ejemplo ilustra el efecto beneficioso del ósmosis inversa para desmineralizar y aumentar la concentración en glúcidos totales de interés del permeado de ultrafiltración.

Se tratan 150 litros de solubles de guisantes según el protocolo descrito en el ejemplo 2. Se obtienen así 60 litros de permeado de ultrafiltración (P15_3) y después se bombean a través de una unidad de ósmosis inversa equipada de membranas orgánicas en espiral de tipo OSMONICS DESAL® comercializadas por la compañía General Electric Company y que tiene un umbral de corte de 350 Da. La fracción de retenido se mantiene en reciclado total sobre la

alimentación y el permeado se evacúa. Durante toda la filtración, la temperatura se ajusta a 50°C y la presión se mantiene a un valor del orden de 20 bares.

Se recuperan así 5 litros de retenido (R350_3). La composición de las diferentes fracciones se da en la tabla 3.1.

Tabla 3.1

	P15_3	R350_3	
Contenido de materia seca	2,2	14	g / 100 g
Contenido de proteína (Nx6.25)	14,5	9	g / 100 g de materia seca
Contenido de cenizas	20	6	g / 100 g de materia seca
Contenido de glúcidos totales	56	65	g / 100 g de materia seca
Rafinosa	4,5	6,0	g / 100 g de materia seca
Estaquiosa	18,0	19,1	g / 100 g de materia seca
Verbacosa	16,9	21,0	g / 100 g de materia seca
Otros	16,5	12,0	g / 100 g de materia seca

5

Ejemplo 4 (de referencia)

Se mide la solubilidad en función del pH de la fracción atomizada R15_2 obtenida del ejemplo 2. Se compara con la de un aislado de proteína de guisantes de tipo Nutralys® F85M comercializado por la solicitante.

10 La solubilidad se considera como igual a la materia seca de un sobrenadante de centrifugación (15 min a 3000 g) de una suspensión a un pH dado y preparada por homogeneización de 5 g de producto en 100 g de agua. La figura 2 representa la solubilidad de 2 productos en función del pH. La fracción R15_2 tiene una mejor solubilidad que el Nutralys® F85M. Esta mejor solubilidad es una ventaja para el sector de las formulaciones energéticas en el campo del deporte.

Ejemplo 5 (de referencia)

15 Se mide la capacidad emulsionante en función del pH de la fracción atomizada R15_2 obtenida en el ejemplo 2. Se ha comparado con la de un aislado de proteína de guisante de tipo Nutralys® F85M.

20 La actividad emulsionante del producto se determina a partir del volumen de emulsión subsistente (en %), después de la dispersión en una mezcla de agua-aceite a un pH dado y después centrifugación. La actividad emulsionante del producto se determina a partir del volumen de emulsión subsistente (en %), después de la dispersión en una mezcla agua-aceite a un pH dado y después centrifugación según el método de YASUMATSU *et al.*(1972) descrito por: NACZK M., RUBIN L.J., SHAHIDI F., Functional properties and phytate content of pea protein preparations. Journal of Food Science, Volume 51 N°5, 1986, p 1245-1247.

25 La figura 3 muestra que a pH 4,5 y 5,5, la fracción R15_2 presenta la mejor capacidad emulsionante, pH en el que Nutralys® F85M no tiene ninguna capacidad emulsionante. Estas propiedades emulsionantes son valorizables entre otro en el campo de la charcutería.

Ejemplo 6 (de referencia)

Se mide la capacidad espumante y la estabilidad de espuma de la fracción atomizada R15_2 obtenida en el ejemplo 2 a diferente pH. Se compara con la de un aislado de proteína de guisante de tipo Nutralys® F85M (véase la figura 4).

30 Se determina la capacidad espumante de una muestra de proteínas según el método SUMNER A.K., NIELSEN M.A., YOUNGS C.G., Production and evaluation of pea protein isolate. Journal of Food Science, Volumen 46, 1981, p 364-372. La pérdida de la espuma obtenida se calcula a partir del porcentaje de disminución del volumen de espuma después de 30 minutos de reposo.

35 La persistencia de la espuma de la fracción R15_2 es mucho mejor que la del Nutralys® F85M. En los helados, los merengues, los bizcochos, el pan o las barras con alto contenido en proteínas, se buscará efectivamente una mejor persistencia de la espuma.

Ejemplo 7 (de referencia)

Las cualidades organolépticas de la fracción atomizada R15_2 obtenida en el ejemplo 2 se evalúan por un grupo de 20 participantes. Se comparan con la de un aislado de proteína de guisante de tipo Nutralys® F85M.

Para cada ensayo, se disuelven 5 g de producto en 150 ml de agua y se mantiene al baño maría a 50°C.

La fracción R15_2 es más neutra en olor y en sabor en comparación con Nutralys® F85M.

- 5 La tabla 7.1 enumera los descriptores propuestos por los participantes durante el análisis.

Tabla 7.1

	R15_2	Nutralys® F85M
Olor	Neutro, casi neutro	Vegetal, fermentado
Sabor	Neutro a casi neutro	Amargo

Ejemplo 8 (de referencia)

- 10 Se desvía el flujo industrial de una parte de los solubles de guisante preconcentrados con un 10% de materia seca (SOPPr) de las etapas de concentraciones finales destinadas a llevarla con un 28% de materia seca para alimentar un circuito piloto compuesto:

- de una unidad de decantación centrífuga de tipo Westfalia® CA-505 ajustada sobre una aceleración de 3600 g y alimentada a aproximadamente 12 m³/h. Éste genera en continuo 11 m³/h de una fracción overflow (OVF), reintroducida en el circuito de concentración de los solubles aguas abajo del punto de extracción de la fracción SOPPr, y 600 kg/h de sedimento (SED) mezclado con el aislado de proteína antes del secado.
- de una unidad de ultrafiltración equipada de membranas cerámica de tipo KERASEP® BW comercializadas por la compañía NOVASEP y que tiene un umbral de corte de 5 kDa (19 canales de 3,5 mm). Ésta se alimenta de manera discontinua por una fracción del volumen de overflow (OVF) generado por la etapa anterior.

- 20 La fracción de retenido se mantiene en reciclado total sobre la alimentación y se evacúa el permeado. La alimentación se adiciona por un caudal permanente de agua a razón de un volumen de agua para 5 volúmenes de permeado evacuado. Durante toda la filtración, la temperatura se ajusta a 60°C y la presión transmembranaria se mantiene a un valor comprendido entre 2 y 3 bares. Se han generado 2 fracciones: retenido (RET) y permeado (PERM).

La composición de las diferentes fracciones se da en las tablas 8.1 y 8.2.

Tabla 8.1

	SOPPr	OVF	SED	
Contenido de materia seca	10	8	25	g / 100 g
Contenido de proteína (Nx6.25)	30	29	72	g / 100 g de materia seca
Contenido de cenizas	13	14	4	g / 100 g de materia seca
Contenido de glúcidos totales	44	45	12	g / 100 g de materia seca
Rafinosa	5	4	-	g / 100 g de materia seca
Estaquiosa	14	13	-	g / 100 g de materia seca
Verbacosa	13	15	-	g / 100 g de materia seca
Otros	13	12	12	g / 100 g de materia seca

Tabla 8.2

	RET	PERM	
Contenido de materia seca	14	5	g /100 g
Contenido de proteína (Nx6.25)	84	3	g / 100 g de materia seca
Contenido de cenizas	5	19	g / 100 g de materia seca
Contenido de glúcidos totales	3	61	g / 100 g de materia seca
Rafinosa	-	5	g / 100 g de materia seca
Estaquiosa	-	18	g / 100 g de materia seca
Verbacosa	-	20	g / 100 g de materia seca
Otros	8	17	g / 100 g de materia seca

Ejemplo 9 (de referencia)

5 Se determina un perfil electrofórico, presentado en la figura 5, sobre la fracción atomizada R15_2 obtenida en el ejemplo 2, la fracción R014_1 obtenida en el ejemplo 1, las fracciones SED y RET obtenidas en el ejemplo 8. El perfil se efectúa por migración de la muestra en condiciones desnaturalizantes y reductoras a través de un gel de poliacrilamida al 20 % seguido de una coloración con azul de Coomassie. Los perfiles correspondientes aparecen en la figura 5.

10 Para las fracciones R15_2 y RET, se señala la presencia marcada de bandas alrededor de 14 kDa que corresponden a las albúminas PA1, correspondiendo la banda a 30 kDa a los dímeros de albúminas PA2. Esto hace de ella una fracción particularmente interesante para valorizarse según las indicaciones del documento FR 2 778 407 A1.

Para las fracciones R014_1 y RET, se constata una predominancia de bandas alrededor de los 50 kDa y más allá, que refleja la presencia importante de globulinas, lo que le permite valorizarse, entre otros, en nutrición animal.

Ejemplo 10 (de referencia)

15 Este ejemplo ilustra el efecto beneficioso del pretratamiento de los solubles sobre la duración de los ciclos y, por lo tanto, de la disponibilidad de la etapa de concentración.

20 El funcionamiento de la unidad de decantación centrífuga descrito en el ejemplo 8 se mantiene constante con el fin de observar el impacto sobre la duración de ciclo de funcionamiento de la etapa de concentración de los solubles. Los datos se comparan así con los de esta etapa de concentración sin pretratamiento de los solubles por la unidad de decantación. En los 2 casos de figura, los parámetros de conducta del sistema de concentración (caudal vapor, vacío, temperatura producida, materia seca de entrada y de salida de los solubles) se mantienen constantes. La duración de ciclo se define mediante el intervalo de tiempo que pasa entre 2 paradas del sistema de evaporación para lavado. El lavado se inicia a partir del momento en el que el caudal de condensados de evaporación disminuye en más del 15% con respecto a su valor nominal obtenido después de la limpieza completa (>40 m³/h para un caudal de alimentación con solubles de 55 m³/h).

Tabla 10.1

		Duración de los ciclos (h)
Sin pretratamiento de los solubles concentrados	Ciclo 1	72
	Ciclo 2	65
	Ciclo 3	68
Con pretratamiento de los solubles concentrados	Ciclo 1	86
	Ciclo 2	90
	Ciclo 3	89

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de tratamiento de las fracciones solubles de guisante que comprende:
 - a) una etapa de microfiltración o de centrifugación de dichas fracciones solubles que conduce a un permeado de microfiltración o a un sobrenadante de centrifugación,
 - 5 b) seguida de una etapa de ultrafiltración del permeado de microfiltración o del sobrenadante de centrifugación, que conduce a un permeado y a un retenido de ultrafiltración,
 - c) seguida de una etapa de ósmosis inversa del permeado de ultrafiltración que conduce a un permeado y a un retenido procedentes de la ósmosis inversa.
- 10 2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que la etapa a) de microfiltración es una microfiltración tangencial membranaria.
3. Procedimiento según la reivindicación 2, caracterizado por que la microfiltración tangencial membranaria se realiza con unas membranas cerámica que presentan una porosidad de 0,01 μm a 1 μm , preferiblemente de 0,05 μm a 0,5 μm .
- 15 4. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que la etapa a) va precedida por una etapa de floculación de las partículas insolubles contenidas en la fracción soluble de guisantes.
5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que la etapa b) de ultrafiltración se realiza con la ayuda de membranas que presentan un umbral de corte comprendido entre 0,1 y 0,5 μm , manteniéndose la presión transmembranaria inferior a 4 bares.
- 20 6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que el ósmosis inversa se realiza con unas membranas que presentan un umbral de corte comprendido entre 100 Da y 500 Da.

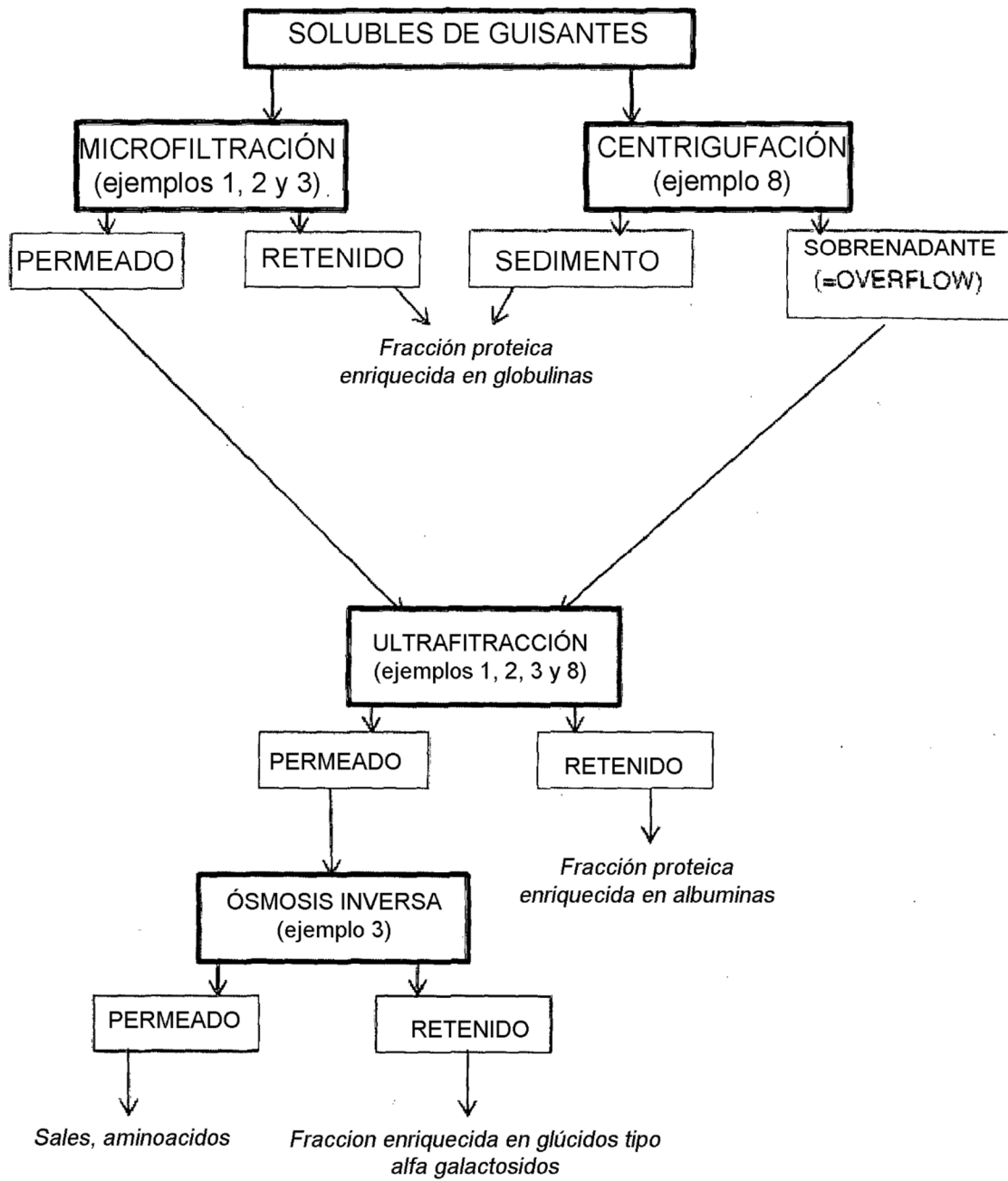


Figura 1

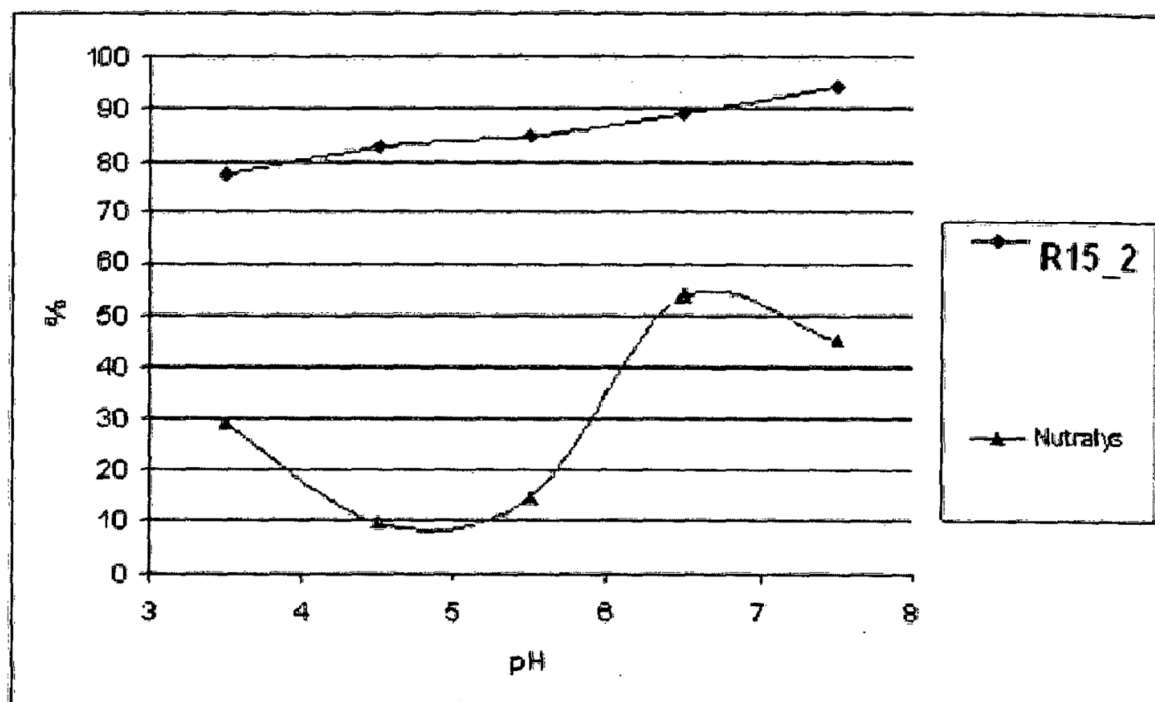


FIGURA 2

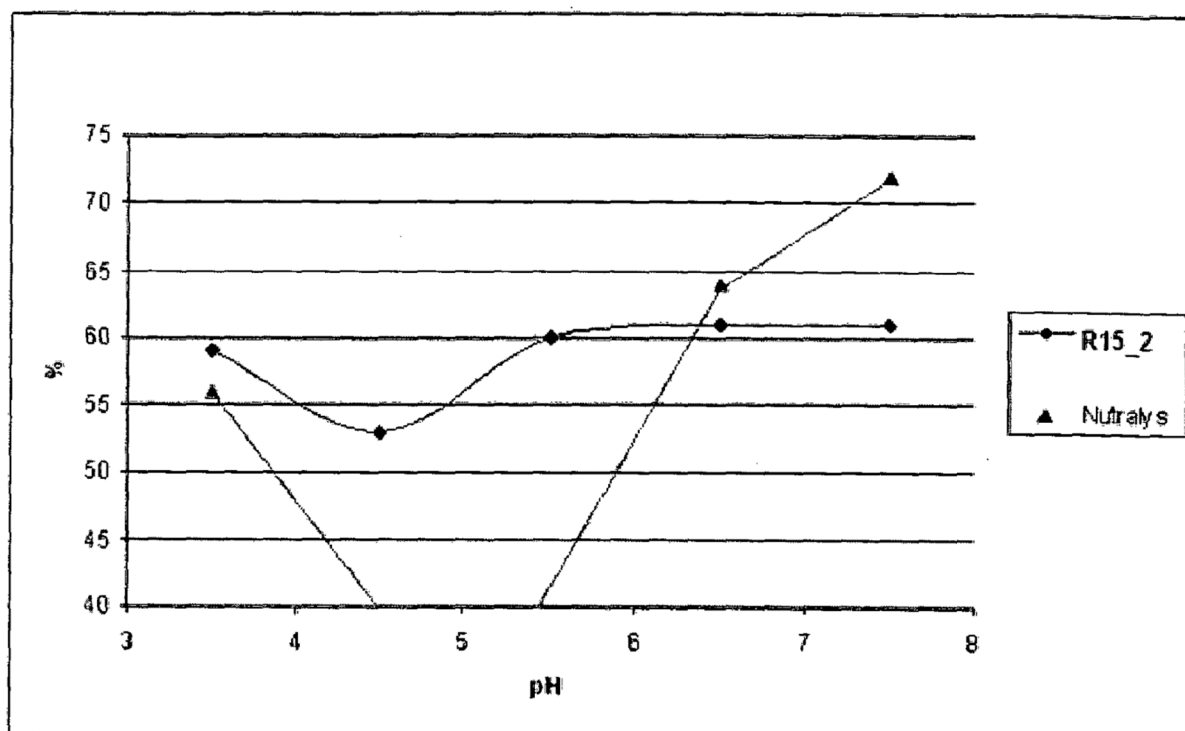


FIGURA 3

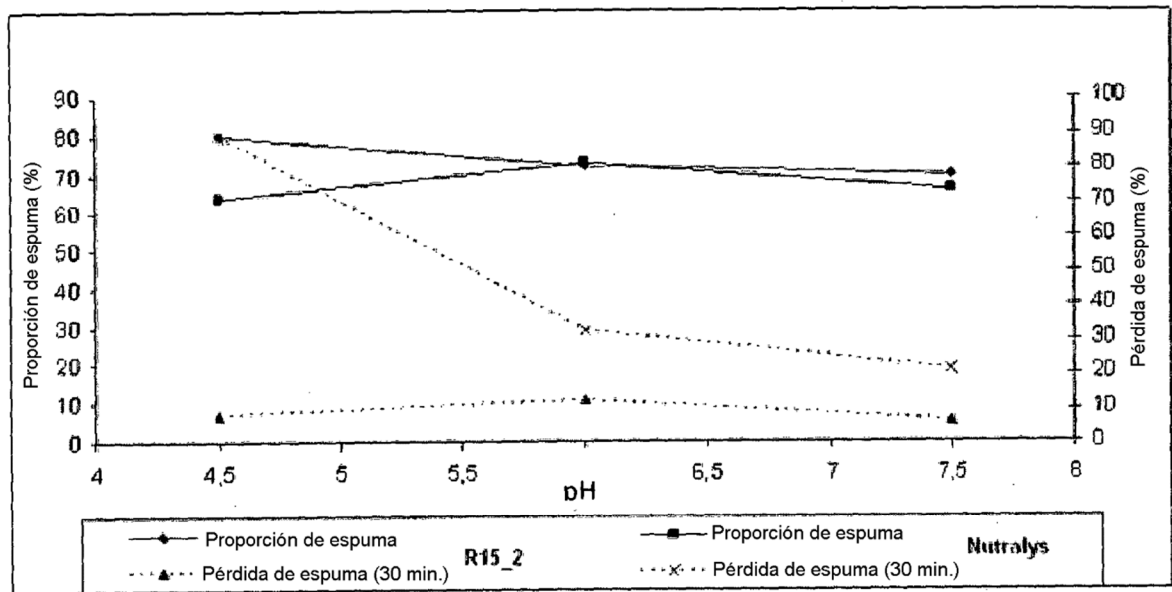


FIGURA 4

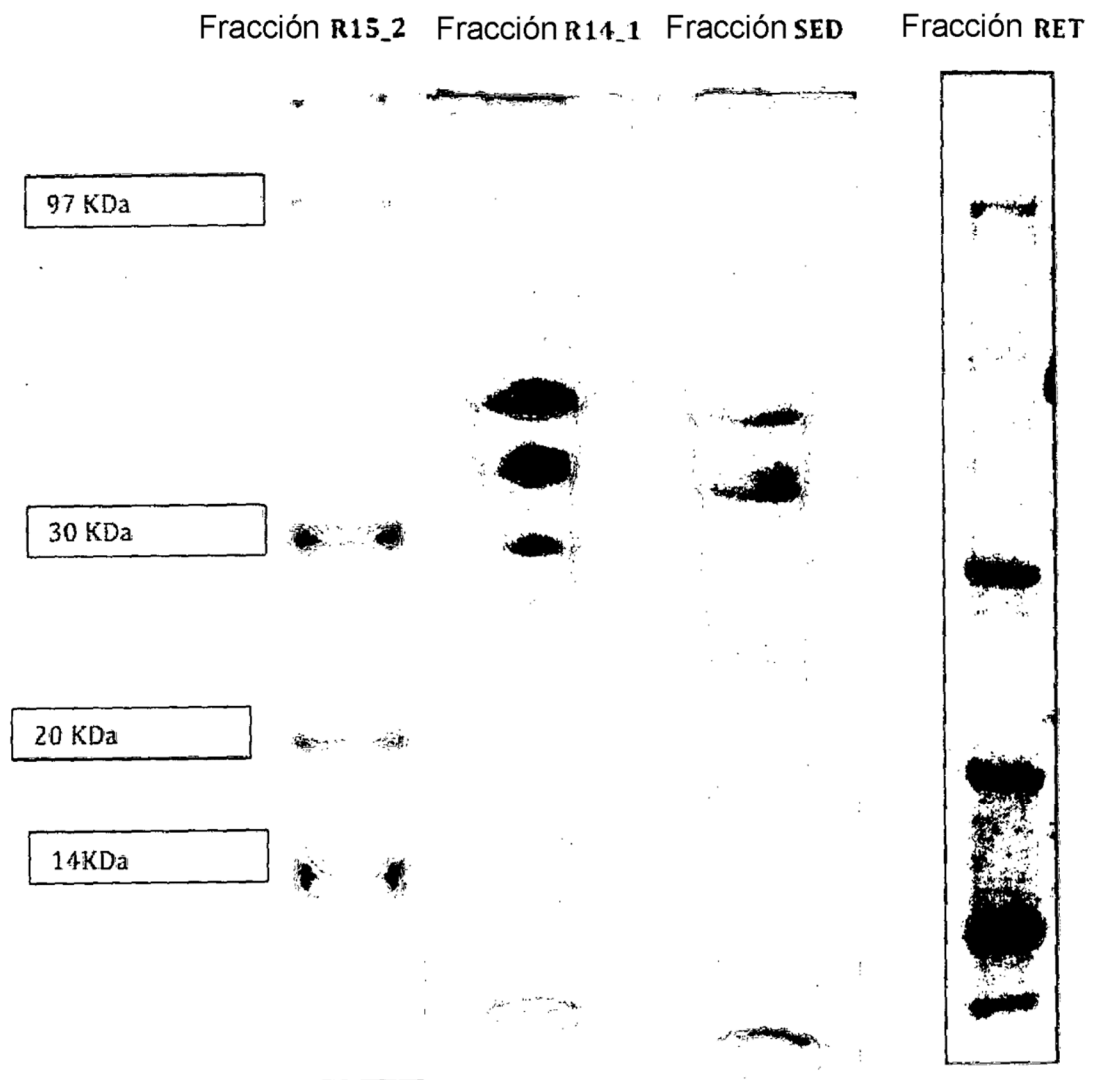


FIGURA 5