



(51) МПК

A23J 1/14 (2006.01)*A23J 3/14* (2006.01)*A23K 1/18* (2006.01)*A23K 1/14* (2006.01)*C11B 1/10* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2006133281/13, 17.02.2005

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
17.02.2005(30) Конвенционный приоритет:
17.02.2004 US 60/544,346

(43) Дата публикации заявки: 27.03.2008

(45) Опубликовано: 20.04.2010 Бюл. № 11

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: WO 02089597 A1, 14.11.2002. US 6005076,
21.12.1999. WO 03088760, 30.10.2003. WO
03053157, 03.07.2003. WO 2004000031,
31.12.2003. CA 2335745, 13.08.2002.(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную
фазу: 18.09.2006(86) Заявка РСТ:
CA 2005/000201 (17.02.2005)(87) Публикация РСТ:
WO 2005/077201 (25.08.2005)Адрес для переписки:
103735, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО
"Союзпатент", пат.пов. И.С.Саломатиной

(72) Автор(ы):

ШВАЙЦЕР Мартин (СА),**ГРИН Брент Э. (СА),****УИЛЛАРДСЕН Рэнди (US)**

(73) Патентообладатель(и):

**БАРКОН НЬЮТРАСАЙНС (МБ) КОРП.
(СА)**

(54) ПОЛУЧЕНИЕ ИЗОЛЯТА БЕЛКА КАНОЛЫ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В АКВАКУЛЬТУРЕ

(57) Реферат:

Изобретение относится к получению изолята белка канолы и его применению в аквакультуре. Способ получения изолята белка канолы включает экстрагирование муки из масличных семян канолы с тем, чтобы вызвать солиubilизацию белка в указанной муке из масличных семян канолы и образование водного белкового раствора, имеющего содержание белка от 5 до 40 г/л и рН от 5 до 6,8. После этого проводят отделение водного белкового раствора от остаточной муки из масличных семян канолы. Далее осуществляют повышение концентрации белка

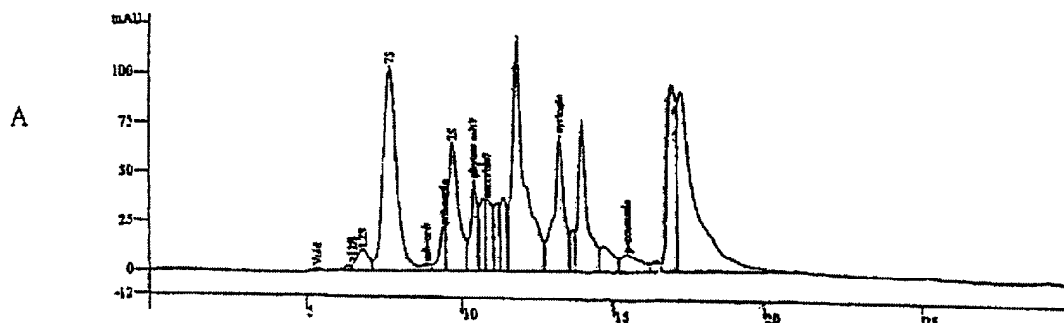
в указанном водном белковом растворе, по меньшей мере, до 50 г/л при одновременном поддержании ионной силы раствора, в основном, постоянной с помощью селективной мембранной техники с получением концентрированного белкового раствора. Затем проводят сушку концентрированного белкового раствора для получения изолята белка канолы, имеющего содержание белка, по меньшей мере, 90 мас.% (N×6,25), предпочтительно, по меньшей мере, 100 мас.% в сухом веществе. При этом указанный изолят белка канолы имеет белковый профиль канолы, который включает от 25 до 55 мас.%

белка канолы 2S, от 45 до 75 мас.% белка канолы 7S и от 0 до 15 мас.% белка канолы 12S, предпочтительно включает от 40 до 50 мас.% белка канолы 2S, от 50 до 60 мас.% белка канолы 7S и от 1 до 5 мас.% белка

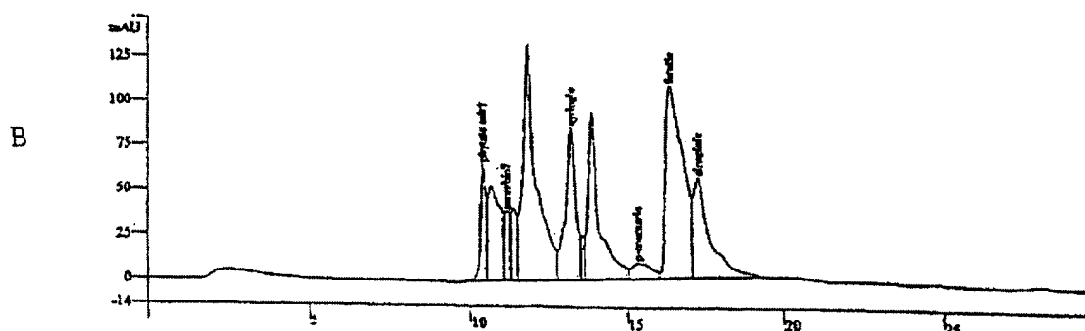
канолы 12S. Изобретение позволяет получить белковый продукт канолы, характеризующийся высоким коэффициентом эффективности белка. 2 н. и 9 з.п. ф-лы, 2 ил., 11 табл.

Лабораторное исследование – хроматограммы HPLC-SEC

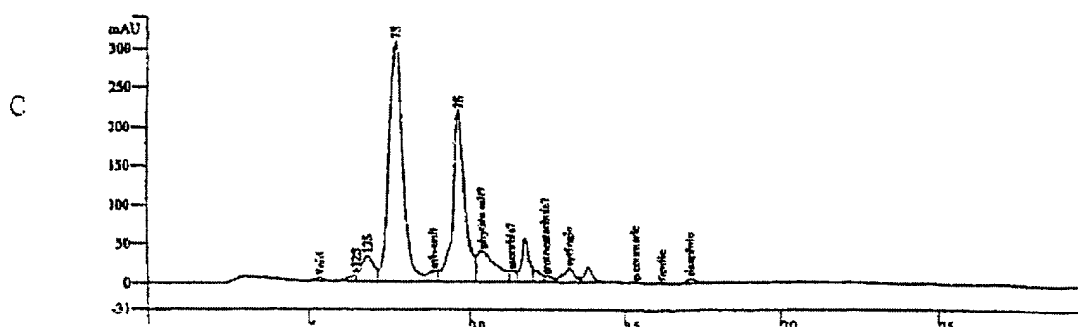
Лабораторный экстракт, полученный 11 декабря 2003 г.:
хроматограмма SEC- HPLC разбавление 1:4, 50 мкл.



Лабораторный DF (диафильтрованный) пермеат, полученный 12 дек. 2003 г.:
хроматограмма SEC-HPLC без разбавления, 50 мкл.



Лабораторный DF (диафильтрованный) UF (ультрафильтрованный)
диализованный изолят, полученный 17 декабря 2003 г.:
хроматограмма SEC-HPLC 1%, 50 мкл.



Фиг. 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

A23J 1/14 (2006.01)**A23J 3/14** (2006.01)**A23K 1/18** (2006.01)**A23K 1/14** (2006.01)**C11B 1/10** (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2006133281/13, 17.02.2005**(24) Effective date for property rights:
17.02.2005(30) Priority:
17.02.2004 US 60/544,346(43) Application published: **27.03.2008**(45) Date of publication: **20.04.2010 Bull. 11**(85) Commencement of national phase: **18.09.2006**(86) PCT application:
CA 2005/000201 (17.02.2005)(87) PCT publication:
WO 2005/077201 (25.08.2005)Mail address:
**103735, Moskva, ul. Il'inka, 5/2, OOO
"Sojuzpatent", pat.pov. I.S.Salomatinoj**

(72) Inventor(s):

ShVAJT'sER Martin (CA),**GRIN Brent Eh. (CA),****UILLARSEN Rehndi (US)**

(73) Proprietor(s):

BARKON N'JuTRASAJNS (MB) KORP. (CA)**(54) PRODUCTION OF CANOLA PROTEIN ISOLATE AND ITS APPLICATION IN AQUACULTURE**

(57) Abstract:

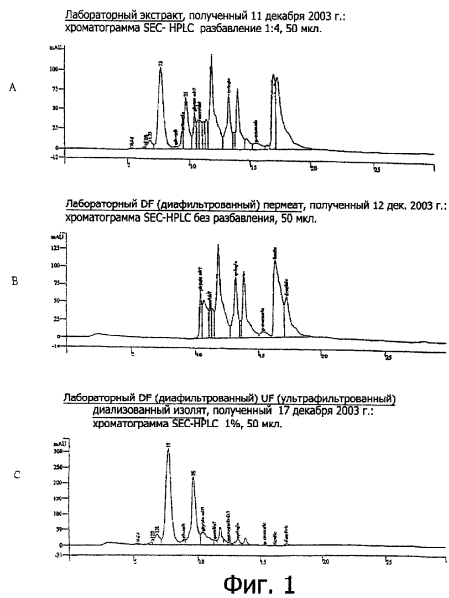
FIELD: food industry.

SUBSTANCE: invention relates to production of canola protein isolate and its application in aquaculture. Production method of canola protein isolate involves extracting flour from canola oil seeds so to induce solubilisation of the protein in this flour from canola oil seeds and making an aqueous protein solution with protein content between 5 and 40 g/l and pH between 5 and 6.8. Then the aqueous protein solution is separated from the residual flour from canola oil seeds. Then protein concentration is raised in this aqueous protein solution to at least 50 g/l at the same time maintaining the solution ionic strength which is stable by means of selective membrane technology to obtain concentrated protein solution. Then the

concentrated protein solution is dried so to produce canola protein isolate with the protein content of 90 wt % minimum (N×6.25), with preference to have 100 wt % minimum in dry matter. For this the specified canola protein isolate has canola protein profile that includes between 25 and 55 wt % of canola protein 2S, between 45 and 75 wt % of canola protein 7S and between 0 and 15 wt % of canola protein 12S, preferably includes between 40 and 50 wt % of canola protein 2S, between 50 and 60 wt % of canola protein 7S and between 1 and 5 wt % of canola protein 12S.

EFFECT: invention enables to produce canola protein product characterised by a high protein efficiency ratio.

11 cl, 5 dwg, 11 tbl, 3 ex



RU 2 3 8 6 3 4 1 C 2

RU 2 3 8 6 3 4 1 C 2

Ссылка на родственную заявку

Настоящая заявка претендует согласно 35 Своду законов США 119(e) на дату приоритета, указанную в заявке, на временный патент США №60/544346 с датой подачи 17 февраля 2004 г.

Область техники

Настоящее изобретение относится к получению изолятов белка канолы и их применению в аквакультуре.

Предшествующий уровень техники

Изоляты белка канолы можно получать из муки из масличных семян канолы. В совместно рассматриваемой заявке на патент США №10/137391 с датой подачи 3 мая 2002 г. и соответствующей РСТ публикации № WO 02/089597, правопреемником которых является автор настоящей заявки и которые включены в перечень ссылок, принятых во внимание при составлении настоящей заявки, описывается способ получения изолятов белка канолы из муки из масличных семян канолы, причем такие изоляты имеют содержание белка, по меньшей мере, 100 мас.% (N×6,25). Способ содержит многостадийный процесс, включающий: экстрагирование муки из масличных семян канолы с использованием солевого раствора; отделение полученного водного белкового раствора от остаточной муки из масличных семян канолы; повышение концентрации белка водного раствора, по меньшей мере, примерно до 200 г/л при одновременном поддержании ионной силы раствора, в основном, постоянной с применением селективной мембранной техники; разбавление полученного концентрированного белкового раствора охлажденной водой с тем, чтобы вызвать образование белковых мицелл; осаждение белковых мицелл отстаиванием с образованием аморфной, клейкой, студенистой подобно клейковине, белковой мицеллярной массы (РММ) и извлечение белковой мицеллярной массы из супернатанта, имеющего содержание белка, по меньшей мере, примерно 100 мас.% при определении по Кьельдалю (N×6,25). В настоящем контексте содержание белка определяется в пересчете на сухое вещество. Извлеченная РММ может подвергаться сушке.

В одном из вариантов осуществления описанного выше способа и, как конкретно описывается в заявке №10/137391, супернатант от стадии осаждения РММ подвергается обработке для получения белкового изолята, содержащего сухой белок из влажной РММ и супернатанта. Эта процедура может осуществляться путем начального концентрирования супернатанта с применением ультрафильтрационных мембран, смешивания концентрированного супернатанта с влажной РММ и сушки смеси. Полученный изолят белка канолы имеет высокую степень чистоты, по меньшей мере, примерно 90 мас.% белка (N×6,25), предпочтительно, по меньшей мере, примерно 100 мас.% белка (N×6,25).

В другом варианте осуществления описанного выше способа и, как конкретно описывается в заявке №10/137391, супернатант от стадии осаждения РММ подвергается обработке для извлечения белка из супернатанта. Эта процедура может осуществляться путем начального концентрирования супернатанта с применением ультрафильтрационных мембран и сушки концентрата. Полученный изолят белка канолы имеет высокую степень чистоты, по меньшей мере, примерно 90 мас.% белка (N×6,25), предпочтительно, по меньшей мере, примерно 100 мас.% белка (N×6,25).

Способы, описанные в вышеупомянутых заявках на патенты США, являются преимущественно периодическими способами. В совместно рассматриваемой заявке

на патент США №10/298678 с датой подачи 19 ноября 2002 г. и соответствующей РСТ публикации № WO 03/043439, правопреемником которых является автор настоящей заявки и которые включены в перечень ссылок, принятых во внимание при составлении настоящей заявки, описывается непрерывный способ получения изолятов белка канолы. В соответствии с этим способом мука из масличных семян канолы непрерывно смешивается с солевым раствором; смесь транспортируется по трубопроводу с одновременной экстракцией белка из муки из масличных семян канолы с образованием водного белкового раствора; водный белковый раствор непрерывно отделяется от остаточной муки из масличных семян канолы; водный белковый раствор непрерывно пропускается через селективную мембранную операцию для увеличения содержания белка в водном белковом растворе, по меньшей мере, примерно до 200 г/л при одновременном поддержании ионной силы раствора, в основном, постоянной; полученный концентрированный белковый раствор непрерывно смешивается с охлажденной водой с тем, чтобы вызвать образование белковых мицелл, и белковые мицеллы непрерывно осаждаются отстаиванием, в то время как супернатант непрерывно сливается с осадка до тех пор, пока в отстойнике не накопится требуемого количества РММ. РММ выгружается из отстойника и может подвергаться сушке. РММ имеет содержание белка, по меньшей мере, примерно 90 мас.% при определении его по содержанию азота методом Кьельдаля ($N \times 6,25$), предпочтительно, по меньшей мере, примерно 100 мас.% ($N \times 6,25$).

Как описывается в вышеупомянутой заявке на патент США №10/137391, сливаемый с осадка супернатант может подвергаться обработке с целью извлечения из него изолята белка канолы.

Известно, что семена канолы содержат примерно от 10 до 30 мас.% белков, и несколько различных белковых компонентов уже идентифицированы. Эти белки имеют различные коэффициенты седиментации (S). Эти известные и идентифицированные белки включают глобулин 12S, известный как круциферин, и запасной белок 2S, известный как напин.

Как описывается в совместно рассматриваемой заявке на патент США №10/413371 с датой подачи 15 апреля 2003 г. и соответствующей РСТ публикации № WO 03/088760, правопреемником которых является автор настоящей заявки и которые включены в перечень ссылок, принятых во внимание при составлении настоящей заявки, изолят белка канолы, полученный из РММ, состоит преимущественно из белка 7S, наряду с некоторым количеством белка 12S, в то время как изолят белка канолы, полученный из супернатанта, состоит преимущественно из белка 2S.

В таком способе предшествующего уровня техники изоляты белка канолы получают отдельно из концентрированного раствора белка канолы путем осаждения РММ и отдельной обработки супернатанта для получения дополнительных количеств раствора белка канолы.

Канола известна также как рапсовое семя или масличный рапс.

Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении концентрированный белковый раствор от стадии концентрирования белка сразу подвергается сушке без обработки для получения РММ и отдельной обработки супернатанта. Такая процедура упрощает производство изолята белка канолы, который имеет широкий спектр белков 12S, 7S и 2S. Вследствие меньшего количества стадий процесса способ получения изолята становится более экономичным.

Таким образом, в одном из аспектов настоящего изобретения обеспечивается

способ получения изолята белка канолы, который включает: (а) экстрагирование муки из масличных семян канолы с тем, чтобы вызвать солюбилизацию белка в указанной муке из масличных семян канолы и получить водный белковый раствор, имеющий содержание белка примерно от 5 до 40 г/л и рН примерно от 5 до 6,8; (б) отделение водного белкового раствора от остаточной муки из масличных семян канолы; (в) повышение концентрации белка в указанном водном белковом растворе, по меньшей мере, примерно до 50 г/л при одновременном поддержании ионной силы раствора, в основном, постоянной с применением селективной мембранной техники для обеспечения концентрированного белкового раствора; и (г) сушку концентрированного белкового раствора с получением изолята белка канолы, имеющего содержание белка, по меньшей мере, примерно 90 мас.% (N×6,25) в пересчете на сухое вещество.

Изолят белка канолы, полученный в соответствии с настоящим изобретением, имеет белковый профиль канолы, включающий примерно от 25 до 55 мас.% белка канолы 2S, примерно от 45 до 75 мас.% белка канолы 7S и примерно от 0 до 15 мас.% белка канолы 12S; предпочтительно - примерно от 40 до 50 мас.% белка канолы 2S, примерно от 50 до 60 мас.% белка канолы 7S и примерно от 1 до 5 мас.% белка канолы 12S.

Изолят белка канолы, полученный согласно описываемому здесь способу, может применяться в традиционных областях использования белковых изолятов, например, для обогащения белком пищевых продуктов технологической обработки, для эмульгирования масел, в качестве структурообразователя в хлебопекарных изделиях и пенообразователя во взбитых продуктах. В дополнение к этому изоляты белка канолы могут формироваться в виде белковых волокон, пригодных для использования в аналогах мяса; могут использоваться как заменитель яичного белка или как наполнитель, удешевляющий стоимость тех пищевых продуктов, в которых традиционно используется яичный белок в качестве связующего агента. Изолят белка канолы может использоваться и как питательная добавка. К другим сферам его применения относятся производство кормов для домашних животных, животных кормов, аквакультуры, а также промышленное использование и применение в косметике и в средствах личной гигиены.

Поскольку белковые изоляты, получаемые способом настоящего изобретения, в большинстве случаев характеризуются меньшей степенью чистоты, в частности, более высоким содержанием соли, чем изоляты, получаемые способами, описанными в вышеупомянутых заявках на патенты США, они предпочтительно используются в непивцевых целях. Одним из конкретных примеров такого использования белковых изолятов является использование их в качестве корма в аквакультуре, что более подробно описывается ниже. Однако белковые изоляты могут подвергаться обработке с целью снижения в них остаточного содержания соли с применением любых традиционных методов, таких как диализ или диафильтрация.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения обеспечивается кормовая композиция для аквакультуры, содержащая изолят белка канолы, полученный способом, обеспечиваемым настоящим изобретением. Кормовая композиция может составлять специально для кормления лососевых, включая лосося и форель.

Краткое описание чертежей

Фиг.1А-С представляют собой HPLC хроматограммы профилей образцов, полученных, начиная с экстракции в лабораторных условиях и кончая производством готового изолята белка канолы.

Фиг.2А и В представляют собой HPLC хроматограммы профилей изолята белка канолы, полученного экстракцией в пилотной установке.

Подробное описание изобретения

Изолят белка канолы может выделяться из муки из масличных семян канолы либо периодическим, либо непрерывным, либо полунепрерывным способом, как описывается в вышеупомянутых заявках на патенты США.

Начальная стадия способа обеспечения изолятов белка канолы включает солюбилизацию белкового материала из муки из масличных семян канолы. Белковый материал, извлеченный из муки из семян канолы, может быть нативным белком семян канолы или других масличных семян либо этот белковый материал может быть модифицированным генетической манипуляцией, но обладающим характерными для нативного белка гидрофобными и полярными свойствами. Мука канолы может быть любой мукой канолы, полученной от удаления масла канолы из масличных семян канолы и содержащей варьирующие уровни не денатурированного белка, например, от экстракции горячим гексаном или от холодной экструзии масла. Удаление масла канолы из масличных семян канолы обычно осуществляется как отдельная операция описываемой здесь процедуры извлечения белкового изолята.

Солюбилизация белка наиболее эффективно осуществляется при использовании раствора соли пищевого качества, поскольку присутствие соли ускоряет извлечение растворимого белка из муки из масличных семян. Если изолят белка канолы предназначается для непищевых целей, например для использования в аквакультуре, то могут использоваться химические реактивы непищевое качества. Соль обычно является хлоридом натрия, хотя могут использоваться и другие соли, такие как хлорид калия. Солевой раствор имеет ионную силу, по меньшей мере, примерно 0,05, предпочтительно, по меньшей мере, примерно 0,10 с тем, чтобы обеспечить солюбилизацию значительных количеств белка. С увеличением ионной силы солевого раствора увеличивается и степень солюбилизации белка в муке из масличных семян до тех пор, пока не достигнет максимального значения. Любое последующее увеличение ионной силы не приводит к повышению общего количества солюбилизированного белка. Ионная сила раствора соли пищевого качества, которая вызывает максимальную солюбилизацию белка, варьирует в зависимости от вида соли и выбранной муки из масличных семян.

Обычно предпочтительным значением ионной силы считается значение примерно менее 0,8, более предпочтительным - примерно от 0,1 до 0,6.

В периодическом способе солевая солюбилизация белка проводится при температуре, по меньшей мере, примерно 5°C, предпочтительно - примерно до 35°C и предпочтительно сопровождается перемешиванием для сокращения времени солюбилизации, которое обычно составляет примерно от 10 до 60 минут.

Предпочтительно солюбилизация проводится таким образом, чтобы экстрагировать, в основном, максимально достижимое на практике количество белка из муки из масличных семян с тем, чтобы обеспечить высокий общий выход продукта.

В качестве нижнего температурного предела выбрана температура 5°C, поскольку при температуре ниже указанной солюбилизация чрезвычайно замедляется, в то время как верхний предпочтительный температурный предел примерно до 35°C выбран постольку, поскольку процесс становится неэкономичным при более высоких температурных уровнях в периодическом режиме.

В непрерывном способе экстракция белка из муки из масличных семян канолы проводится любым путем, обеспечивающим непрерывную экстракцию белка из муки

из масличных семян канолы. В одном из вариантов осуществления изобретения мука из масличных семян канолы непрерывно смешивается с раствором соли пищевого качества, и полученная смесь транспортируется по трубопроводу, длина которого и скорость потока в котором обеспечивают время пребывания смеси в трубопроводе, достаточное для осуществления требуемой экстракции в соответствии с описанными здесь параметрами. В таком непрерывном способе стадия солюбилизации солью происходит быстро - в течение примерно до 10 минут, и предпочтительно солюбилизация осуществляется таким образом, чтобы экстрагировать, в основном, столько белка из муки из масличных семян канолы, сколько практически возможно. Солюбилизация в непрерывном способе предпочтительно проводится при повышенных температурах - предпочтительно выше примерно 35°C, обычно - примерно до 65°C.

Водный раствор соли пищевого качества и мука из масличных семян канолы имеют естественный pH - примерно от 5 до 6,8. Предпочтительными являются значения pH примерно от 5,3 до 6,2.

Величина pH солевого раствора может устанавливаться на стадии экстракции на любом требуемом уровне в диапазоне примерно от 5 до 6,8 с применением соответствующей кислоты, обычно соляной, или щелочи, обычно гидроксида натрия, как требуется.

Концентрация муки из масличных семян в растворе соли пищевого качества на стадии солюбилизации может варьировать в широких пределах. Типичные значения концентрации составляют примерно от 5 до 15% мас./об.

Стадия экстракции белка водным солевым раствором сопровождается дополнительным эффектом, а именно солюбилизацией жиров, которые могут присутствовать в муке канолы и которые могут перейти затем в жиры, присутствующие в водной фазе.

Белковый раствор от стадии экстракции обычно имеет концентрацию белка примерно от 5 до 40 г/л, предпочтительно - примерно от 10 до 30 г/л.

Водный солевой раствор может содержать антиоксидант. Антиоксидант может быть любым, пригодным для данной цели антиоксидантом, таким как сульфит натрия или аскорбиновая кислота. Количество используемого антиоксиданта может варьировать примерно от 0,01 до 1 мас.% и предпочтительно составлять примерно 0,05 мас.%. Антиоксидант служит для ингибирования окисления фенольных соединений в белковом растворе.

Полученная на стадии экстракции водная фаза может затем отделяться от остаточной муки из семян канолы любым пригодным для этой цели способом, например с применением центрифуги-декантера с последующим центрифугированием в тарельчатой центрифуге и/или фильтрацией для удаления остаточной муки. Отделенная остаточная мука может подвергаться сушке перед дальнейшим использованием.

Цвет готового белкового изолята канолы можно улучшить, т.е. сделать его слабо или менее интенсивным желтым, путем смешивания активированного угля в порошке или другого агента, адсорбирующего пигменты, с водным белковым раствором и последующего удаления адсорбента, обычно фильтрацией, с получением белкового раствора. Для удаления пигментов может применяться также диалитическая фильтрация.

Указанная стадия удаления пигментов может проводиться в любых удобных для этой цели условиях, обычно при комнатной температуре отделенного водного белкового раствора с использованием любого пригодного агента, адсорбирующего

пигменты. Активированный уголь в порошке обычно используется в количестве примерно от 0,025 до 5% мас./об., предпочтительно - примерно от 0,05 до 2% мас./об.

Если мука из семян канолы содержит значительные количества жира, как описывается в патентах США №5844086 и №6005076, правопреемником которых является автор настоящей заявки и которые включены в перечень ссылок, принятых во внимание при составлении настоящей заявки, то могут проводиться описанные в указанных патентах стадии обезжиривания отделенного водного белкового раствора и концентрированного водного белкового раствора, что обсуждается ниже. Если проводится стадия улучшения цвета, то эта стадия может осуществляться после первой стадии обезжиривания.

В качестве альтернативы экстрагированию муки из масличных семян водным солевым раствором может проводиться экстрагирование ее только водой, хотя использование одной воды приводит к извлечению меньшего количества белка из муки из масличных семян, чем использование водного солевого раствора. Если используется указанный альтернативный способ, то в этом случае соль в концентрациях, обсуждавшихся выше, может добавляться к белковому раствору после его отделения от остаточной муки из масличных семян с целью сохранения белка в растворе в процессе стадии концентрирования, описанной ниже. Если проводятся стадия удаления пигментов и/или первая стадия обезжиривания, то соль обычно добавляется после завершения указанных операций.

Другим альтернативным способом является экстрагирование муки из масличных семян раствором соли пищевого качества при относительно высоком значении pH - выше примерно 6,8, обычно - при pH до примерно 9,9. Величина pH раствора соли пищевого качества может устанавливаться на требуемом уровне pH в щелочной области с помощью любой, пригодной для данной цели щелочи пищевого качества, такой как водный раствор гидроксида натрия. Альтернативно мука из масличных семян может экстрагироваться солевым раствором при относительно низком pH - ниже примерно pH 5, обычно - при pH ниже примерно 3. В случае проведения такого альтернативного способа водная фаза, полученная на стадии экстрагирования муки из масличных семян, отделяется затем от остаточной муки канолы любым удобным образом, напимер с использованием центрифуги-декантера с последующим центрифугированием в тарельчатой центрифуге и/или фильтрацией для удаления остаточной муки. Отделенная остаточная мука может подвергаться сушке перед дальнейшим использованием.

Величина pH водного белкового раствора, полученного на стадии экстракции при высоком или низком pH, может устанавливаться в диапазоне pH от 5 до 6,8, предпочтительно - в диапазоне pH примерно от 5,3 до 6,2, как обсуждалось выше, перед последующей обработкой, что обсуждается ниже. Такое регулирование pH может проводиться с использованием любой, пригодной для данной цели кислоты, такой как соляная, или щелочи, такой как гидроксид натрия, в зависимости от потребности.

Затем водный белковый раствор концентрируется, обычно примерно в 4-20 раз, для повышения концентрации белка в нем при одновременном поддержании его ионной силы, в основном, постоянной. Указанное концентрирование обычно проводится таким образом, чтобы обеспечить концентрированный белковый раствор, имеющий концентрацию белка, по меньшей мере, примерно 50 г/л, предпочтительно, по меньшей мере, примерно 200 г/л.

Стадия концентрирования может проводиться любым, пригодным для указанной

цели методом, совместимым с периодическим или непрерывным режимом, например с применением любой удобной селективной мембранной техники, такой как ультрафильтрация или диафильтрация, использующей мембраны, например мембраны из полых волокон или спиралеобразные мембраны с соответствующей молекулярной проницаемостью (MWCO), например с проницаемостью для веществ с молекулярной массой примерно от 3000 до 100000 дальтон, предпочтительно - примерно от 5000 до 10000 дальтон, в зависимости от различных материалов, из которых изготавливаются мембраны, и конфигураций мембран. Мембраны могут быть из полых волокон или свернутые в виде спиралей. Для непрерывной операции мембраны могут иметь такие размеры, которые обеспечивают требуемую степень концентрирования водного белкового раствора при пропускании его через мембраны.

Концентрированный белковый раствор может подвергаться затем стадии диафильтрации с использованием водного солевого раствора такой же молярности и с таким же pH, что и на стадии экстракции. Указанная диафильтрация может осуществляться с использованием примерно от 2 до 20 объемов диафильтрационного раствора, предпочтительно - примерно от 5 до 10 объемов диафильтрационного раствора. В ходе операции диафильтрации из водного белкового раствора удаляются дополнительные количества загрязняющих веществ при пропускании его через мембрану в пермеат. Операция диафильтрации может проводиться до тех пор, пока в пермеате не останутся лишь незначительные количества фенольных соединений и пигментов, обуславливающих видимую окраску. Такая диафильтрация может осуществляться с применением мембраны, проницаемой для веществ с молекулярной массой примерно от 3000 до 100000 дальтон, предпочтительно - примерно от 5000 до 10000 дальтон, в зависимости от различных материалов, из которых изготовлены мембраны, и конфигурации мембран.

В диафильтрационной среде может присутствовать антиоксидант, по меньшей мере, в какой-то период стадии диафильтрации. Антиоксидант может быть любым пригодным для данной цели антиоксидантом, таким как сульфит натрия или аскорбиновая кислота. Количество антиоксиданта, используемого в диафильтрационной среде, зависит от применяемых материалов и может варьировать примерно от 0,01 до 1 мас.%, предпочтительно - примерно 0,05 мас.%. Антиоксидант служит для ингибирования окисления фенольных соединений, присутствующих в концентрированном растворе изолята белка канолы,

Стадия концентрирования и стадия диафильтрации могут проводиться при любой удобной температуре, обычно примерно от 20 до 60°C, и в течение периода времени, достаточного для достижения требуемой степени концентрирования. Температура и другие применяемые параметры зависят в определенной степени от используемого мембранного оборудования и требуемой концентрации белка в растворе.

Концентрирование белкового раствора до предпочтительной концентрации белка примерно выше 200 г/л на этой стадии не только повышает выход продукта до уровня выше примерно 40% в пределах относительного количества экстрагированного белка, который извлекается в виде сухого белкового изолята, предпочтительно - до более чем 80%, но и снижает концентрацию соли в готовом белковом изоляте после сушки. Возможность контроля концентрации соли в изоляте имеет важное значение в рамках использования этого изолята, так как колебания концентрации соли могут отрицательно сказаться на функциональных и органолептических свойствах изолята в составе тех специфических продуктов, в которых он используется.

Как хорошо известно, ультрафильтрация и аналогичные селективные мембранные

методы пропускают вещества с низкой молекулярной массой и в то же время удерживают на мембране вещества с более высокой молекулярной массой.

Низкомолекулярные виды включают не только ионные виды соли пищевого качества, но и низкомолекулярные материалы, экстрагируемые из исходного сырья, такие как углеводы, пигменты и антипитательные факторы, а также низкомолекулярные формы белка. Молекулярная проницаемость мембран обычно выбирается так, чтобы гарантировать удержание мембраной значительного количества белка в растворе и в то же время обеспечивать прохождение загрязняющих веществ через мембрану, и определяется материалами, из которых изготовлены мембраны, и конфигурацией мембран.

Концентрированный и необязательно диафильтрованный белковый раствор может подвергаться последующей операции обезжиривания, если таковая требуется, как описывается в патентах США №5844086 и №6005076.

Концентрированный и необязательно диафильтрованный белковый раствор может подвергаться операции по удалению цвета как альтернативы описанной выше операции по удалению цвета. Для этого может использоваться активированный уголь в порошке, а также гранулированный активированный уголь (GAC). Другим материалом, который может применяться в качестве агента, адсорбирующего цвет, является поливинилпирролидон.

Стадия обработки агентом, адсорбирующим цвет, может проводиться в любых удобных для этого условиях, обычно при комнатной температуре раствора белка канолы. В случае применения активированного угля в порошке его количество может составлять примерно от 0,025 до 5% мас./об., предпочтительно - примерно от 0,05 до 2% мас./об. Если в качестве адсорбирующего цвет агента используется поливинилпирролидон, то его количество может составлять примерно от 0,5 до 5% мас./об., предпочтительно - примерно от 2 до 3% мас./об. Адсорбирующий цвет агент может удаляться из раствора белка канолы любым удобным методом, таким как фильтрация.

Концентрированный и необязательно диафильтрованный белковый раствор от необязательной стадии удаления цвета может подвергаться пастеризации в целях уничтожения любых бактерий, которые могут присутствовать в исходной муке как результат ее хранения или т.п. и экстрагироваться из муки в раствор изолята белка канолы на стадии экстракции. Такая пастеризация может проводиться при любых требуемых режимах пастеризации. В большинстве случаев концентрированный и необязательно диафильтрованный белковый раствор нагревается до температуры примерно от 55 до 70°C, предпочтительно - примерно от 60 до 65°C в течение примерно от 10 до 15 минут, предпочтительно - в течение примерно 10 минут. Затем пастеризованный концентрированный белковый раствор может охлаждаться для последующей обработки, описываемой ниже, предпочтительно до температуры примерно от 25 до 40°C.

Концентрированный белковый раствор от стадии концентрирования, необязательной стадии диафильтрации, необязательной стадии удаления цвета и необязательной стадии обезжиривания может подвергаться затем сушке любым удобным способом, таким как распылительная сушка или сублимационная сушка, в сухую форму для обеспечения изолята белка канолы, имеющего содержание белка, по меньшей мере, примерно 90 мас.% белка (N×6,25), предпочтительно, по меньшей мере, примерно 100 мас.% белка (N×6,25), который является, в основном, не денатурированным (что подтвердила дифференциальная сканирующая калориметрия).

Изолят белка канолы имеет белковый профиль канолы, включающий примерно от 25 до 55 мас.% белка канолы 2S, примерно от 45 до 75 мас.% белка канолы 7S и примерно от 0 до 15 мас.% белка канолы 12S; предпочтительно - примерно от 40 до 50 мас.% белка канолы 2S, примерно от 50 до 60 мас.% белка канолы 7S и примерно от 1 до 5 мас.% белка канолы 12S.

Как упоминалось выше, одной из потенциальных сфер использования изолята белка канолы является аквакультура. При разведении лососевых на фермах на долю корма приходится примерно от 35 до 60% производственных затрат, и около половины затрат на корм приходится на долю источников белка. В качестве преобладающего источника белка в рационах лососевых используется рыбная мука высшего качества, поскольку она имеет хорошие вкусовые качества, содержит высокие уровни усвояемого белка и энергии и обладает отличным аминокислотным и жирнокислотным профилем.

Однако рыбная мука варьирует по качеству, доступности и цене. На ее качество влияют вид и степень свежести исходного сырья, режимы обработки и хранения, а также соотношение между растворимыми материалами и жомом и уровень антиоксидантов.

Прогнозируется, что в будущем стоимость рыбной муки будет расти вследствие возрастающих потребностей в разведении рыб и ракообразных, кормах для домашних животных и специализированных кормах для сельскохозяйственного скота. Поскольку прибыльность аквакультуры зависит от соотношения между производственными затратами и рыночной стоимостью фермерского продукта, рост цен на рыбную муку приведет к увеличению производственных затрат и, как следствие, к снижению прибылей.

Одним из путей сокращения производственных затрат является создание новых, более дешевых белковых продуктов для частичной или полной замены рыбной муки в рационах лососевых. Одним из источников-заменителей рыбной муки может служить мука из масличных семян, включая муку из масличных семян канолы. Эта мука имеет практически постоянный химический состав, и стоимость такой муки составляет меньше половины стоимости высококачественной рыбной муки из расчета на килограмм белковой основы. В дополнение к этому мука из масличных семян канолы пользуется отличным рейтингом благодаря тому, что она обладает необходимым для рыбы профилем незаменимых аминокислот, что очевидно из нижеприведенной табл.6.

Однако существуют недостатки, сдерживающие применение муки из масличных семян канолы, которые обусловлены присутствием в ней антипитательных факторов (ANF), включая фитиновую кислоту, глюкозинолаты, фенольные соединения и нерастворимое волокно, которые ухудшают вкусовые качества и усвояемость муки.

В неопубликованном исследовании оценивалась питательная ценность концентрата белка канолы (74 мас.% белка) для разведения радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) в пресной воде и атлантического лосося (семги) (*Salmo salar*) в морской воде.

В рамках переваримости белка белковый продукт канолы характеризуется более высоким коэффициентом переваримости белка, чем рыбная мука, и такими же коэффициентом утилизации энергии и расчетным показателем утилизированной энергии, что и рыбная мука. Белковый продукт канолы даже при концентрациях белка ниже оптимальной показал такое же соотношение между коэффициентом роста и потребленным кормом, что и выпускаемый промышленностью кормовой материал.

Коэффициент эффективности белка (PER) является единым для всех белковых препаратов наиболее важным положительным показателем. Белковый продукт

канолы, использованный в неопубликованном исследовании, имел концентрации белка ниже оптимальной, что объяснялось трудностями обработки, но, тем не менее, рацион с белковым продуктом канолы характеризовался PER, сравнимым с основным рационом, который служил в качестве специального исследуемого рациона и
 5 специального промышленного рациона. PER специального промышленного рациона статистически был таким же, что и PER белкового продукта канолы и PER основного рациона. Таких результатов невозможно достигнуть с соевым белком в форме концентрата или изолята.

10 Что касается распределения белка в продукте изобретения и обеспечения нативного белкового изолята описанным здесь способом, то предполагается, что улучшенные результаты кормления лососевых, сравнимые с результатами, достигнутыми в неопубликованном исследовании, могут быть достигнуты и при использовании
 15 продукта изобретения для кормления лососевых.

Если изолят белка канолы получен сушкой концентрированного белкового раствора, то продукт содержит значительно более высокую концентрацию остаточной соли, чем изолят, полученный через стадию образования РММ, описанную в
 20 вышеупомянутой заявке на патент США предшествующего уровня техники №10/137391. Присутствие соли не ограничивает применение белкового изолята в некоторых областях, например в аквакультуре.

Однако если присутствие соли недопустимо при предполагаемом применении изолята белка канолы, то соль может удаляться путем диализа или диафильтрации
 25 водного раствора белка, который может быть в форме концентрированного, необязательно диафильтрованного, раствора белка канолы перед сушкой.

Примеры

Пример 1

Настоящий пример описывает способ получения изолятов белка канолы согласно
 30 изобретению.

150 кг муки из масличных семян канолы промышленного производства (партия AL022) добавлялись к 1010,5 л 0,1 М солевого раствора (NaCl) при 19,8°C и перемешивались в течение 30 минут для получения водного белкового раствора. Спустя половину периода перемешивания (т.е. 15 минут) добавлялись 0,05 мас.%
 35 или 500 г мас./об. аскорбиновой кислоты в качестве антиоксиданта. Величина pH на стадии экстракции составляла pH 6,12 без всякого регулирования, т.е. была на уровне естественного pH солевого раствора.

В целях удаления муки из экстрагированного раствора мучная суспензия
 40 пропускалась через вакуумный ленточный фильтр, в результате чего были получены 790 л раствора с содержанием белка, в среднем 1,74 мас.% (17,4 г/л).

Этот раствор пропускался затем через центрифугу-отстойник и фильтр-пресс с 2,0 мкм набивкой для дальнейшего осветления белкового раствора. Полученный
 45 осветленный белковый экстракт имел объем 780 л и содержание белка 1,58 мас.% (15,8 г/л).

Аликвотное количество 700 л осветленного белкового раствора подвергалось затем ультрафильтрации (UF) через 2-мембранную систему с использованием пяти
 50 спиральных мембран из поливинилидендифторида (PVDF). Эти мембраны характеризовались MWCO в диапазоне 5000 дальтон. Сокращение общего объема составило с 700 до 32 л или 21,8 раз. Полученные 32 л концентрированного белкового раствора, или ретентата, имели содержание белка в среднем 25,10 мас.% (251 г/л).

Ретентат от стадии UF пастеризовался при 60°C в течение 10 минут, после чего его

аликвотные количества подвергались сушке в распылительной сушилке фирмы APV.

Конечное содержание белка, как такового, в сухом продукте составило 93,08 и 95,46 мас.% в пересчете на сухое вещество ($N \times 6,25$) (процентное содержание азота определялось с помощью прибора для определения азота Leco FP528 Nitrogen Determinator). Партия была обозначена BW-AL022-I02-03A.

Пример 2

Настоящий пример описывает получение образца изолята белка канолы в лабораторных условиях.

75 г той же муки канолы, какая использовалась в примере 1, добавлялись к 500 мл 0,10 М солевого раствора (15% мас./мас.), и смесь встряхивалась в течение 30 минут при 220 об/мин в ротационном шейкере. Экстракт, содержащий 1,99 мас.% белка, центрифугировался в течение 20 минут при 10000 об/мин и фильтровался через гофрированный бумажный фильтр.

350 мл фильтрата концентрировались в ультрафильтрационной установке Amicon с использованием полиэфирсульфоновой (PES) мембраны с MWCO 5000 дальтон до получения 150 мл ретентата. Ретентат подвергался диалфильтрации (DF) с 350 л 0,1 М солевого раствора до получения 75 мл DF-ретентата, содержащего 6,24 мас.% белка.

Ретентат подвергался диализу с использованием диализных трубок Spectra/Por 6 с MWCO 8000 дальтон при температуре охлаждения. Диализованный образец замораживался, а затем высушивался сублимационной сушкой. Готовый изолят белка канолы имел содержание белка 101 мас.% ($N \times 6,25$).

Пример 3

Настоящий пример обеспечивает анализ белка изолятов белка канолы, полученных в примерах 1 и 2.

HPLC анализ проводился на изолятах белка канолы, полученных, как описывается в примерах 1 и 2. HPLC хроматограммы лабораторного экстракта, лабораторного DF пермеата и лабораторного DF UF диализованного изолята белка канолы представлены на фиг.1А-С, соответственно.

HPLC хроматограммы образцов BW-AL022-I-02-03A от двух разных дат представлены на фиг.2А и В.

Результаты анализа изолятов белка канолы, полученных, как описывается в примерах 1 и 2, приводятся в табл.1-5 (см. ниже). Табл.5 содержит аминокислотный анализ образцов в сравнении с типичными изолятами белка канолы, полученными из РММ (С300) и из супернатанта (С200), как описывается в совместно рассматриваемой заявке на патент США №10/266701 с датой подачи 9 октября 2002 г., правопреемником которой является автор настоящей заявки и которая включена в перечень ссылок, принятых во внимание при составлении настоящей заявки.

Как можно видеть из этих данных, лабораторный изолят (пример 2) показывает более высокий выход белка, чем изолят 102 (пример 1), о чем свидетельствуют площади пиков. Оба они показывают, что на глобулярные белки (7S, 12S, >12S и субъединицу) приходится примерно 2/3 общих площадей пиков белков, а на альбумины (2S и пронапин) - оставшаяся 1/3.

Другие компоненты, обнаруженные на HPLC хроматограммах, показывают относительно более высокий уровень фитата в лабораторном изоляте при более низком содержании фенольных соединений (и прочих компонентов), если исходить из площадей пиков. Этот результат указывает на то, что лабораторный изолят содержит меньше свободных фенольных соединений, чем изолят 102. Различия в цвете при A_{330} можно объяснить присутствием связанных с белком фенольных соединений, которые

не удаляются мембранной фильтрацией.

Профиль 102, полученный методом HPLC-SEC (фиг.2, табл.2), оставался большей частью без изменений с момента начального сканирования 19 сентября 2003 г. до момента более позднего сканирования 18 декабря 2003 г., за исключением аскорбиновой кислоты. Аскорбиновая кислота окисляется со временем и количественно восстанавливается (что было определено путем измерения площади пика) в течение указанного выше промежутка времени. В результате этого другие компоненты увеличивались в соотношении, как показано, но это лишь незначительно повлияло на соотношение белков.

HPLC-SEC анализы лабораторных образцов (экстракт, UF пермеат, DF пермеат, DF ретентат и DF диализованный FD ретентат после повторной солиubilизации) (фиг.1, табл.1) показывают, что на стадиях UF, DF и диализа удалялась большая часть фенольных соединений и прочих компонентов, но эти стадии были менее эффективными в плане удаления фитиновой кислоты. Фитиновая кислота показывает тенденцию к образованию прочной ассоциации с белком. Несмотря на это, фитиновую кислоту можно наблюдать на HPLC хроматограммах лабораторного пермеата, что указывает на частичное удаление ее через мембраны (вероятно, от 20 до 30% от общего ее содержания).

Изолят примера 1 содержал соль и другие минералы (как показано), составляющие примерно 3% от конечной сухой массы изолята (табл.3). Токсичных элементов не обнаружено. Результаты показывают, что лабораторный изолят имеет более высокое содержание белка вследствие проведения стадий DF и диализа при получении этого образца.

Результаты аминокислотного анализа были пересчитаны в "граммы/100 граммов аминокислот" в табл.4А и 4В. Средние и стандартные отклонения также приводятся и указывают на минимальные различия. Это и предполагалось, поскольку стадии DF и диализа удаляют небелковые соединения, которые не могут повлиять в значительной мере на аминокислотный баланс, если он не включает множество свободных аминокислот и пептидов.

Табл.5 сравнивает аминокислотные профили полученных образцов с результатами ранее проводившихся исследований. Полученные ретентаты по составу очень схожи с ранее исследовавшимися ретентатами (мука с А8 по А10), а также с образцом Puratein из муки А10. Puratein представляет собой смесь РММ и Supertein, и должен быть схож с анализируемым ретентатом.

Табл.5 показывает также аминокислотные профили С200 и С300 (мука А10). Образцы ретентата и Puratein занимают промежуточное положение между этими двумя изолятами, что и следовало ожидать.

Лизин является незаменимой аминокислотой, содержание которой в зерновых чрезвычайно низкое. В семенах масличных культур, в частности, канолы отмечаются повышенные уровни лизина. Анализ ретентата позволил выявить значительное количество лизина, и это может улучшить питательное качество этого изолята (даже в кормах для рыбы или других непищевых кормах). Изолят-ретентат имеет очень высокое содержание незаменимых аминокислот, что очевидно из нижней графы табл.5.

Общий анализ показывает, что ретентат С500 является изолятом с качественным аминокислотным составом, занимая промежуточное положение между С200 и С300. Этот изолят имеет низкие уровни небелковых компонентов, и лабораторное исследование показывает, что соли, фенольные соединения и другие неизвестные вещества удаляются ультрафильтрацией. Диафильтрация и диализ могут улучшить

удаление небелковых компонентов, как показывают данные лабораторной экстракции. Однако это и не требуется для получения изолята, как показывают результаты 102.

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения

В рамках вышесказанного обеспечивается новый способ получения изолятов белка из масличных семян канолы, пригодных для использования во многих сферах, включая аквакультуру. Возможны модификации способа в масштабе изобретения.

Образец C500, UF DF FD, лабораторный образец #21 681, 17-19 дек. 2003 г.			Таблица 1A
Переменная	Среднее	Стандартное отклонение	
Влагосодержание	n.d.	n.d.	
Белок Лесо (нативный)	101,09%	0,03%	
Белок Лесо (сухой)	n.d.	n.d.	

Таблица 1B					
Образец C500, лабораторный образец #21 681, результаты HPLC-SEC					
Переменная	Экстракт лаборат.#21670 разб.1:4	Пермеат лаборат.#21769 неразбавл.	DF пермеат лаборат.#21680 неразбавл.	DF ретенат лаборат.#21681 разб. 1:4	DF ретенат FD, лаборат. #21681 1 мас. %/об.
Белок - % общей площади	23,8%	0,0%	0,0%	62,6%	77,3%
Фитат - % общей площади	3,3%	5,2%	4,3%	11,2%	8,7%
Фенольные соединения - % общей площади	37,6%	52,2%	47,6%	12,7%	3,6%
Прочие компоненты - % общей площади	35,3%	42,6%	48,1%	13,5%	10,4%
>12S+12S - % общей площади	6,5%	0,0%	0,0%	6,9%	6,7%
7S - % площади белка	58,0%	0,0%	0,0%	57,2%	57,7%
7S субъединица - % площади белка	0,2%	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%
Глобулины - % площади белка	64,6%	0,0%	0,0%	64,1%	64,5%
2S + пронапин - % площади белка	35,4%	0,0%	0,0%	35,9%	35,5%

Образец C500,1% мас./об. лаборат. образец #21681			Таблица 1C
Переменная	Показание	Расчетное содержание фенольных соединений, % в сухом веществе	
Спектральная поглощательная способность:330 нм	3,70 AU	0,81%	
pH	5,83	-	
n.d. = не измерялось; UF = подвергнутый ультрафильтрации; DF = подвергнутый диафильтрации; FD = высушенный сублимационной сушкой; AU = единицы спектральной поглощательной способности; глобулины = >12S+12S+7S + субъединица.			

Образец C500, BW-AL022-I02-03A #1 SD, лаборат.#20576, 19 дек. 2003 г.					Таблица 2А
Переменная	8 сентября Среднее	Стандартное отклонение	17 декабря Среднее	Стандартное отклонение	
Влагосодержание	2,49%	0,06%	n.d.	n.d.	
Белок Лесо (нативный)	93,08%	0,24%	94,57%	0,50%	
Белок Лесо (сухой)	95,46%	0,24%	n.d.	n.d.	

Образец C500, лабораторный образец #20576, результаты HPLC-SEC		Таблица 2B
--	--	------------

Переменная	C500 8 сентября Начальный тест 1 мас.%/об.	C500 17 декабря Окончательный тест 1 мас.%/об.
Белок - % общей площади	72,5%	73,0%
Фитат - % общей площади	3,2%	5,0%
Фенольные соединения - % общей площади	37,6%	52,2%
Аскорбат - % общей площади	4,6%	0,7%
Прочие компоненты - % общей площади	3,5%	3,9%
>12S+12S - % площади белка	5,5%	5,3%
7S - % площади белка	64,1%	62,7%
7S субъединица - % площади белка	0,1%	1,4%
Глобулины - % площади белка	69,7%	69,3%
2S + пронапин - % площади белка	30,3%	30,7%

	Образец C500, 1% мас./об. лаборат. образец #20576		Таблица 2С
15	Переменная	Показание	Расчетное содержание фенольных соединений, % в сухом веществе
	Спектральная поглощательная способность: 330 нм	1,45 AU	0,32%
	РН	-	-
	n.d. = не измерялось; UF = подвергнутый ультрафильтрации; DF = подвергнутый диафильтрации; SD=высушенный распылительной сушкой; AU = единицы спектральной поглощательной способности; глобулины = >12S+12S+7S + субъединица.		
20			

Таблица 3

25	Внелаборат. результаты для BW-AL022-I02-03A #1 C500 лаборат. #20576, 23 дек. 2003 г		
	Переменная	Образец, как получен	Высушенный образец
	Влагосодержание	2,49%	-
	Сухое вещество	-	96,07%
	Белок-сырец (N×6,25)	93,00%	96,81%
30	Кальций	0,10%	0,10%
	Фосфор	0,40%	0,42%
	Магний	0,11%	0,11%
	Калий	0,31%	0,32%
	Медь	0,0011%	0,0011%
35	Натрий	0,73%	0,76%
	В пересчете на хлорид натрия	1,85%	1,92%
	Цинк	0,0007%	0,0007%
	Марганец	<0,0001%	<0,0001%
	Железо	0,0119%	0,0124%
	Бор	0,0005%	0,0005%
40	Свинец ²	0,00 ppm (частей на миллион)	0,00 ppm
	Кадмий ²	0,00 ppm	0,00 ppm
	Сумма минералов ¹	2.78%	2,92%
	¹ Включает натрий в пересчете на хлорид.		
45	² Содержание и свинца, и кадмия ниже пороговых пределов.		

Суммарное содержание аминокислот в ретентате белка канолы Burcon NutraScience						Таблица 4А
Анализ: результаты POS от 5 января 2004 г.			г/100 г сухого вещества			
Аминокислота MW (молекулярная масса)	Аминокислота	BW-AL022-I02-03A #1 #20576	15 дек. 2003 г. лабораторный образец #21681	Среднее	Стандартное отклонение	
133,1	Аспарагиновая	7,04	7,46	7,25	0,30	
119,1	Треонин	2,87	2,82	2,85	0,04	
105,1	Серин	3,31	3,48	3,40	0,12	

5	204,2	Триптофан	1,28	1,38	1,33	0,07
	146,1	Глутаминовая	20,10	21,70	20,90	1,13
	75,1	Глицин	4,59	4,92	4,76	0,23
	89,1	Аланин	3,75	4,02	3,89	0,19
	121,1	Цистин	2,03	2,47	2,25	0,31
	117,1	Валин	4,90	5,15	5,03	0,18
	149,2	Метионин	1,57	1,84	1,71	0,19
	131,2	Изолейцин	3,67	4,04	3,86	0,26
	131,2	Лейцин	6,66	7,37	7,02	0,50
	181,2	Тирозин	2,11	2,07	2,09	0,03
	165,2	Фенилаланин	3,63	4,01	3,82	0,27
	155,2	Гистидин	2,07	2,08	2,08	0,01
	146,2	Лизин	3,97	4,67	4,32	0,49
	174,2	Аргинин	6,45	6,77	6,61	0,23
	115,1	Пролин	6,56	6,83	6,70	0,19
15		Суммарное содержание	86,56	93,08	89,82	В пересчете на сухое вещество (DWB)
Заметьте, что оба образца являются белковыми изолятами в пересчете на белок-сырец (N x 6,25), а не по данным аминокислотного анализа. Аминокислотные анализы обычно приводят к потере некоторого количества азота вследствие дезаминирования глутамина и аспарагина.						

20

Таблица 4B									
		Аминокислота в сумме аминокислот: г/100 г аминокислот			Ранее проведенные аминокислотные тесты				
25	Аминокислота MW	Аминокислота	BW-AL022-I02-03A #1 #20576	15 дек. 2003 г. лабораторный образец #21681	Среднее	Стандартное отклонение	Puratein LTA10	Ретентат A8	Ретентат A10-04
30	133,1	Аспарагиновая	8,1	8,0	8,1	0,1	7,0	7,6	7,1
	119,1	Треонин	3,3	3,0	3,2	0,2	3,8	3,8	3,8
	105,1	Серии	3,8	3,7	3,8	0,1	3,9	3,9	4,0
	204,2	Триптофан	1,5	1,5	1,5	0,0	1,4	1,2	1,5
	146,1	Глутаминовая	23,2	23,3	23,3	0,1	22,5	22,8	20,9
	75,1	Глицин	5,3	5,3	5,3	0,0	5,1	5,2	5,3
	89,1	Аланин	4,3	4,3	4,3	0,0	4,5	4,5	4,6
	121,1	Цистин	2,3	2,7	2,5	0,2	2,7	2,2	2,9
	117,1	Валин	5,7	5,5	5,6	0,1	5,6	5,7	5,7
	149,2	Метионин	1,8	2,0	1,9	0,1	2,1	1,9	1,9
	131,2	Изолейцин	4,2	4,3	4,3	0,1	4,4	4,5	4,5
	131,2	Лейцин	7,7	7,9	7,8	0,2	7,8	7,9	8,0
	181,2	Тирозин	2,4	2,2	2,3	0,2	2,3	2,4	2,3
	165,2	Фенилаланин	4,2	4,3	4,3	0,1	4,1	4,2	4,2
	155,2	Гистидин	2,4	2,2	2,3	0,1	3,2	2,7	3,3
40	146,2	Лизин	4,6	5,0	4,8	0,3	5,3	4,9	5,5
	174,2	Аргинин	7,5	7,3	7,4	0,1	7,1	7,4	7,2
	115,1	Пролин	7,6	7,3	7,5	0,2	7,3	7,0	7,4
		Сумма:	100,0	100,0	100,0		100,1	99,8	100,1
45		Сумма незаменимых аа	45,2	45,8	45,5		47,5	46,4	48,5
е = 11 незаменимых аминокислот; аа = аминокислоты; * глутаминовая кислота и аспарагиновая кислота большей частью дезаминируются в глутамин и аспарагин.									

50

Таблица 5		
Аминокислота в сумме аминокислот: г/100 г аминокислот		Ранее проведенные аминокислотные тесты

Аминокислота	BW-AL022-I02-03A #1 #20576	15 дек.2003 г. лабораторный образец #21681	Среднее	Puratein LTA10	Ретентат A8	Ретентат A10-04	C200 A10	C300 A10
Аспарагиновая	8,1	8,0	8,1	7,0	7,6	7,1	5,4	10,0
Треонин	3,3	3,0	3,2	3,8	3,8	3,8	3,7	4,1
Серин	3,8	3,7	3,8	3,9	3,9	4,0	3,8	4,2
Триптофан	1,5	1,5	1,5	1,4	1,2	1,5	1,4	1,6
Глутаминовая	23,2	23,3	23,3	22,5	22,8	20,9	22,8	19,0
Глицин	5,3	5,3	5,3	5,1	5,2	5,3	4,9	5,6
Аланин	4,3	4,3	4,3	4,5	4,5	4,6	4,7	4,7
Цистин	2,3	2,7	2,5	2,7	2,2	2,9	3,4	1,2
Валин	5,7	5,5	5,6	5,6	5,7	5,7	5,4	6,1
Метионин	1,8	2,0	1,9	2,1	1,9	1,9	2,1	1,6
Изолейцин	4,2	4,3	4,3	4,4	4,5	4,5	4,2	5,0
Лейцин	7,7	7,9	7,8	7,8	7,9	8,0	7,6	8,6
Тирозин	2,4	2,2	2,3	2,3	2,4	2,3	2,0	2,8
Фенилаланин	4,2	4,3	4,3	4,1	4,2	4,2	3,8	4,9
Гистидин	2,4	2,2	2,3	3,2	2,7	3,3	3,6	2,6
Лизин	4,6	5,0	4,8	5,3	4,9	5,5	6,4	3,6
Аргинин	7,5	7,3	7,4	7,1	7,4	7,2	6,7	7,8
Пролин	7,6	7,3	7,5	7,3	7,0	7,4	8,2	6,7
Сумма:	100,0	100,0	100,0	100,1	99,8	100,1	100,1	100,1

Puratein - это смесь C200 и C300, близкая к предполагаемой композиции C500.

Современные анализы показывают несколько пониженное содержание треонина и гистидина и несколько повышенное содержание глутаминовой кислоты.

Полный анализ показывает очень похожие результаты и занимает среднее место между типичными анализами C200 и C300, как и ожидалось.

Таблица 6					
Удовлетворение потребностей в аминокислотах за счет ретентатов Teleost vs Burcon в г/100 г белка					
Аминокислота	Лососевые ¹	Зубатка ¹	Карп ¹	BW-AL022-I02-03A #1	15 дек. 2003 г. лабораторное испытание
Аргинин	4,2	4,3	4,4	7,5	7,3
Гистидин	1,6	1,5	2,4	2,4	,2
Изолейцин	2,0	2,6	3,0	4,2	4,3
Лейцин	3,6	3,5	4,7	7,7	7,9
Лизин	4,8	5,0	6,0	4,6	5,0
Треонин	2,0	2,1	4,2	3,3	3,0
Триптофан	0,6	0,5	0,8	5,7	5,5
Валин	2,2	3,0	4,1	5,7	5,5
Метионин + цистеин	2,4	2,3	3,5	4,1	4,7
Фенилаланин + тирозин	5,3	4,8	8,2	6,6	6,5

¹D.P.Bureau & C.Y.Cho, Fish Nutrition Research Laboratory, Dept. of Animal & Poultry Science, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada.

Формула изобретения

1. Способ получения изолята белка канолы, включающий

(а) экстрагирование муки из масличных семян канолы с тем, чтобы вызвать солиubilизацию белка в указанной муке из масличных семян канолы и образование водного белкового раствора, имеющего содержание белка от 5 до 40 г/л и pH от 5 до 6,8,

(б) отделение водного белкового раствора от остаточной муки из масличных семян канолы,

(в) повышение концентрации белка в указанном водном белковом растворе, по

меньшей мере, до 50 г/л при одновременном поддержании ионной силы раствора, в основном, постоянной с помощью селективной мембранной техники с получением концентрированного белкового раствора и

5 (г) сушку концентрированного белкового раствора для получения изолята белка канолы, имеющего содержание белка, по меньшей мере, 90 мас.% (N_{6,25}), предпочтительно, по меньшей мере, 100 мас.% в сухом веществе, отличающийся тем, что указанный изолят белка канолы имеет белковый профиль канолы, который
10 включает от 25 до 55 мас.% белка канолы 2S, от 45 до 75 мас.% белка канолы 7S и от 0 до 15 мас.% белка канолы 12S, предпочтительно включает от 40 до 50 мас.% белка канолы 2S, от 50 до 60 мас.% белка канолы 7S и от 1 до 5 мас.% белка канолы 12S.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что проводится в периодическом режиме, и что указанное экстрагирование муки из масличных семян канолы осуществляется с использованием водного солевого раствора, предпочтительно содержащего
15 антиоксидант, имеющего ионную силу, по меньшей мере, 0,05, предпочтительно - от 0,1 до 0,6 и pH от 5 до 6,8, предпочтительно - от 5,3 до 6,2 при температуре, по меньшей мере, 5°C, предпочтительно в условиях перемешивания водного солевого раствора в течение от 10 до 60 мин, предпочтительно при концентрации муки из
20 масличных семян канолы в водном солевом растворе от 5 до 15 мас.%, для получения водного белкового раствора, имеющего концентрацию белка от 5 до 40 г/л, предпочтительно - от 10 до 30 г/л.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что проводится в непрерывном режиме, и что указанная стадия экстракции осуществляется путем
25 непрерывного смешивания указанной муки из масличных семян канолы с водным солевым раствором, предпочтительно содержащим антиоксидант, имеющим ионную силу, по меньшей мере, 0,05, предпочтительно - от 0,1 до 0,6, и pH от 5 до 6,8, предпочтительно - от 5,3 до 6,2, при температуре от 5 до 65°C, предпочтительно, по
30 меньшей мере, 35°C, предпочтительно при концентрации муки из масличных семян в указанном водном солевом растворе на указанной стадии смешивания от 5 до 15 мас.%/об., и

непрерывного транспортирования указанной смеси по трубопроводу при одновременной экстракции белка из муки из масличных семян канолы с образованием
35 водного белкового раствора, имеющего содержание белка от 5 до 40 г/л, предпочтительно - от 10 до 30 г/л, в течение периода времени до 10 мин.

4. Способ по п.1, отличающийся тем, что после указанного отделения водного белкового раствора от остаточной муки из семян канолы водный белковый раствор
40 подвергается стадии удаления пигментов предпочтительно путем диафильтрации водного белкового раствора или путем смешивания агента, адсорбирующего пигменты, предпочтительно активированного угля в порошке, с водным белковым раствором и последующего удаления агента, адсорбирующего пигменты, из водного белкового раствора.

45 5. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанная мука из масличных семян экстрагируется водой, и к полученному в результате этого водному белковому раствору добавляется соль с тем, чтобы обеспечить водный белковый раствор, имеющий ионную силу, по меньшей мере, 0,05, предпочтительно - от 0,1 до 0,6.

50 6. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанная стадия концентрирования осуществляется путем ультрафильтрации для получения концентрированного белкового раствора, имеющего содержание белка, по меньшей мере, 200 г/л.

7. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный концентрированный белковый

раствор подвергается диафильтрации с использованием водного солевого раствора, имеющего такую же ионную силу, что и на стадии экстракции, предпочтительно с использованием от 2 до 20 объемов, предпочтительно - от 5 до 10 объемов диафильтрационного раствора, предпочтительно, по меньшей мере, частично в присутствии антиоксиданта.

8. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный концентрированный белковый раствор подвергается стадии удаления цвета предпочтительно с использованием гранулированного активированного угля или поливинилпирролидона.

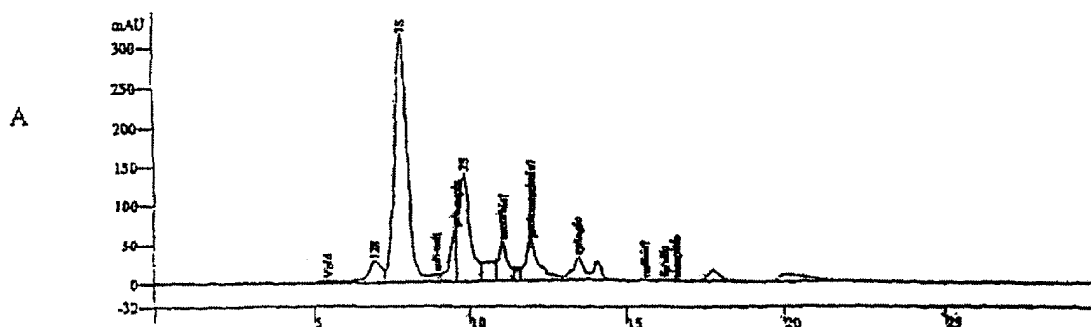
9. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный концентрированный белковый раствор подвергается стадии пастеризации предпочтительно путем нагревания концентрированного белкового раствора до температуры от 55 до 70°C в течение от 10 до 15 мин.

10. Способ по любому из пп.1-9, включающий приготовление состава с сухим изолятом белка канолы для использования в качестве кормовой композиции в аквакультуре предпочтительно для кормления лососевых.

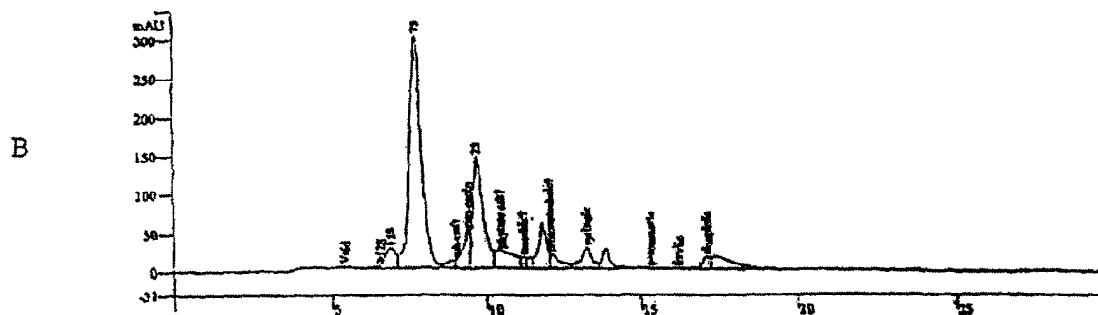
11. Кормовая композиция для аквакультуры, содержащая изолят белка канолы, полученный согласно способу по любому из пп.1-9, предпочтительно составленная для кормления лососевых, отличающаяся тем, что изолят белка канолы имеет содержание белка, по меньшей мере, 90 мас.% и белковый профиль канолы, который включает от 25 до 55 мас.% белка канолы 2S, от 45 до 75 мас.% белка канолы 7S и от 0 до 15 мас.% белка канолы 12S, предпочтительно - содержание белка, по меньшей мере, 100 мас.% и белковый профиль канолы, который включает от 40 до 50 мас.% белка канолы 2S, от 50 до 60 мас.% белка канолы 7S и от 1 до 5 мас.% белка канолы 12S.

BW-AL022-I02-03A #1 C500 HPLC-SEC хроматограммы

I02 изолят, полученный 19 сентября 2003 г.,
SEC-HPLC хроматограмма 1%, 50 мкл.



I02 изолят, полученный 18 декабря 2003 г.,
SEC-HPLC хроматограмма 1%, 50 мкл.



Все образцы готовились с 0,10 М раствором NaCl.

Фиг. 2