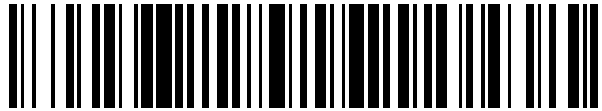


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 784 226**

51 Int. Cl.:

C12N 9/26

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.06.2014 PCT/FR2014/051490**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.12.2014 WO14207348**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.06.2014 E 14739877 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2020 EP 3013948**

54 Título: **Procedimiento de extracción de beta-amilasas a partir de una fracción soluble de planta de almidón y en presencia de una pectinasa**

30 Prioridad:

24.06.2013 FR 1356022

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

23.09.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**LECOCQ, ALINE;
COURBOIS, VINCENT y
DUFLOT, PIERRICK**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 784 226 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 extracción de beta-amilasas a partir de una fracción soluble de planta de almidón y en presencia de una pectinasa

5 La presente invención se refiere a un procedimiento mejorado de extracción de β -amilasas a partir de una fracción soluble de planta de almidón, comprendiendo dicho procedimiento una etapa de clarificación por microfiltración y una etapa de concentración/purificación por ultrafiltración. Este procedimiento utiliza una pectinasa durante la etapa de ultrafiltración, lo que mejora el rendimiento del procedimiento global; de manera más detallada, se aumenta así la riqueza de β -amilasa del retentado de ultrafiltración, y se disminuye la viscosidad, lo que limita los fenómenos de aumento de presión y de colmatado de las membranas.

10 Las β -amilasas son unas exo-hidrolasas que liberan unas unidades maltosa a partir de los β -extremos no reductores de los polímeros u oligómeros de glucosa enlazados en α 1 \rightarrow 4, deteniéndose la reacción en el primer punto de conexión α -1 \rightarrow 6 encontrado. Componentes mayoritarios del "poder diastático" (que corresponde a las actividades combinadas de las α -amilasas, β -amilasas, α -glucosidasas y enzimas desconectantes) durante el malteado (germinación artificial de los granos de cereales), las actividades β -amilásicas aisladas de este cóctel enzimático son
15 esenciales para la producción de la maltosa o de otros azúcares fermentables generados a partir de almidón.

La actividad sacarificante de las únicas β -amilasas, se aprovecha por lo tanto en un buen número de aplicaciones: en panificación, en maltería, como aditivo alimentario, incluso como agente digestivo, para la producción de edulcorantes, en farmacia para la producción de vacunas y finalmente para la producción de maltosa y de jarabes enriquecidos de maltosa (precursor del maltitol y de los jarabes de maltitol).

20 Los procedimientos de fabricación de β -amilasas son numerosos. Se sabe así que los granos de cebada, de centeno o de trigo no germinados constituyen materiales biológicos de primera calidad para la preparación comercial, a gran escala, de β -amilasas. Por otro lado, se conoce por el experto en la materia que la mitad de las β -amilasas extraíbles de los granos no germinados de la cebada, del trigo o del centeno puede obtenerse fácilmente en forma de enzimas libres por extracción con agua y soluciones salinas. La otra mitad se presenta en parte en forma "unida" que necesita
25 la adición de agentes reductores o de enzimas proteolíticas para su extracción. También se ha descrito otra fracción de β -amilasas no directamente extraíble, denominada "latente": se necesitan unos detergentes para extraerla de los granos de cereales. Por otro lado, los procedimientos de extracción de la β -amilasa descritos en el estado de la técnica se adaptan en función de la aplicación considerada.

30 En este sentido, la solicitante ha elaborado recientemente y protegido en la solicitud EP 2 414 379 un procedimiento original de producción de β -amilasas, en el sentido en que se basa en una materia prima de partida hasta ahora poco valorizada: las "fracciones solubles". Estas últimas se utilizaban antes de manera exclusiva como fuente de nitrógeno en fermentación y como alimento nutritivo para el ganado una vez enriquecidas dichas fracciones con fibras.

35 Estas fracciones solubles se producen durante la extracción por vía húmeda de los componentes de las plantas de almidón, como especialmente el maíz, la patata, la batata, el trigo, el arroz, el guisante, el haba, la habichuela, la mandioca, el sorgo, el konjac, el centeno, el alforfón y la cebada. Los componentes denominados "nobles", producidos durante la extracción, son especialmente los almidones, las proteínas o también las fibras. Las "fracciones solubles" designan por oposición unos constituyentes "no nobles": se trata de los restos líquidos procedentes de dicha extracción, en cuanto tales restos pueden todavía contener en forma de trazas unas sustancias insolubles así como partículas y coloides diversos y variados.

40 El procedimiento objeto de la solicitud EP 2 414 379 se basa en la selección inicial de la fracción soluble a tratar, en una etapa de clarificación de esta realizada por microfiltración, después en una etapa de ultrafiltración para concentrar el permeado de microfiltración que contiene la β -amilasa. En esta ocasión, se ha demostrado que la β -amilasa obtenida era particularmente muy adecuada para la preparación de jarabes de maltosa, al igual que una β -amilasa producida según unas técnicas anteriores, pero a partir de procedimientos más complejos y más costosos.

45 Más recientemente, la solicitante ha protegido también, en la solicitud de patente francesa n° 12 57680 todavía no publicada, la utilización de una proteasa durante la etapa de clarificación por microfiltración. Se consigue así disminuir los problemas de colmatado de las membranas de microfiltración, lo que vuelve a aumentar los tiempos de producción entre cada limpieza/lavado de dichas membranas.

50 Continuando sus trabajos de desarrollo sobre esta tecnología de producción de β -amilasas a partir de fracciones solubles, la solicitante se ha enfrentado a un nuevo problema técnico, relativo a la etapa de ultrafiltración.

Previamente, la solicitante recuerda que la primera etapa del procedimiento consiste en realizar una etapa de microfiltración de las fracciones solubles para eliminar las sustancias insolubles, los coloides, y el material microbiológico para obtener una composición límpida que contiene β -amilasa. Esta última composición resulta ser, por lo tanto, el permeado de microfiltración.

55

La segunda etapa del procedimiento es una etapa de ultrafiltración, que tiene como objetivo concentrar el permeado de microfiltración que contiene la β -amilasa, liberándolo al mismo tiempo de eventuales sales residuales contaminantes, azúcares y proteínas. La ultrafiltración se realiza así sobre el permeado de la microfiltración para obtener un retentado de ultrafiltración que contiene la β -amilasa.

5 Ahora bien, parece que el permeado de microfiltración es particularmente rico en azúcares complejos de tipo pentosano, lo que conlleva 3 consecuencias negativas:

- una viscosidad importante a nivel del retentado de ultrafiltración, lo que lo hace poco manipulable y crea un aumento de la presión en la instalación,

- un contenido en materia seca elevado a nivel de este retentado, lo que limita aún más su riqueza en β -amilasa,

10 - y el colmatado en la superficie, e interno, de las membranas de ultrafiltración, lo que limita el rendimiento del procedimiento por el aumento de presión rápido de dichas membranas (se necesita entonces detener el procedimiento para limpiar dichas membranas; la solicitante indica que la particularidad de los azúcares complejos presentes a nivel del retentado es generar un colmatado interno de las membranas, que es mucho más difícil de eliminar que un colmatado en la superficie).

15 Trabajando en la investigación de soluciones técnicas para paliar estos problemas, la solicitante ha conseguido demostrar que la utilización de al menos una pectinasa durante la etapa de ultrafiltración permitía limitar muy sustancialmente estos efectos indeseables. Asimismo, el objeto de la presente invención consiste en un procedimiento de extracción de β -amilasas a partir de una fracción soluble de planta de almidón que comprende:

a) una etapa de microfiltración de una fracción soluble de planta de almidón,

20 b) seguida de una etapa de ultrafiltración del permeado de microfiltración,

caracterizándose dicho procedimiento por que la etapa de ultrafiltración se realiza en presencia de al menos una pectinasa.

25 En la presente solicitud, el término pectinasa designa unas enzimas capaces de descomponer las pectinas, que son unos polímeros de polisacárido y que son uno de los constituyentes de las paredes celulares de las plantas. Están compuestas de una cadena principal de ácido urónico enlazado en 1-4. En este sentido, no deben asimilarse a las celulosas y a las hemicelulasas, a las que se unen por error: las celulasas son unas enzimas que participan directamente en las reacciones de descomposición de la celulosa (cadenas lineales de moléculas de D-glucosa) mientras que las hemicelulasas consiguen hidrolizar la hemicelulosa (polímeros ramificados de azúcares en general, tales como la glucosa, xilosa, etc.).

30 Con respecto a las celulasas y hemicelulasas, se conoce el documento EP 1 363 999, que se refiere directamente a un procedimiento de fabricación de β -amilasa por extracción en medio acuoso en presencia de celulasas, de hemicelulasas y de β -glucanasas, designando este último término unas enzimas capaces de descomponer los β -glucanos (polisacáridos totalmente constituidos de D-glucosa enlazada por unos enlaces β 1-3, 1-4 y 1-6). En la presente solicitud, se ha demostrado especialmente que las pectinasas reivindicadas conducían a resultados mucho mejores a nivel del módulo de ultrafiltración que las 3 enzimas citadas anteriormente en el documento EP 1 363 999.

35 En cuanto a las pectinasas, éstas se utilizan poco todavía para el tratamiento o la valorización de las materias de almidón. Se conoce a este respecto sólo el documento 1 591 019, que se refiere al tratamiento de patatas con la ayuda de tales enzimas. Finalmente, cabe señalar que el documento EP 0 552 728 describe unas pectinas particulares, y de las cuales se precisa que no tienen ninguna actividad enzimática frente al almidón. El documento Analysis of membrane fouling during cross-flow microfiltration of wine de El Rayess *et al.*, Innovative Food Science & Emerging Technologies, Vol. 16, páginas 398-408, describe la utilización de las pectinasas para hidrolizar las pectinas del vino con el fin de facilitar su microfiltración.

40 El objeto de la presente invención consiste por lo tanto en un procedimiento de extracción de β -amilasas a partir de una fracción soluble de planta de almidón que comprende:

45 a) una etapa de microfiltración de una fracción soluble de planta de almidón,

b) seguida de una etapa de ultrafiltración del permeado de microfiltración,

caracterizándose dicho procedimiento por que la etapa de ultrafiltración se realiza en presencia de al menos una pectinasa.

50 Como ya se ha explicado, la etapa de ultrafiltración tiene, en primer lugar, como objetivo concentrar el permeado de microfiltración que contiene la β -amilasa, y liberarlo al mismo tiempo de eventuales sales residuales contaminantes, azúcares y proteínas. Se introduce la pectinasa en el permeado de microfiltración antes de realizar la etapa de ultrafiltración. Antes de realizar la ultrafiltración, se deja por lo tanto actuar la pectinasa a nivel del permeado de

microfiltración: el experto en la materia sabrá adaptar el tiempo de contacto necesario para la acción de la enzima.

Típicamente, se deja actuar la pectinasa de 30 minutos a 4 horas, preferiblemente de 30 minutos a 2 horas como máximo, y esto a una temperatura comprendida entre 25°C y 60°C, preferiblemente entre 25°C y 50°C.

5 Unas pectinasas particularmente adecuadas para la realización de la presente invención son los productos Rapidase™ ADEX D (pectinasa; DSM), Pecllyve™ ESP (pectinasa; Lyven), o Sumizyme™ ARS (pectinasa y arabanasa; Takabio), sin que por eso estos ejemplos sean limitativos.

Se preferirá introducir una cantidad de pectinasa comprendida entre el 0,05% y el 1% en volumen en estado de pectinasa con respecto al volumen total del permeado de microfiltración.

10 Más particularmente, la compañía solicitante recomienda realizar la ultrafiltración con la ayuda de membranas que presentan un umbral de corte de 10000 Da a 50000 Da, preferentemente un umbral de 30000 Da. Las fracciones solubles se ultrafiltran sobre un módulo equipado de membranas polisulfonadas de un umbral de corte de 30000 Da en casetes a escala de laboratorio y membranas en espirales polisulfonadas de un umbral de corte de 30000 Da a escala piloto. La enzima se concentra entonces en el retentado a lo largo del tiempo.

15 La etapa de ultrafiltración se puede acompañar de una etapa de diálisis del retentado de ultrafiltración a fin de disminuir la concentración de impurezas en dicho retentado.

Al principio del procedimiento conforme a la invención, conviene elegir la fracción soluble de plantas de almidón a tratar. Esta selección se lleva a cabo especialmente en el grupo constituido de las fracciones solubles de trigo, patata, guisante, haba, habichuela, arroz, cebada, centeno, alforfón, batata y preferiblemente trigo y cebada.

20 La primera etapa del procedimiento conforme a la invención consiste en realizar una etapa de microfiltración de dichas fracciones solubles. Esta etapa tiene lugar, ventajosamente, en presencia de al menos una proteasa: en este caso, la proteasa se pone en contacto con la fracción soluble de planta de almidón a tratar (el experto en la materia sabrá adaptar el tiempo de contacto necesario para la acción de la enzima).

25 La proteasa utilizada en la presente invención se selecciona entre las serinaproteasas, las proteasas con tiol, las aspartil proteasas y las metalo proteasas, y se selecciona más particularmente entre las metalo proteasas. De manera nominativa, las proteasas preferidas en la presente invención son los productos comercializados bajo las denominaciones: Sumizyme™ APL (Takabio), Lypaine™ 6500 L (Lyven), Neutrase™ 0,8L (Novozymes), Brewlyve™ NP 900 (Lyven), Brewers Clarex™ (Brewers). Se preferirá utilizar una cantidad de proteasa comprendida entre el 0,01% y el 0,1% en volumen con respecto al volumen de la fracción soluble de planta de almidón a tratar.

30 La etapa de microfiltración del procedimiento conforme a la invención se realiza preferiblemente por microfiltración tangencial membranaria. Más particularmente, la compañía solicitante recomienda realizar la microfiltración tangencial con unas membranas cerámicas que presentan una porosidad de 0,1 µm a 1 µm.

De manera facultativa, la etapa de microfiltración puede precederse 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.

35 Para esta primera etapa de microfiltración, la solicitante recomienda trabajar a un pH comprendido entre 4 y 5, y a una temperatura comprendida entre 40°C y 50°C.

Finalmente, un segundo objeto de la presente invención consiste en la utilización de al menos una pectinasa en un procedimiento de extracción de β-amilasas a partir de una fracción soluble de planta de almidón.

Los ejemplos siguientes permiten entender mejor la invención, sin, no obstante, limitar su alcance.

40 Ejemplos

Ejemplo 1

45 Este ejemplo tiene por objeto demostrar el beneficio de usar las pectinasas durante la etapa de ultrafiltración, sobre un procedimiento a escala industrial. En este ejemplo, se realiza, en primer lugar, la microfiltración de fracciones solubles de trigo. A continuación, se realiza la etapa de ultrafiltración sin adición de enzima (referencia) o con una enzima fuera de la invención (celulasa, hemicelulasa y β-glucanasa), o según la invención (pectinasa).

Se comienza extrayendo en el almidón de trigo una fracción soluble a la entrada del evaporador de los solubles, etapa clásicamente llevada a cabo para fabricar unos productos destinados a la alimentación del ganado, una vez concentrados. Estos productos se comercializan por la compañía solicitante bajo el nombre de Corami®. Estas fracciones solubles presentan un pH comprendido entre 4 y 5, y una actividad β-amitásica del orden de 30 °DP/ml.

50 Se realiza aquí, en un equipamiento a escala piloto, la microfiltración de fracciones solubles de trigo. La unidad de microfiltración está equipada de membranas cerámicas de óxido de titanio, cuyo umbral de corte es igual a 0,2 µm. El

caudal de permeado está fijado a 12 l/h m². El factor de concentración volúmica es igual a 1,5. La temperatura y el pH del permeado son, respectivamente, iguales a 45°C y aproximadamente 4,5.

Se añade en la fracción soluble la proteasa a ensayar, a una concentración fijada al 0,1% en volumen con respecto al volumen total de dicha composición. Se deja previamente actuar esta proteasa durante 1 hora.

- 5 Se obtiene un permeado de microfiltración con un grado DP de 25 °DP/ml después de 1 hora de microfiltración, reflejando este grado la actividad enzimática de la solución que contiene la β-amilasa. La medición de la actividad enzimática se determina mediante la actividad diastásica. Esta última se expresa en grado de poder diastásico (°DP), definido como la cantidad de enzima contenida en 0,1 ml de una solución al 5% de una muestra de preparación de enzimas suficiente para reducir 5 ml de licor de Fehling, cuando dicha muestra se coloca en 100 ml de sustrato durante 1 h a 20°C.

La etapa de microfiltración va seguida por una etapa de ultrafiltración, realizada sobre el permeado de microfiltración. Tiene como principal objetivo concentrar dicho permeado y liberarlo de eventuales sales residuales contaminantes, azúcares y proteínas. El piloto de ultrafiltración está equipado de membranas orgánicas de polisulfona, que tiene un umbral de corte 25 KDa (membranas Alfa Laval).

- 15 En el ámbito de la referencia (ensayo nº 1), se realiza la ultrafiltración del permeado sin añadirla nada. En el ámbito de un ensayo comparativo, se añade al permeado el producto Optiflow™ RC 2.0 (Genencor) que es una preparación enzimática a base de celulasas, hemicelulasas y β-glucanasa (ensayo nº 2).

En el caso de la invención, se añade una pectinasa que es la Rapidasa™ Adex D comercializada por DSM (ensayo nº 3) y la Pectlyve™ ESP comercializada por Lyven (ensayo nº 4).

- 20 Para el ensayo comparativo y la invención, se añade, en el permeado de microfiltración, la enzima a ensayar a una concentración del 0,1% en volumen con respecto al volumen del producto a filtrar. Se deja previamente actuar esta enzima durante 1 hora a 35°C, la temperatura de filtración se fija después a 25°C para limitar al máximo los desarrollos bacteriológicos y preservar la actividad enzimática.

- 25 La presión transmembranaria (PTM) se fija a 1 bar; para el conjunto de los ensayos, se sigue la bajada del caudal de permeado en función del factor de concentración volúmica: este flujo decrece en el tiempo a medida que la membrana se colmata (figura 1). Cuanto más importante sea el caudal, mejor es el rendimiento de filtración. Se comprueba bien en la figura 1 que los caudales más importantes se obtienen para las 2 pectinasas.

- 30 El % de transmisión del Brix permite, por su parte, evaluar la eficacia de la hidrólisis de los azúcares complejos "indeseables", azúcares en parte responsables de la viscosidad del retentado, del aumento de presión del sistema y de la limitación del aumento de concentración de la parte enzimática (figura 2). Este Brix corresponde a la fracción en azúcares presentes a nivel del permeado de ultrafiltración. Se constata en la figura 2 que son las 2 pectinasas las que conducen a un Brix más importante.

Finalmente, la tabla 1 da el contenido en materia (MS en %) seca del retentado de ultrafiltración, así como su contenido en % en peso seco de proteínas y de azúcares.

- 35 La determinación del contenido de proteínas de dicha composición proteica conforme a la invención se realiza mediante el método de determinación del nitrógeno según el método de DUMAS en unas muestras cuyo contenido presupuesto de nitrógeno es superior al 0,030% (peso/peso), según la norma NF V 18-120 – marzo de 1997. Este contenido en proteínas (N x 6,25) se expresa en gramos por 100 gramos de producto seco.

- 40 Los azúcares totales se miden por cromatografía en fase gaseosa. Su contenido se expresa en % en peso seco de azúcares totales con respecto al peso seco total de la composición.

Son los ensayos según la invención los que conducen a las riquezas más elevadas de β-amilasa y a los contenidos en azúcares más bajos.

Tabla 1

| Ensayo nº | 1 | 3 | 4 | 2 |
|--|------|------|------|------|
| MS (%) | 26,4 | 14,7 | 17,1 | 28,3 |
| Proteínas N x 6.25 (g / 100 g producto seco) | 43 | 88 | 73 | 48 |
| Azúcares totales (% seco) | 57% | 12% | 27% | 52% |

- 45 Ejemplo 2

Este ejemplo tiene por objeto demostrar el beneficio de utilizar unas pectinasas durante la etapa de ultrafiltración, a través de los ensayos que tienen como objetivo determinar la capacidad de las diferentes enzimas para hidrolizar la fracción rica en azúcares del permeado de microfiltración obtenido según el ejemplo 1.

5 Estos ensayos se llevan a cabo a escala de laboratorio: permiten, a través de simples mediciones de tipo HPLC, discriminar rápidamente las enzimas que presentan un interés potencial para la etapa de ultrafiltración realizada a mayor escala.

De manera práctica, las enzimas a ensayar se introducen en los matraces Erlenmeyers dotados de una barra magnética y que contienen 100 ml del permeado de microfiltración, como se obtiene según el ejemplo 1.

10 La cantidad de enzima añadida es de 1 ml. En el caso de mezcla de varias enzimas, el volumen total de las diferentes enzimas es de 1 ml, repartido de manera igual para cada una de las enzimas. El pH del sustrato no ha cambiado y está comprendido entre 4 y 5. Los matraces Erlenmeyers se colocan en un baño maría a 42°C bajo agitación, el tiempo de contacto es de 3h. Antes del análisis HPLC, las muestras se desmineralizan previamente con las resinas AG4-X4 y AG50W-X8 (5 ml de cada resina para 10 ml de muestra), se filtran sobre 0,45 µm y se ponen en Brix 3 con agua.

15 A continuación, se realiza un análisis de la muestra por cromatografía en fase líquida (HPLC), utilizando esta etapa un aparato HPLC de tipo Water 171 Plus Autosampler equipado de una columna de plomo Aminex HPX-87P. El aparato está calibrado a un caudal de 0,4 µl/min y a una temperatura de 85°C.

20 Esta técnica permite medir rápidamente la aparición de monómeros e identificar estos últimos. Los resultados se dan en porcentaje de superficie de los picos, la distribución de las superficies sobre el cromatograma es representativa de la composición con respecto a la materia seca; se admite que todas las especies se eluyen y poseen el mismo coeficiente de respuesta. La adición de un patrón interno (galactitol) de concentración conocida permite calcular la concentración (en g/kg) de cada uno de los monómeros presentes en la muestra.

Se determina entonces para cada muestra el contenido de glucosa, xilosa, galactosa, arabinosa, fructosa y en azúcares de grados de polimerización superiores, así como el contenido en azúcares libres totales después de una hidrólisis ácida.

25 Las enzimas ensayadas son las siguientes:

- Celluclast™ 1.5 L (endoglucanasa; Novozymes)
- Ultraflow™ L (Betaglucanasa y arabinofuranosidasa; Novozymes)
- Viscozyme™ L (betaglucanasa; Novozymes)
- Optiflow™ RC 2.0 (betaglucanasa; Genecor)
- Shearzyme™ 500L (xilanasas; Novozymes)
- Depol™ 740 L (esterasa ferúlica; Biocatalysts)
- Rapidase™ ADEX D (pectinasa; DSM)
- Peclyve™ ESP (pectinasa; Lyven)
- Sumizyme™ ARS (pectinasa y arabanasa; Takabio)

- 35
- Viscoseb™ WWL (betaglucanasa, xilanasas y hemicelulosa; Seb)
 - Optimash™ TGB (betaglucanasa, xilanasas y celulosa; Genecor)
 - Seb Grain™ B (pentosanasa; Seb)

Los resultados aparecen en las tablas 2 y 3.

Tabla 2

40

| Resultados en g / kg | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|----------------------|-------------|------------------|-------------|----------------|----------------|------------------------------|
| | Permeado MF | Celluclast 1,5 L | Ultraflow L | Optiflow RC2.0 | Shearzyme 500L | 1+2+Viscozyme L + Depol 740L |
| DP sup | 11,9 | 14,2 | 12,5 | 14,7 | 13,9 | 13,4 |

ES 2 784 226 T3

| | | | | | | |
|-----------------------|-----|------|------|------|------|------|
| Maltosa | 17 | 21,1 | 21,2 | 18,8 | 20,4 | 13 |
| Glucosa | 2,6 | 3,2 | 3,7 | 4,7 | 3,1 | 10,4 |
| xilosa | 0,4 | 1,2 | 1,3 | 1,3 | 1,4 | 1,3 |
| Galactosa | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,5 |
| Arabinosa | 0,3 | 0,4 | 1,5 | 0,7 | 0,2 | 1,4 |
| Fructosa | 1,3 | 1,5 | 1,4 | 1,4 | 1,4 | 1,7 |
| Total azúcares libres | 4,8 | 6,4 | 8,1 | 8,2 | 6,3 | 15,4 |

Tabla 3

| Resultados en g / kg | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|-----------------------|---------------|-------------|--------------|--------------|--------------|-------------|
| | rapidase ADEX | peclyve ESP | sumizyme ARS | viscoseb WWL | optimash TGB | seb grain B |
| DP sup | 10,4 | 11,3 | 9,9 | 13,5 | 13,7 | 13,3 |
| Maltosa | 7,3 | 8,9 | 4,7 | 17,7 | 18,5 | 23,6 |
| Glucosa | 13,5 | 13,4 | 16,1 | 6,1 | 2,5 | 2,4 |
| Xilosa | 1,8 | 1,3 | 2,1 | 1 | 0,8 | 0,2 |
| Galactosa | 0,7 | 0,6 | 0,7 | 0,2 | 0,1 | 0 |
| Arabinosa | 1,6 | 1,3 | 1,4 | 0,5 | 0,1 | 0,1 |
| Fructosa | 4,9 | 1,9 | 6,2 | 1,7 | 1,2 | 1,1 |
| Total azúcares libres | 22,4 | 18,5 | 26,4 | 9,6 | 4,6 | 3,8 |

5 En comparación con las otras enzimas, las pectinasas Rapidase™ Adex, Pclyve™ ESP y Sumizyme™ ARS presentan la mayor eficacia para la hidrólisis de la fracción rica en azúcares del permeado de microfiltración. Este efecto se traduce por una liberación de los azúcares y una disminución de altos grados de polimerización. Estos resultados han podido confirmarse durante unos ensayos de filtración sobre piloto.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de extracción de β -amilasas a partir de una fracción soluble de planta de almidón que comprende:
 - a) una etapa de microfiltración de una fracción soluble de planta de almidón,
 - b) seguida de una etapa de ultrafiltración del permeado de microfiltración,
- 5 caracterizándose dicho procedimiento por que la etapa de ultrafiltración se realiza en presencia de al menos una pectinasa.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que se introduce la pectinasa en el permeado de microfiltración antes de realizar la etapa de ultrafiltración.
- 10 3. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado por que utiliza una pectinasa a una concentración del 0,05% al 1% en volumen con respecto al volumen de permeado de microfiltración.
4. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que la ultrafiltración utiliza al menos una membrana que presenta un umbral de corte de 10000 Da a 50000 Da, preferentemente un umbral de 30000 Da.
- 15 5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que la etapa de ultrafiltración se acompaña de una etapa de diálisis del retentado de ultrafiltración.
6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que la etapa de microfiltración tiene lugar en presencia de al menos una proteasa, poniéndose esta en contacto con la fracción soluble de planta de almidón.
- 20 7. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por que la etapa de microfiltración se realiza preferiblemente por microfiltración tangencial membranaria, preferiblemente con unas membranas cerámicas que presentan una porosidad de 0,1 μm a 1 μm .

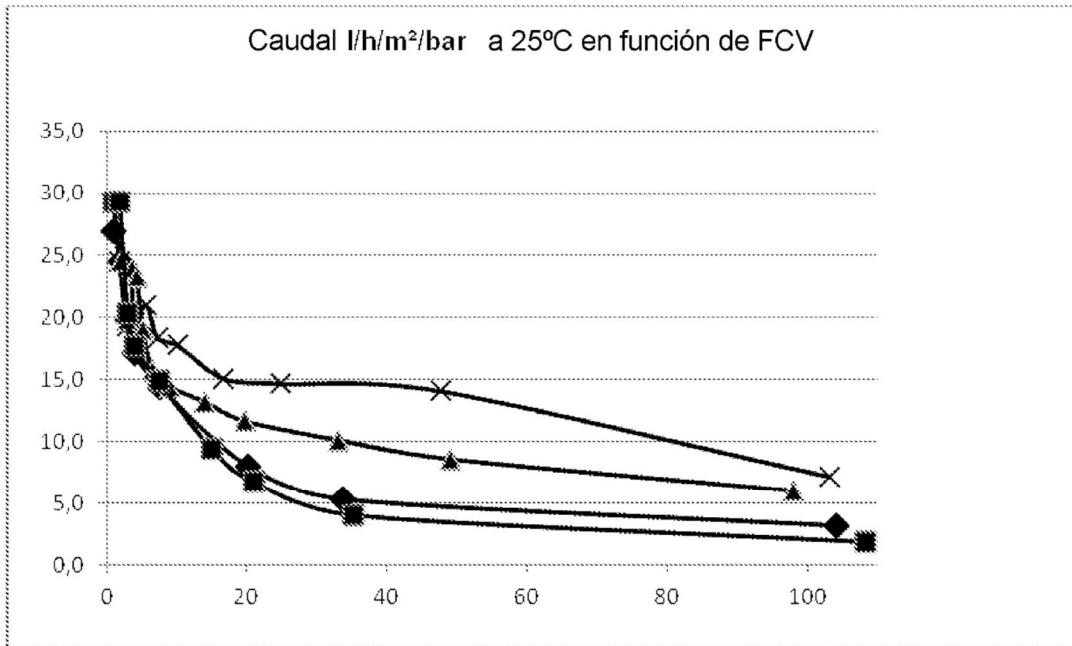


Figura 1 / 2

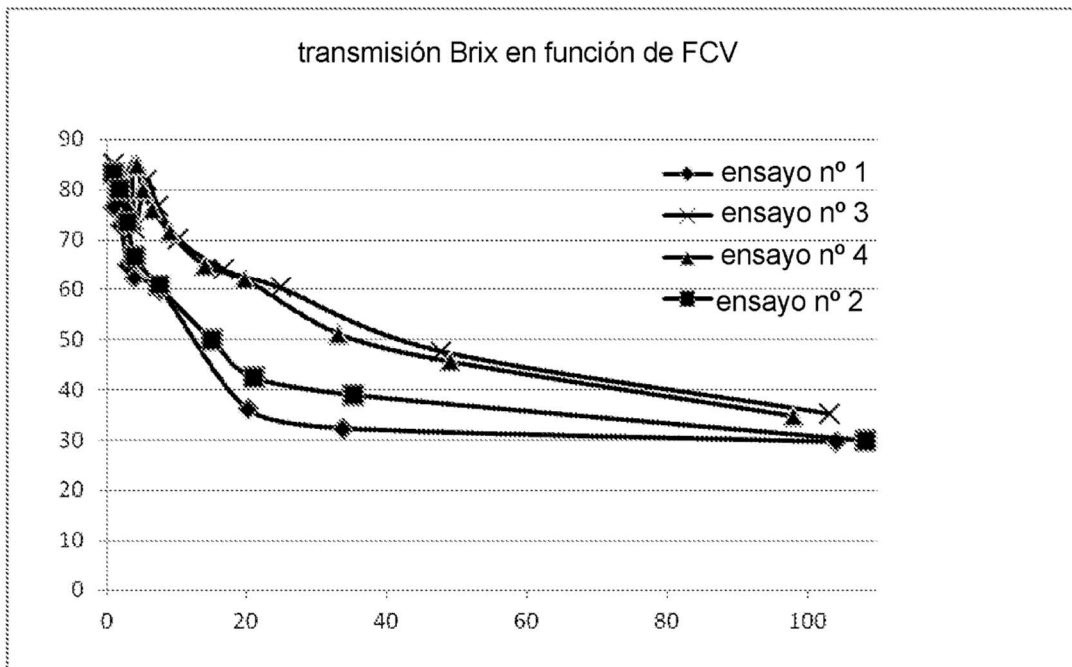


Figura 2 / 2