

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
9 de febrero de 2012 (09.02.2012)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2012/017123 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:

A23J 1/00 (2006.01) A23L 1/305 (2006.01)
A23J 1/14 (2006.01) A61K 38/01 (2006.01)
A23J 3/34 (2006.01) A61K 8/64 (2006.01)
C12P 21/06 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:

PCT/ES2011/070571

(22) Fecha de presentación internacional:

3 de agosto de 2011 (03.08.2011)

(25) Idioma de presentación:

español

(26) Idioma de publicación:

español

(30) Datos relativos a la prioridad:

P201031228 5 de agosto de 2010 (05.08.2010) ES

(71) Solicitantes (para todos los Estados designados salvo US): **CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC)** [ES/ES]; Serrano, 117, E-28006 Madrid (ES). **DIBAQ DIPROTEG, S.A.** [ES/ES]; Carretera Navalmanzano a

Fuentepeelayo Km. 4,3, E-40260 FUENTEPELAYOS (Segovia) (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): **MILLÁN RODRÍGUEZ, Francisco** [ES/ES]; Instituto de la Grasa, Avenida Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). **PEDROCHE JIMÉNEZ, Justo Javier** [ES/ES]; Instituto de la Grasa, Avenida Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). **YUST ESCOBAR, María del Mar** [ES/ES]; Instituto de la Grasa, Avenida Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). **ALCAIDE HIDALGO, Juan María** [ES/ES]; Instituto de la Grasa, Avenida Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). **MILLÁN LINARES, María del Carmen** [ES/ES]; Instituto de la Grasa, Avenida Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). **VILLANUEVA LAZO, Alvaro** [ES/ES]; Instituto de la Grasa, Avenida Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). **TEJEDOR DEL REAL, José Luis** [ES/ES]; Dibaq Diproteg, S.A., Carretera Navalmanzano a Fuentepeelayo Km. 4,3, E-40260 FUENTEPELAYOS

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING LIMITED AND EXTENSIVE PROTEIN HYDROLYZATES FROM AGROINDUSTRIAL WASTE.

(54) Título : MÉTODO DE OBTENCIÓN DE HIDROLIZADOS PROTEICOS LIMITADOS Y EXTENSIVOS A PARTIR DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES

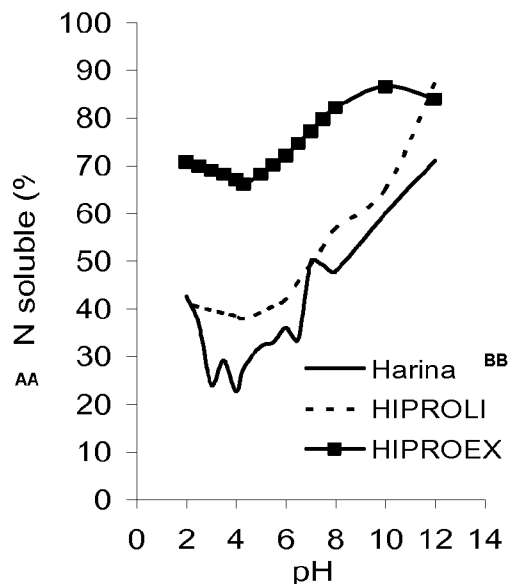


FIG. 1

AA Soluble N (%)
BB Meal

(57) Abstract: The present invention relates to a method for producing limited and extensive protein hydrolyzates that comprises performing enzymatic hydrolysis on agroindustrial protein waste. Said method leads to the production, in a single hydrolytic step without prior treatment of the starting substrate, of two different protein hydrolyzates that differ in terms of the degree of hydrolysis thereof, instead of a single product as in the case of other similar methods. These two products that are produced have enhanced properties in terms of the starting substrate and therefore can be used in different food and cosmetic applications.

(57) Resumen: La presente invención se refiere a un método de obtención de hidrolizados proteicos limitados y extensivos que comprende llevar a cabo una hidrólisis enzimática de residuos agroindustriales proteicos. Dicho método conduce a la obtención, en un solo paso hidrolítico y sin un tratamiento previo del sustrato de partida, de dos hidrolizados proteicos distintos que difieren en su grado de hidrólisis, en lugar de un único producto como en el caso de otros métodos similares. Estos dos productos obtenidos presentan propiedades mejoradas respecto al sustrato de partida, por lo que pueden ser utilizados en distintas aplicaciones a nivel alimentario y cosmético.



(Segovia) (ES). **RODRÍGUEZ SÁNCHEZ-ARÉVALO, Alvaro** [ES/ES]; Dibaq Diproteg, S.A., Carretera Navalmanzano a Fuentepelayo Km. 4,3, E-40260 FUENTEPELAYOS (Segovia) (ES).

(74) **Mandatario: UNGRIA LÓPEZ, Javier**; Avenida Ramón y Cajal, 78, E-28043 Madrid (ES).

(81) **Estados designados** (*a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible*): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) **Estados designados** (*a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

- *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*
- *antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones (Regla 48.2(h))*

Método de obtención de hidrolizados proteicos limitados y extensivos a partir de residuos agroindustriales

La presente invención se encuadra en el campo de la tecnología de alimentos y específicamente se refiere a un método de obtención de hidrolizados proteicos limitados y extensivos que comprende llevar a cabo una hidrólisis enzimática de residuos agroindustriales proteicos. Dicho método conduce a la obtención de dos hidrolizados que difieren en su grado de hidrólisis, por lo que pueden ser utilizados en distintas aplicaciones a nivel alimentario y cosmético.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

A nivel mundial se genera una gran cantidad de residuos agroindustriales ricos en proteínas, entre los que se encuentran los subproductos de origen vegetal generados por las industrias de transformación agrícolas, como son las harinas desengrasadas procedentes de la extracción del aceite de las semillas o aquellas fracciones parte de la cosecha que no cumplen con los requisitos de calidad mínima para ser comercializadas, como es el caso de las semillas fracturadas o de alta dureza para su consumo.

En este sentido, el interés en el aprovechamiento de las proteínas vegetales provenientes de residuos agroindustriales ha promovido el desarrollo de los procesos de obtención y mejora de las mismas mediante la generación de concentrados y aislados proteicos. Sin embargo, estos aislados presentan dos grandes limitaciones para su aplicación en la industria alimentaria, a saber, su baja solubilidad y su potencial alergenicidad. Estas razones, junto con la demanda de nuevos alimentos, han conducido en los últimos años al desarrollo de procesos de hidrólisis proteica a partir de aislados proteicos vegetales como la soja, colza, girasol, arroz o guisante entre otros.

El grado y tipo de hidrólisis del hidrolizado obtenido van a determinar el resto de las propiedades del mismo y estas propiedades, a su vez, condicionarán la

aplicabilidad de este. Hoy día, los hidrolizados proteicos vegetales que se producen para su uso en alimentación, farmacia y cosmética se pueden dividir en tres grandes grupos:

- 5 a) Hidrolizados con bajo grado de hidrólisis, entre el 1 y el 10%, los llamados hidrolizados proteicos limitados, que mejoran las propiedades funcionales, tales como la solubilidad, absorción de agua o aceite, poder emulsificante o capacidad espumante, de la proteína original. Por ello, los hidrolizados con mejor poder espumante están indicados para la
- 10 producción de pasteles, pan, helados y postres elaborados (Chaplin, L. C. y Andrew, A. T., 1989, *J. Dairy Res.*, 56: 544-552). Los hidrolizados con un buen poder emulsificante son usados en la fabricación de mayonesas, carne picada, salchichas o helados (Süle, E., Tömösközi, S. y Hajós, G., 1998, *Nahrung*, 42: 242-244). Y por último, los hidrolizados
- 15 con una buena absorción de aceite o agua son usados para la elaboración de derivados cárnicos y de productos bajos en grasas (Mannheim, A. y Cheryan, M., 1992, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69: 1163-1169).
- 20 b) Hidrolizados con grado de hidrólisis variable, que pueden ser usados como flavorizantes, especialmente mediante reacciones de Maillard, generando compuestos secundarios responsables del olor y el sabor del producto.
- 25 c) Hidrolizados extensivos, con grados de hidrólisis superiores al 10%, que pueden ser utilizados como suplemento proteico en la dieta o en alimentación especializada (Frokjaer, S., 1994, *Food Technol.*, 48: 86-88) y para el tratamiento complementario de enfermedades o
- 30 síndromes específicos. Desde un punto de vista funcional su elevada solubilidad permite su utilización en alimentos líquidos, y desde un punto de vista nutricional posibilitan una elevada absorción gastrointestinal de

los pequeños péptidos que componen el hidrolizado, principalmente di y tripéptidos, la cual es más efectiva en comparación con las proteínas intactas o incluso con los aminoácidos libres. Los sectores de la población a los que van dirigidos estos alimentos son diversos aunque, por diferentes razones, preferiblemente van dirigidos a aquellos que presentan la necesidad de un sobreaporte proteico. Por ejemplo, se puede citar su uso en la alimentación de la tercera edad, ya que en las personas ancianas se produce una pérdida de apetito, causada por diversas razones, la cual genera una malnutrición que está correlacionada directamente con un incremento de enfermedades y mortalidad; para estas personas comer más cantidad no es la solución idónea pero la demanda de proteínas necesarias podría cubrirse con bebidas enriquecidas con hidrolizados proteicos, ya que su ingesta es más atractiva que la de los alimentos sólidos. En este apartado también puede incluirse la alimentación enteral y parenteral en casos de hospitalización. Otro campo de aplicación es la nutrición deportiva, sobre todo, en ejercicios de resistencia o en aquellos que requieren un desarrollo muscular importante. Por último, estos hidrolizados también tienen aplicación para personas que estén a dieta ya que proporcionan al cuerpo las cantidades adecuadas de proteínas con un mínimo de otras fuentes de calorías, de manera que se mantiene el balance de nitrógeno y se reduce peso con la pérdida de grasas. Respecto a las aplicaciones clínicas de los hidrolizados proteicos extensivos, debido a su buena solubilidad, digestibilidad y absorción intestinal, estos también son útiles para enfermos con una actividad gastrointestinal deficiente, como en los casos en los que existe una reducida superficie de absorción (enfermedad de Crohn) (Kushner, R. F., 1992, *Nutr. Rev.*, 50: 166-178) o cuando la capacidad digestiva está reducida como en la fibrosis quística o en la pancreatitis (Farrell, P. M., *et al.*, 1987, *J. Am. Diet. Assoc.*, 87: 1353-1356).

- Una aplicación común de los hidrolizados proteicos es la obtención de péptidos bioactivos. Estos péptidos son pequeñas secuencias aminoacídicas inactivas dentro de la proteína, pero que pueden ser liberados tras una hidrólisis proteica y ejercer diversas funciones biológicas. Entre los más abundantes destacan los péptidos con actividad opioide, opioide antagonista, antitrombótica, inmunomoduladora, antioxidante, transportadora de iones o antihipertensiva. Dichos péptidos pueden consumirse como tales, formando parte de los hidrolizados crudos, de concentrados de bajo peso molecular o de otras subfracciones activas obtenidas mediante métodos de separación por tamaño o métodos cromatográficos. Además de constituir productos alimenticios, tales hidrolizados, sus fracciones o los péptidos también podrían formar parte de composiciones útiles como complemento en el tratamiento y prevención de enfermedades.
- En cuanto a los procedimientos para la obtención de este tipo de hidrolizados, en la mayoría de ellos se lleva a cabo un paso de tratamiento químico o físico de las harinas vegetales de partida de manera previa a la hidrólisis enzimática, o bien se realizan lavados con agua acidulada o etanol o se obtiene un concentrado proteico previo por un proceso de flotación-sedimentación (ES2173036B1, ES2209645B1 y ES2116937B1). Además, mediante todos estos procedimientos el producto final conseguido es un único producto (Yust, M.M., *et al.*, 2003, *Grasas y Aceites*, 54(4): 419-423; Vioque, J., *et al.*, 2006, *Brazilian Journal of Food Technology*, III JIPCA, Janeiro, pp. 99-102; US4100024A).
- Por tanto, es necesario desarrollar métodos optimizados de obtención de hidrolizados proteicos que proporcionen más de un producto a partir de un único proceso hidrolítico, de manera que se obtengan varios hidrolizados con diferente grado de hidrólisis y, por tanto, con diferentes características químicas y funcionales, que tengan diferente aplicabilidad industrial. Estos métodos, además, deberían evitar la necesidad de realizar un tratamiento químico o

físico previo de las harinas vegetales de partida previamente a la hidrólisis enzimática, lo que supondría un ahorro de equipamientos, solventes, vertidos y, por consiguiente, de tiempo y dinero.

5 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona un método de obtención de hidrolizados proteicos limitados y extensivos que comprende llevar a cabo una hidrólisis enzimática de residuos agroindustriales proteicos. Dicho método conduce a la
10 obtención de dos hidrolizados que difieren en su grado de hidrólisis, por lo que pueden ser utilizados en distintas aplicaciones a nivel alimentario y cosmético.

El método de la invención permite obtener, en un solo paso hidrolítico y sin un tratamiento previo del sustrato de partida, dos productos proteicos distintos, en
15 lugar de un único producto como en el caso de otros métodos similares de obtención de hidrolizados proteicos. Estos dos productos obtenidos difieren en su grado de hidrólisis y, por tanto, en sus características químicas y funcionales, ampliando así el campo de aplicación industrial y comercial y otorgándole a un subproducto agroalimentario, como son, por ejemplo aunque
20 sin limitarnos, las harinas vegetales, un valor añadido.

Uno de los hidrolizados obtenibles mediante el método de la invención presenta un grado de hidrólisis inferior al 10% (hidrolizado proteico limitado, aquí denominado como HIPROLI), lo cual lo convierte en un producto muy
25 interesante para su utilización en cosmética así como en el procesado de alimentos, repostería, panadería o en la elaboración de productos elaborados (mayonesas, salchichas, helados o postres), debido a que posee propiedades reológicas mejoradas con respecto a la proteína original de partida en términos de solubilidad, absorción de agua y aceite, poder emulsificante y capacidad
30 espumante. El otro hidrolizado obtenido presenta un grado de hidrólisis superior al 10% (hidrolizado proteico extensivo, aquí denominado como

HIPROEX), lo que le confiere unas cualidades ideales para su uso en suplementos proteicos dirigidos bien a poblaciones con necesidades de un aporte proteico extra, como pueden ser personas de la tercera edad, deportistas o personas que siguen regímenes alimenticios determinados, bien
5 como suplementos proteicos nutricionales en el tratamiento de enfermedades o síndromes específicos, como son pacientes que ven reducida su capacidad de absorción gastrointestinal de alimentos (enfermedad de Crohn), pacientes con reducida capacidad digestiva (fibrosis quística o pancreatitis) o pacientes con
alergenicidad específica alimentaria. De igual modo, debido a su alto grado de
10 hidrólisis, este producto es una fuente de significativo interés para la elaboración de alimentos funcionales debido a la presencia de péptidos con un número no elevado de residuos (2 a 15 aminoácidos) los cuales, una vez liberados de la proteína de partida por hidrólisis, pueden presentar una
diversidad de beneficios para la salud humana (antioxidante,
15 hipocolesterolémica, antihipertensiva, opioide, etc.).

Además, mediante el método de la invención no es necesario realizar un tratamiento previo (químico o físico) de mejora o purificación de los componentes de los materiales vegetales de partida, lo que además de
20 simplificar el proceso, evita los problemas generados con la depuración y evacuación de las aguas residuales generadas habitualmente en dichas etapas. Esta ventaja, junto con la optimización de los parámetros del método aquí descrito, conlleva un ahorro de equipamientos, solventes, reactivos (ya que la relación enzima/sustrato utilizada en el proceso de hidrólisis del método
25 de la invención es baja y además las enzimas empleadas, preferiblemente endoproteasas, más preferiblemente alcalasa, son enzimas comerciales con un ámbito de acción inespecífico), vertidos, tiempo, dinero y energía (ya que la reacción de hidrólisis enzimática del método de la invención se lleva a cabo, preferiblemente, a temperatura ambiente).

Por ello, un aspecto de la invención se refiere a un método de obtención de un hidrolizado proteico limitado y un hidrolizado proteico extensivo, de ahora en adelante “método de la invención”, que comprende:

- 5 a. hidrolizar enzimáticamente un residuo agroindustrial proteico,
- b. centrifugar el hidrolizado obtenido en el paso (a),
- c. disminuir el pH del sobrenadante obtenido en la centrifugación del paso (b) hasta un valor de entre 3 y 5,
- d. centrifugar el sobrenadante del paso (c),
- 10 e. separar el sobrenadante del precipitado obtenidos en la centrifugación del paso (d), y
- f. secar el sobrenadante y el precipitado separados en el paso (e).

Ejemplos de “residuo agroindustrial proteico” que podrían emplearse en el método de la invención son, aunque sin limitarnos, harinas desengrasadas
15 provenientes de la extracción oleica de semillas oleaginosas de, por ejemplo, aunque sin limitarnos, girasol, colza, soja o pepita de uva; harinas de semillas que no cumplen los requisitos de calidad mínima para ser comercializadas debido, por ejemplo, aunque sin limitarnos, a su fraccionamiento durante la
20 recogida o a su excesiva dureza, procedentes de, por ejemplo, aunque sin limitarnos, garbanzo, altramuza o lenteja; u otros subproductos agrícolas vegetales procedentes de, por ejemplo, aunque sin limitarnos, germen de algarroba. Todos estos residuos agroindustriales proteicos presentan una composición química variable como se muestra, a modo de ejemplo y sin que
25 limite el alcance de la invención, en la tabla 1.

Composición	Girasol	Colza	Pepita Uva	Soja	Garbanzo	Altramuz	Algarroba
Humedad	8,0	8,4	9,1	10,1	8,1	7,9	5,8
Cenizas	5,9	6,7	3,2	5,7	3,4	2,1	6,4
Proteína	28,9	33,0	15,5	48,9	18,8	33,8	48,2
Grasa	1,6	4,2	1,3	2,5	4,1	5,7	2,3
Fibra	49,6	33,5	55,8	27,9	10,4	39,9	24,3
Azúc. solubles	1,9	5,6	0,6	2,3	4,3	2,7	2,9
Polifenoles	0,6	1,1	7,1	0,2	0,2	< 0,1	0,5
Almidón	---	---	---	---	40,3	---	---

Tabla 1. Caracterización química de algunas harinas vegetales. Los datos están expresados en %.

5

Por ello, en una realización preferida de este aspecto de la invención, el residuo agroindustrial proteico del paso (a) comprende menos de un 6% (p/p) de grasas. En una realización más preferida, el residuo agroindustrial proteico del paso (a) comprende entre un 15% y un 50% del peso total (p/p) de proteínas. En una realización aun más preferida, el residuo agroindustrial proteico del paso (a) se encuentra a una concentración de entre un 5% y un 10% (p/v), dependiendo especialmente del contenido y composición en fibra de dicho residuo, el cual, debido a su alta capacidad de absorción de agua, produce una viscosidad demasiado alta a concentraciones más elevadas, lo que dificulta una óptima agitación de la solución.

15

En otra realización preferida, el residuo agroindustrial proteico del paso (a) es una harina proteica vegetal. En una realización más preferida, la harina proteica vegetal procede de un vegetal seleccionado de la lista que comprende: girasol, colza, soja, pepita de uva, garbanzo, altramuz, lenteja o germen de algarroba.

20

Las enzimas que pueden ser efectivas en el proceso de hidrólisis del paso (a) del método de la presente invención son las enzimas proteolíticas, preferiblemente de acción endoproteasa, comúnmente utilizadas para la hidrólisis de proteínas y que pueden obtenerse de fuentes animales, vegetales o microbianas. Éstas incluyen, pero sin limitarse, tripsina, quimotripsina, pancreatina, pepsina, papaína o una diversidad de proteasas bacterianas y fúngicas como pueden ser la alcalasa, a la que también se hará referencia en la presente descripción como “alcalase”, así como la subtilisina, o “subtilisin”, o la flavorzima. Más preferiblemente, la enzima proteolítica empleada en la hidrólisis del paso (a) del método de la invención es estable y no se inactiva por el pH utilizado en el método de la invención. Por ello, en otra realización preferida, la enzima empleada en la hidrólisis enzimática del paso (a) es una endoproteasa. En una realización más preferida, la endoproteasa se selecciona de la lista que comprende: tripsina, quimotripsina, pancreatina, pepsina, papaína, alcalasa, subtilisina o flavorzima. En una realización aun más preferida, la endoproteasa es la alcalasa. Esta enzima es una endoproteasa de origen microbiano, comercial e inespecífica y bien conocida y caracterizada desde un punto de vista científico para los parámetros óptimos de pH y temperatura.

20

En otra realización preferida, la relación enzima/residuo agroindustrial proteico del paso (a) se encuentra en un rango de entre 0,001 y 0,01 UA/g proteína de residuo agroindustrial proteico, siendo definida la “Unidad Anson (UA)” como la cantidad de enzima necesaria para digerir hemoglobina en condiciones estándar produciendo una cantidad de productos solubles en ácido tricloroacético que dan el mismo color con reactivo de Folin que un miliequivalente de tirosina.

El pH al que se realiza el proceso hidrolítico del paso (a) es, preferiblemente, un pH alcalino con el objetivo de, por un lado, facilitar la solubilización de la proteína del material de partida o residuo agroindustrial proteico, la cual se

30

incrementa conforme el pH es más básico, y por otro, mantener una actividad proteolítica perceptible en la enzima elegida, preferiblemente endoproteasa, las cuales suelen tener un pH óptimo de actividad en torno a 7–8. Por ello, en otra realización preferida, la hidrólisis enzimática del paso (a) del método de la invención se realiza a un pH de entre 8 y 11.

El proceso de hidrólisis enzimática del paso (a) del método de la invención se realiza preferiblemente a temperatura ambiente, es decir entre 18 y 25 °C, más preferiblemente durante un tiempo máximo de una hora y aun más preferiblemente durante un tiempo mínimo de 45 minutos. Este proceso se lleva a cabo, preferiblemente, en agitación continua, manteniendo el pH elegido para el proceso hidrolítico con, por ejemplo, aunque sin limitarnos, la adición de NaOH o NH_4HCO_3 , este último con el objetivo de ser eliminado durante el secado de los productos hidrolizados finales y de reducir el contenido en cenizas de los mismos. Por todo ello, en otra realización preferida, la hidrólisis enzimática del paso (a) del método de la invención se realiza a una temperatura de entre 18 y 25 °C. En una realización más preferida, la hidrólisis enzimática del paso (a) se realiza durante un periodo de tiempo inferior o igual a 1 hora. En una realización aun más preferida, la hidrólisis enzimática del paso (a) se realiza en agitación continua.

Preferiblemente, al residuo agroindustrial proteico que está sufriendo el proceso de hidrólisis enzimática en el paso (a) del método de la invención se le añade sulfito sódico para prevenir la oxidación de los polifenoles presentes en el mismo y para evitar, en la medida de lo posible, un excesivo oscurecimiento de los productos.

Una vez que la hidrólisis enzimática del paso (a) del método de la invención ha procedido durante un período suficiente de tiempo, preferiblemente durante un tiempo inferior o igual a una hora, se procede a la centrifugación del hidrolizado obtenido en dicho paso. Tras esta fase de centrifugación en el paso (b) del

método de la invención, se obtiene por una parte un precipitado formado por los restos del material de partida o residuo agroindustrial proteico que permanecen insolubles, principalmente fibras insolubles y parte de proteína sin digerir, y por otra un sobrenadante que comprende fundamentalmente

5 proteínas, péptidos y aminoácidos así como otros compuestos minoritarios y solubilizados durante el proceso hidrolítico como pueden ser polifenoles y azúcares. La fase precipitada puede ser utilizada en diferentes aplicaciones tales como, por ejemplo, aunque sin limitarnos, alimentación animal y/o substrato orgánico-abono en agricultura.

10

La fracción del sobrenadante es sometida a un descenso a pH ácido (3-5) mediante, por ejemplo, aunque sin limitarnos, la adición de HCl. Por ello, en otra realización preferida, la disminución del pH del paso (c) del método de la invención se realiza mediante la adición de HCl a dicho sobrenadante. Esto

15 servirá para inactivar la actividad proteolítica de la enzima añadida para el proceso hidrolítico del paso (a) del método de la invención y por otro lado, dará lugar a dos productos bien diferenciados mediante una centrifugación posterior. Por ello, tras la disminución del pH del sobrenadante en el paso (c) del método de la invención se procede a una centrifugación del mismo y, posteriormente, a

20 la separación del sobrenadante y el precipitado obtenidos. Ambos, precipitado y sobrenadante, son secados, en el paso (f) del método de la invención. Los procedimientos de secado que podrían emplearse en este paso del método son, por ejemplo, aunque sin limitarse, ring-dryer, liofilización, atomización o secado por estufa. Preferiblemente, dicho secado se realiza mediante

25 atomización, obteniéndose los productos finales en forma de polvo para facilitar su almacenamiento, conservación y transporte. Por ello, en otra realización preferida, el secado del paso (f) del método de la invención se realiza mediante atomización.

El término “secado por atomización”, “spray dryer” o “secado por aspersión” se

30 refiere al método de secado en el que se transforma un producto en estado líquido en un producto en estado pulverizado, siendo un proceso instantáneo

en el que el aire caliente es el medio que suministra el calor necesario para la evaporación y al mismo tiempo el aceptor del agua eliminada.

Al producto obtenible tras el secado del sobrenadante en el paso (f) del método de la invención se hará referencia en la presente invención como “hidrolizado proteico extensivo” o “HIPROEX” y estará constituido por aquella fase soluble, sin precipitar, totalmente líquida y que presenta una fracción proteica con un grado de hidrólisis superior al 10%. Al producto obtenible tras el secado del precipitado en el paso (f) del método de la invención se hará referencia en la presente invención como “hidrolizado proteico limitado” o “HIPROLI” y estará constituido por aquella fracción proteica precipitada, de consistencia pastosa, con un grado de hidrólisis inferior al 10%.

Por ello, otro aspecto de la invención se refiere al hidrolizado proteico extensivo obtenible mediante el secado del sobrenadante en el paso (f) del método de la invención, de ahora en adelante “hidrolizado proteico extensivo de la invención”. Otro aspecto de la invención se refiere al hidrolizado proteico limitado obtenible mediante el secado del precipitado en el paso (f) del método de la invención, de ahora en adelante “hidrolizado proteico limitado de la invención”. Los hidrolizados proteicos extensivos y limitados obtenibles mediante el método de la invención presentan, como muestran los ejemplos de la presente invención, una composición variable en cuanto a proteínas, humedad, cenizas, grasas, polifenoles, azúcares, fibra y/o grado de hidrólisis, que vendrá determinada por ciertos factores del método de la invención, como por ejemplo, aunque sin limitarnos, el tipo de enzima endoproteasa empleada, la composición y procedencia del material de partida o residuo agroindustrial proteico empleado en el paso (a), etc.

Los hidrolizados proteicos obtenibles mediante el método de la invención poseen propiedades reológicas y biológicas mejoradas con respecto al material de partida, por lo que son aplicables a diversos ámbitos industriales. Por ello,

- otro aspecto de la invención se refiere al uso del hidrolizado proteico extensivo o del hidrolizado proteico limitado de la invención para la elaboración de un cosmético, ya que el hidrolizado proteico extensivo de la invención presenta propiedades bioactivas y el hidrolizado proteico limitado de la invención presenta una elevada capacidad emulsionante y espumante, características todas ellas favorables para la elaboración de este tipo de productos. Se entiende por “cosmético” cualquier producto empleado para la higiene corporal o cuya finalidad sea la de mejorar la belleza.
- 10 Otro aspecto de la invención se refiere al uso del hidrolizado proteico extensivo de la invención para la elaboración de un suplemento alimenticio. Se entiende por “suplemento alimenticio”, “suplemento dietético” o “suplemento nutricional”, cualquier alimento, ingrediente o sustancia destinada a complementar la alimentación humana o animal, pudiéndose presentar, por ejemplo, aunque sin limitarnos, como pastillas, cápsulas, cápsulas suaves de gelatina, cápsulas de gelatina, líquidos o polvos. Preferiblemente, el suplemento alimenticio que comprende el hidrolizado proteico extensivo de la invención se presenta en forma líquida, ya que la elevada solubilidad de dicho hidrolizado permite su utilización en alimentos líquidos. La ingesta de estos suplementos alimenticios que comprenden el hidrolizado proteico extensivo de la invención puede ser beneficiosa en aquellas situaciones en que la situación metabólica requiera un aporte nutricional extra, como por ejemplo, aunque sin limitarnos, en individuos sometidos a dieta, en la tercera edad, en casos de hospitalización, donde podrían administrarse, por ejemplo, aunque sin limitarse, por vía enteral o parenteral, en deportistas, en individuos que presentan enfermedades o síndromes que cursan con una actividad gastrointestinal deficiente como, por ejemplo, aunque sin limitarnos, en los casos en los que existe una reducida superficie de absorción, como por ejemplo, aunque sin limitarnos, en la enfermedad de Crohn, o cuando la capacidad digestiva está reducida como por ejemplo, aunque sin limitarnos, en la fibrosis quística o en la pancreatitis.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del hidrolizado proteico extensivo o del hidrolizado proteico limitado de la invención para la elaboración de un alimento, de ahora en adelante “alimento de la invención”. Este alimento puede ser sólido o líquido y para consumo humano o de cualquier otro ser vivo.

5

El hidrolizado proteico limitado de la invención presenta un elevado poder emulsionante y espumante. Por ello, una realización preferida de este aspecto de la invención se refiere al uso del hidrolizado proteico limitado de la invención para la elaboración de un alimento de repostería. Se entiende por “alimento de repostería” cualquier alimento de confitería o pastelería, como por ejemplo, aunque sin limitarnos, pasteles, helados, bizcochos, tartas o tortas. Otra realización preferida de este aspecto de la invención se refiere al uso del hidrolizado proteico limitado de la invención para la elaboración de un alimento de panadería. Otra realización preferida de este aspecto de la invención se refiere al uso del hidrolizado proteico limitado de la invención para la elaboración de un alimento elaborado. Se entiende por “alimento elaborado” cualquier alimento que haya sufrido un proceso de modificación del estado originario de sus componentes para hacerlos más apetitosos, sabrosos, fáciles de ingerir o de conservar. Ejemplos de alimentos elaborados son, aunque sin limitarnos, mayonesas, carne picada, salchichas, helados, derivados cárnicos o productos bajos en grasas.

El hidrolizado proteico extensivo de la invención presenta, además, propiedades bioactivas como, por ejemplo, aunque sin limitarnos, actividad antioxidante y/o reguladora de la tensión arterial, preferiblemente actividad antihipertensiva, por lo que es útil para la elaboración de alimentos funcionales o como aditivo de los mismos. Por ello, otra realización preferida de este aspecto de la invención se refiere al uso del hidrolizado proteico extensivo de la invención para la elaboración de un alimento funcional. Se entiende por “alimento funcional” cualquier alimento que proporcione beneficios para la salud humana o de cualquier otro ser vivo más allá de la nutrición básica, como podría ser mejorar la salud mediante una reducción del riesgo de padecer

25
30

enfermedades. Estos alimentos funcionales que comprenden el hidrolizado proteico extensivo de la invención o “alimentos funcionales de la invención” podrían ser, aunque sin limitarnos, inmunomoduladores, antihipertensivos preferiblemente inhibidores de la ECA (enzima convertidora de angiotensina),
5 hipocolesterolémicos, antioxidantes, reguladores del tránsito intestinal, antimicrobianos o quelantes de calcio. En una realización más preferida, el alimento funcional de la invención es para la prevención o el tratamiento complementario de la hipertensión. En otra realización preferida, el alimento funcional de la invención es para la prevención o el tratamiento complementario
10 de los procesos oxidativos en, por ejemplo, aunque sin limitarnos, enfermedades degenerativas.

Debido a estas propiedades bioactivas, otro aspecto de la invención se refiere al uso del hidrolizado proteico extensivo de la invención para la elaboración de
15 un medicamento. El término “medicamento”, tal y como se emplea en la presente invención, se refiere a cualquier sustancia usada para la prevención, el alivio o el tratamiento complementario de enfermedades en el hombre y los animales. En el contexto de la presente invención se refiere a una preparación que comprenda, al menos, el hidrolizado proteico extensivo de la invención. En
20 una realización preferida, el medicamento es para su uso en la prevención, alivio o tratamiento complementario de enfermedades que cursen con procesos oxidativos, como por ejemplo, aunque sin limitarnos, enfermedades degenerativas, o con hipertensión, o con deficiencia en la absorción intestinal o capacidad digestiva, como por ejemplo, aunque sin limitarnos, enfermedad de
25 Crohn, fibrosis quística o pancreatitis.

Otro aspecto de la invención se refiere a un alimento que comprende el hidrolizado proteico extensivo y/o el hidrolizado proteico limitado de la invención.

30 Otro aspecto de la invención se refiere a un cosmético que comprende el hidrolizado proteico extensivo y/o el hidrolizado proteico limitado de la

invención.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición que comprende el hidrolizado proteico extensivo y/o el hidrolizado proteico limitado de la invención.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Fig. 1. Muestra el nivel de solubilidad (eje de ordenadas, en %) frente al pH (eje de abscisas) de la harina de colza y del HIPROLI e HIPROEX de la harina de colza obtenidos mediante el método de la invención. Línea continua: harina de colza. Línea discontinua: HIPROLI. Línea-cuadrados: HIPROEX.

Fig. 2. Muestra el índice de protección antioxidante (eje de ordenadas, en %) frente al tiempo (eje de abscisas, en minutos) de la harina de colza (triángulos), del HIPROLI (cuadrados) e HIPROEX (círculos) de la harina de colza obtenidos mediante el método de la invención. Se tomó como control positivo el antioxidante sintético Butil hidroxitolueno (BHT o E-321) (asteriscos) y un control con agua destilada como Blanco (rombos). Las concentraciones de muestra ensayadas fueron de 100.000 ppm en el caso de los productos derivados de colza y 800 ppm en el caso de BHT.

Fig. 3. Muestra el nivel de solubilidad (eje de ordenadas, en %) frente al pH (eje de abscisas) de la harina de girasol y del HIPROLI e HIPROEX de la harina de girasol obtenidos mediante el método de la invención. Línea continua: harina de girasol. Línea discontinua: HIPROLI. Línea-cuadrados: HIPROEX.

Fig. 4. Muestra el índice de protección antioxidante (eje de ordenadas, en %) frente al tiempo (eje de abscisas, en minutos) de la harina de girasol (triángulos), del HIPROLI (cuadrados) e HIPROEX (círculos) de la harina de girasol obtenidos mediante el método de la invención. Se tomó como control positivo el antioxidante sintético Butil hidroxitolueno (BHT o E-321) (asteriscos) y un control con agua destilada como Blanco (rombos). Las concentraciones de muestra ensayadas fueron de 100.000 ppm en el caso de los productos derivados de girasol y 800 ppm en el caso de BHT.

EJEMPLOS

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que ponen de manifiesto la efectividad del método de la invención en la obtención de un hidrolizado proteico limitado y de un hidrolizado proteico extensivo, cuyas propiedades reológicas y biológicas permiten su uso en la elaboración de cosméticos, medicamentos y/o alimentos. Estos ejemplos específicos que se proporcionan sirven para ilustrar la naturaleza de la presente invención y se incluyen solamente con fines ilustrativos, por lo que no han de ser interpretados como limitaciones a la invención que aquí se reivindica. Por tanto, los ejemplos descritos más adelante ilustran la invención sin limitar el campo de aplicación de la misma.

EJEMPLO 1. Obtención de hidrolizados proteicos de colza.

El proceso hidrolítico para la obtención de hidrolizados proteicos limitados y
 5 extensivos a partir de harina de colza se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones:

- [Sustrato]: 10% (p/v); 0,25 % Na₂SO₃ (p/p),
- Enzima: Alcalase® 2.4 L,
- 10 - Relación Enzima/Sustrato: 0,005 UA/g proteína,
- Temperatura: Temperatura ambiente (20 °C),
- pH: 9,
- Tiempo de reacción: 1 hora.

15 El rendimiento de dicho proceso hidrolítico fue el que se muestra en la tabla 2.

Sin Alcalase			
	Riqueza Proteica	Balance Materia	Balance Proteína
Harina	32,3	100,0	100,0
Sobrenadante	25,0	18,6	14,5
Precipitado	67,5	3,6	7,7
Residuo Final	31,5	78,2	77,8
Con Alcalase			
	Riqueza Proteica	Balance Materia	Balance Proteína
Harina	32,3	100,0	100,0
Sobrenadante (HIPROEX)	38,7	24,7	30,7
Precipitado (HIPROLI)	63,0	4,4	8,7
Residuo Final	27,8	71,0	61,1

Tabla 2. Rendimiento del proceso hidrolítico a partir de harina de colza. Los datos están expresados en % p/p.

La caracterización química de los productos o hidrolizados obtenidos al final del proceso fue la que se muestra en la tabla 3.

	Harina	-Alcalase		+Alcalase	
		Sobrenadante tras precipitación	Precipitado	Sobrenadante (HIPROEX)	Precipitado (HIPROLI)
Proteínas	32,3	23,2	69,0	45,4	65,6
Humedad	8,4	1,0	4,1	3,2	4,2
Cenizas	6,7	24,7	5,1	31,8	5,2
Grasas	4,2	0,8	0,5	1,6	2,3
Polifenoles	1,1	3,3	0,7	0,4	0,4
Azúcares	5,6	15,7	1,1	2,2	1,0
Fibra	33,5	3,1	2,2	4,9	6,4
Grado Hidrólisis	3,7	9,1	4,4	35,4	8,8

- 5 Tabla 3. Caracterización química de los productos obtenidos mediante el método de la invención (HIPROEX e HIPROLI) y mediante el proceso de hidrólisis sin alcalase (control). Los datos están expresados en % p/p.

- 10 La distribución de pesos moleculares de la harina de colza y de los dos hidrolizados obtenidos mediante el método de la invención fue la que se muestra en la tabla 4.

	<i>Harina Colza</i>	<i>HIPROLI Colza</i>	<i>HIPROEX Colza</i>
> 300 kDa	1,3 %	1,5 %	-
300–100 kDa	36,6 %	16,4 %	-
100 –15 kDa	2,3 %	3,5 %	-
15 –10 kDa	3,9 %	7,2 %	9,6 %
10 –1 kDa	51,4 %	63,1 %	44,2 %
< 1 kDa	4,6 %	8,3 %	46,2 %

- 5 Tabla 4. Distribución de los pesos moleculares de la harina de colza y de los dos hidrolizados obtenidos mediante el método de la invención.

Las propiedades reológicas de la harina de colza y de los hidrolizados obtenidos a partir de la misma mediante el método de la invención fueron las que se muestran en la tabla 5 y en la figura 1.

10

	HARINA COLZA	HIPROLI COLZA	HIPROEX COLZA
Absorción agua ^a	162,9	ND	ND
Absorción aceite ^b	57,8	74,4	44,8
Actividad emulsificante ^c	56,7	53,4	50,6
Estabilidad emulsificante ^d	52,7	35,2	4,0
Capacidad espumante ^e	116,1	172,3	117,7
Estabilidad espumante ^f 60´	92,4	84,9	86,0

a: expresada como gramos de agua absorbida/ 100 g de muestra.

b: expresada como gramos de grasa absorbida/ 100 g de muestra.

c: porcentaje (%) del volumen de la capa emulsificada.

d: porcentaje (%) del volumen de emulsión inicial.

5 e: porcentaje (%) del incremento de volumen respecto del volumen inicial.

f: porcentaje (%) respecto del volumen de espuma inicial.

10 Tabla 5. Propiedades reológicas de la harina de colza y de los hidrolizados obtenidos a partir de la misma mediante el método de la invención. Los datos están expresados en %. ND: No determinado.

En cuanto a las propiedades biológicas de los hidrolizados de colza obtenidos mediante el método de la invención, éstos presentaron actividad antihipertensiva y actividad antioxidante.

15

- *Actividad antihipertensiva*

Se determinó a partir de la actividad inhibidora de las muestras ensayadas hacia la enzima convertidora de angiotensina (ECA) implicada en la regulación de la presión arterial (Hayakari *et al.*, 1978, *Anal. Biochem.*, 84: 361-369). Se expresaron los resultados en IC₅₀, definida ésta como la concentración necesaria de muestra para inhibir el 50% de la actividad de la enzima (tabla 6).

20

	Harina Colza	HIPROLI Colza	HIPROEX Colza
IC ₅₀ (µg proteína/ ml)	592,8	98,0	81,9

25 Tabla 6. Actividad inhibidora de la ECA de la harina de colza y de sus hidrolizados.

- *Actividad antioxidante*

30 Se determinó según el método descrito por Miller (Miller, 1971, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 48:2) a partir del cual se mide

espectrofotométricamente la decoloración del β -caroteno en presencia de los productos de oxidación del ácido linoleico (figura 2).

EJEMPLO 2. Obtención de hidrolizados proteicos de girasol.

5

El proceso hidrolítico para la obtención de hidrolizados proteicos limitados y extensivos a partir de harina de girasol se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones:

10

- [Sustrato]: 10% (p/v); 0,25 % Na_2SO_3 (p/p),
- Enzima: Alcalase® 2.4 L,
- Relación Enzima/Sustrato: 0,001 UA/g proteína,
- Temperatura: Temperatura ambiente (20 °C),
- pH: 11,

15

- Tiempo de reacción: 1 hora.

El rendimiento del proceso hidrolítico fue el que se muestra en la tabla 7.

Sin Alcalase			
	Riqueza Proteica	Balance Materia	Balance Proteína
Harina	28,7	100,0	100,0
Sobrenadante	19,0	11,9	7,8
Precipitado	85,3	10,7	31,9
Residuo Final	22,3	77,4	60,2
Con Alcalase			
	Riqueza Proteica	Balance Materia	Balance Proteína
Harina	28,7	100,0	100,0
Sobrenadante (HIPROEX)	44,7	17,2	26,9
Precipitado (HIPROLI)	70,7	6,1	15,1
Residuo Final	21,7	76,7	58,0

Tabla 7. Rendimiento del proceso hidrolítico a partir de harina de girasol. Los datos están expresados en % p/p.

5

La caracterización química de los productos o hidrolizados obtenidos al final del proceso fue la que se muestra en la tabla 8.

	Harina	-Alcalase		+Alcalase		
		Extracto total	Precipitado	(HIPROEX)	(HIPROLI)	Extracto total
Proteínas	28,7	47,3	86,4	42,9	71,4	51,9
Humedad	10,6	8,3	2,6	3,3	1,7	4,7
Cenizas	6,7	25,2	3,3	28,4	7,2	22,0
Grasas	1,7	2,6	0,2	1,1	1,7	0,5
Polifenoles	1,0	0,4	0,1	1,1	0,4	0,5
Azúcares	3,1	0,5	0,2	3,2	0,8	1,1
Fibra	47,2	6,1	7,9	7,4	12,4	6,4
Grado Hidrólisis	-	7,0	1,6	15,7	5,9	28,0

5 Tabla 8. Caracterización química de los productos obtenidos mediante el método de la invención (HIPROEX e HIPROLI) y mediante el proceso de hidrólisis sin alcalase (control). Los datos están expresados en % p/p.

La distribución de pesos moleculares de la harina de girasol y de los dos hidrolizados obtenidos mediante el método de la invención fue la que se muestra en la tabla 9.

10

	<i>Harina Girasol</i>	<i>HIPROLI Girasol</i>	<i>HIPROEX Girasol</i>
> 300 kDa	14,5 %	-	-
300–100 kDa	18,3 %	-	-
100–15 kDa	61,5 %	16,3 %	-
15–10 kDa	-	-	-
10–1 kDa	5,7 %	77,2 %	86,7 %
< 1 kDa	-	6,5 %	13,3 %

Tabla 9. Distribución de los pesos moleculares de la harina de girasol y de los dos hidrolizados obtenidos mediante el método de la invención.

Las propiedades reológicas de la harina de girasol y de los hidrolizados obtenidos a partir de la misma mediante el método de la invención fueron las que se muestran en la tabla 10 y en la figura 3.

	HARINA GIRASOL	HIPROLI GIRASOL	HIPROEX ⁵ GIRASOL
Absorción agua ^a	229,5	ND	ND
Absorción aceite ^b	92,3	192,9	356,6 ¹⁰
Actividad emulsificante ^c	11,8	31,6	5,3
Estabilidad emulsificante ^d	20,0	16,7	0,0 ¹⁵
Capacidad espumante ^e	108,8	154,0	119,6
Estabilidad espumante ^f 60´	96,3	67,5	89,1 ²⁰

a: expresada como gramos de agua absorbida/ 100 g de muestra.

b: expresada como gramos de grasa absorbida/ 100 g de muestra.

25 c: porcentaje (%) del volumen de la capa emulsificada.

d: porcentaje (%) del volumen de emulsión inicial.

e: porcentaje (%) del incremento de volumen respecto del volumen inicial.

f: porcentaje (%) respecto del volumen de espuma inicial.

30 Tabla 10. Propiedades reológicas de la harina de girasol y de los hidrolizados obtenidos a partir de la misma mediante el método de la invención. Los datos están expresados en %. ND: No determinado.

En cuanto a las propiedades biológicas de los hidrolizados de girasol obtenidos mediante el método de la invención, éstos presentaron actividad antihipertensiva (tabla 11) y actividad antioxidante (figura 4).

	Harina Girasol	HIPROLI Girasol	HIPROEX Girasol
IC ₅₀ (µg proteína/ml)	262,6	33,3	22,6

5

Tabla 11. Actividad inhibidora de la ECA de la harina de girasol y de sus hidrolizados.

10 Como puede observarse en estos ejemplos, el hecho de añadir una enzima proteolítica a la solución sustrato de harinas vegetales conllevó un aumento de los rendimientos tanto en el balance de materia como en el de proteína, siendo esto más evidente en el ejemplo realizado con la harina desengrasada de colza.

15 En ambos ejemplos aquí mostrados, los sobrenadantes obtenidos tras precipitar a pH 4 (HIPROEX) presentaron un contenido proteico mucho más elevado que los observados en los controles sin proteasas como consecuencia del desplazamiento hacia esta fracción de aquellas proteínas que, debido a las hidrólisis enzimáticas, habían perdido o modificado su punto isoeléctrico y, por
20 consiguiente, su facultad de precipitar a este pH. También fue notable el alto contenido en cenizas de esta fracción lo cual, sin embargo, no supondría ningún problema a la hora de ser utilizada en preparaciones alimenticias tras ser sometida a un proceso de filtración o ultrafiltración previo a su incorporación a cualquier alimento, proceso éste de ámbito obligatorio en el campo de la
25 industria alimentaria. Destacó igualmente su alta solubilidad en el amplio rango de pH estudiado (2 – 12) así como unas propiedades reológicas aceptables. De igual modo, este hidrolizado presentó mejores actividades antioxidativas y reguladoras de la tensión arterial que el hidrolizado limitado y que las proteínas

intactas de las que procedía. En este sentido, dicho producto resultó de gran valor añadido debido a su potencial uso como aditivo en la formulación de alimentos funcionales.

- 5 Por otra parte, la fracción precipitada (HIPROLI) presentó valores proteicos importantes superiores al 60% en cualquier caso, mostró una composición química similar a las obtenidas en los controles sin tratamiento enzimático y una ligera mejora en cuanto a solubilidad proteica frente al pH, debido al suave incremento en el grado de hidrólisis de la partida proteica de este producto.
- 10 Este grado de hidrólisis limitado, inferior al 10%, le confirió unas notables propiedades reológicas otorgándole así unas características valiosas para ser usado en repostería, pastelería o elaboración de derivados cárnicos. Igualmente, y en menor medida que el hidrolizado proteico extensivo, presentó unos valores de actividades biológicas apreciables, por lo que aportaría un
- 15 beneficio mayor a los productos a los que fuera añadido.

REIVINDICACIONES

1. Método de obtención de un hidrolizado proteico limitado y un hidrolizado proteico extensivo que comprende:
 - a. hidrolizar enzimáticamente un residuo agroindustrial proteico,
 - b. centrifugar el hidrolizado obtenido en el paso (a),
 - c. disminuir el pH del sobrenadante obtenido en la centrifugación del paso (b) hasta un valor de entre 3 y 5,
 - d. centrifugar el sobrenadante del paso (c),
 - e. separar el sobrenadante del precipitado obtenidos en la centrifugación del paso (d), y
 - f. secar el sobrenadante y el precipitado separados en el paso (e).
2. Método según la reivindicación 1 donde el residuo agroindustrial proteico del paso (a) comprende menos de un 6% (p/p) de grasas.
3. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 donde el residuo agroindustrial proteico del paso (a) comprende entre un 15% y un 50% (p/p) de proteínas.
4. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 donde el residuo agroindustrial proteico del paso (a) se encuentra a una concentración de entre un 5% y un 10% (p/v).
5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 donde el residuo agroindustrial proteico del paso (a) es una harina proteica vegetal.
6. Método según la reivindicación 5 donde la harina proteica vegetal procede de un vegetal seleccionado de la lista que comprende: girasol, colza, soja, pepita de uva, garbanzo, altramuza, lenteja o germen de algarroba.

7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 donde la enzima empleada en la hidrólisis enzimática del paso (a) es una endoproteasa.
8. Método según la reivindicación 7 donde la endoproteasa se selecciona de la lista que comprende: tripsina, quimotripsina, pancreatina, pepsina, papaína, alcalasa, subtilisina o flavorzima.
9. Método según la reivindicación 8 donde la endoproteasa es la alcalasa.
10. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 donde la relación enzima/residuo agroindustrial proteico del paso (a) se encuentra en un rango de entre 0,001 y 0,01 UA/g.
11. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 donde la hidrólisis enzimática del paso (a) se realiza a un pH de entre 8 y 11.
12. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 donde la hidrólisis enzimática del paso (a) se realiza a una temperatura de entre 18 y 25 °C.
13. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 donde la hidrólisis enzimática del paso (a) se realiza durante un periodo de tiempo inferior o igual a 1 hora.
14. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 donde la hidrólisis enzimática del paso (a) se realiza en agitación continua.
15. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 donde la disminución del pH del paso (c) se realiza mediante la adición de HCl.
16. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 donde el secado del paso (f) se realiza mediante atomización.

17. Hidrolizado proteico extensivo obtenible mediante el secado del sobrenadante en el paso (f) del método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16.
- 5 18. Hidrolizado proteico limitado obtenible mediante el secado del precipitado en el paso (f) del método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16.
19. Uso del hidrolizado proteico extensivo según la reivindicación 17 para la elaboración de un medicamento.
- 10 20. Uso del hidrolizado proteico extensivo según la reivindicación 17 para la elaboración de un suplemento alimenticio.
- 15 21. Uso del hidrolizado proteico extensivo según la reivindicación 17 o del hidrolizado proteico limitado según la reivindicación 18 para la elaboración de un cosmético.
- 20 22. Uso del hidrolizado proteico extensivo según la reivindicación 17 o del hidrolizado proteico limitado según la reivindicación 18 para la elaboración de un alimento.
23. Uso del hidrolizado proteico extensivo según la reivindicación 22 donde el alimento es un alimento funcional.
- 25 24. Uso del hidrolizado proteico limitado según la reivindicación 22 donde el alimento es un alimento de repostería.
25. Uso del hidrolizado proteico limitado según la reivindicación 22 donde el alimento es un alimento de panadería.

26. Uso del hidrolizado proteico limitado según la reivindicación 22 donde el alimento es un alimento elaborado.
- 5 27. Alimento que comprende el hidrolizado proteico extensivo según la reivindicación 17 y/o el hidrolizado proteico limitado según la reivindicación 18.
- 10 28. Cosmético que comprende el hidrolizado proteico extensivo según la reivindicación 17 y/o el hidrolizado proteico limitado según la reivindicación 18.
29. Composición que comprende el hidrolizado proteico extensivo según la reivindicación 17 y/o el hidrolizado proteico limitado según la reivindicación 18.

1 / 2

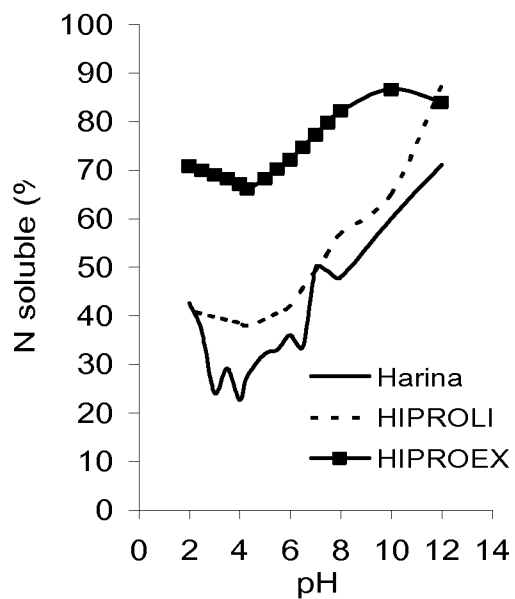


FIG. 1

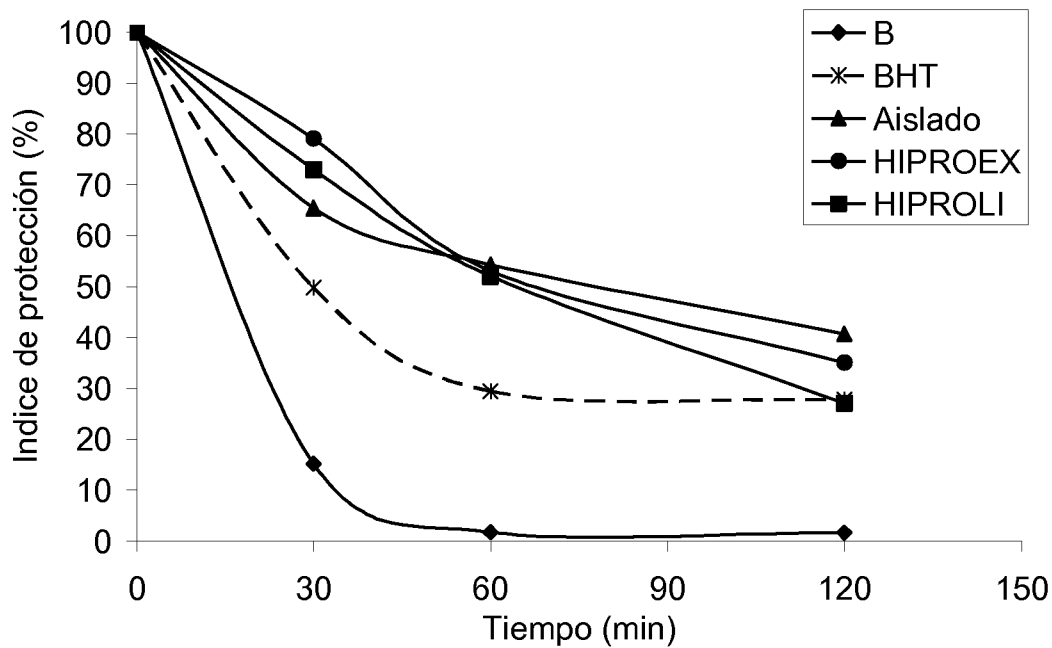


FIG. 2

2 / 2

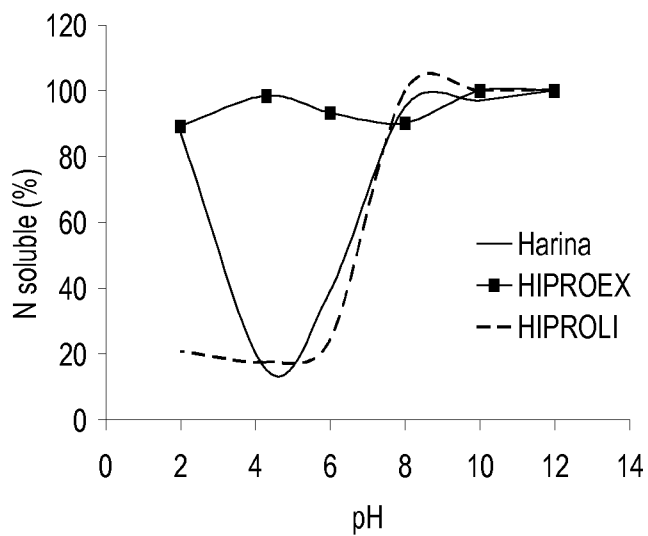


FIG. 3

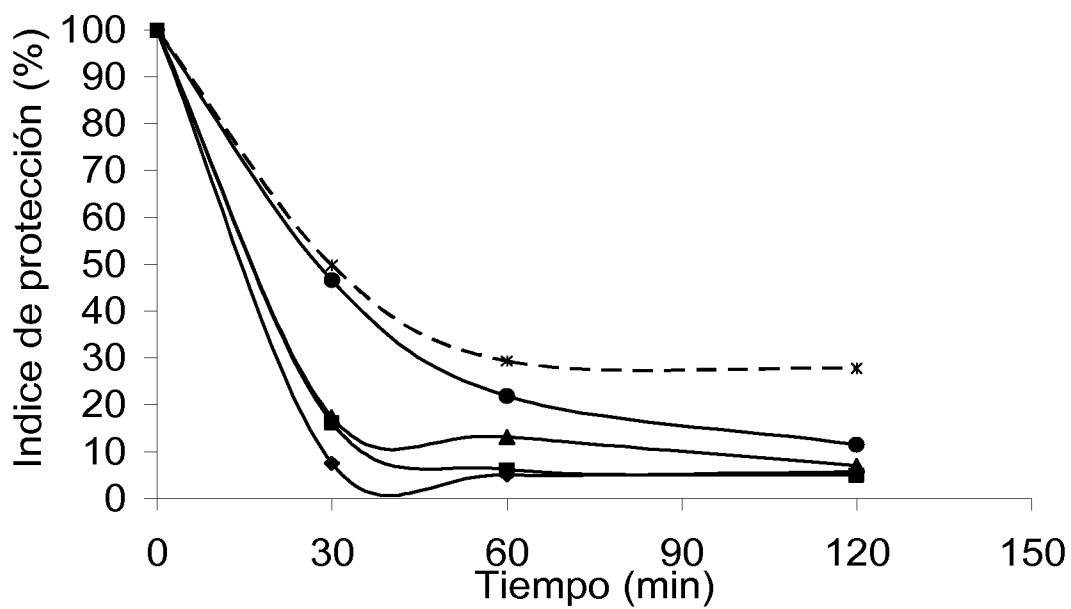


FIG. 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2011/070571

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A23J, C12P, A23L, A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, WPI, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ES 2173036 A1 (PEPTONAS VEGETALES S L) 01/10/2002, the whole document.	1-29
A	WO 9215697 A1 (NOVO NORDISK AS) 17/09/1992, the whole document.	1-29
A	US 3741771 A (POUR-EL A ET AL.) 26/06/1973, the whole document.	1-29
A	US 2003165612 A1 (SANZ GUTIERREZ PEDRO) 04/09/2003, the whole document.	1-29
A	EP 0495391 A1 (CPC INTERNATIONAL INC) 22/07/1992, the whole document.	1-29
A	EP 0421105 A1 (MERCK PATENT GMBH) 10/04/1991, the whole document.	1-29

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents , such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
28/11/2011

Date of mailing of the international search report
(11.01.2012)

Name and mailing address of the ISA/

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Facsimile No.: 91 349 53 04

Authorized officer
A. Maquedano Herrero

Telephone No. 91 3495474

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2011/070571

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4100024 A (ADLER-NISSEN JENS LORENZ) 11/07/1978, the whole document.	1-29

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2011/070571

Information on patent family members

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
ES2173036 AB	01.10.2002	EP1195097 A US2002042500 A US6706312 B JP2002212199 A US2003165612 A US7255890 B ES2209645 AB	10.04.2002 11.04.2002 16.03.2004 31.07.2002 04.09.2003 14.08.2007 16.06.2004
----- WO9215697 A	----- 17.09.1992	----- CA2104595 A AU1422492 A FI933888 A FI102389 B FI102389 B EP0575443 AB JPH06505162 A JP3181913B2 B US5520935 A AT154830 T ES2103366 T DE69220568 T DK0575443 T GR3024752 T	----- 08.09.1992 06.10.1992 06.09.1993 30.11.1998 30.11.1998 29.12.1993 16.06.1994 03.07.2001 28.05.1996 15.07.1997 16.09.1997 13.11.1997 29.12.1997 31.12.1997
----- US3741771 A	----- 26.06.1973	----- NONE	-----
----- US2003165612 A	----- 04.09.2003	----- EP1195097 A US2002042500 A US6706312 B JP2002212199 A ES2173036 AB US7255890 B ES2209645 AB	----- 10.04.2002 11.04.2002 16.03.2004 31.07.2002 01.10.2002 14.08.2007 16.06.2004
----- EP0495391 AB	----- 22.07.1992	----- MX9200126 A NO920162 A FI920154 A CA2059015 A IE920033 A AU1023592 A EP19920100260 BR9200080 A US5180597 A JP5056753 A AU650313 B AT164730 T ES2113893 T DE69225006 T KR100254916 B	----- 01.07.1992 15.07.1992 15.07.1992 15.07.1992 15.07.1992 16.07.1992 09.01.1992 06.10.1992 19.01.1993 09.03.1993 16.06.1994 15.04.1998 16.05.1998 30.07.1998 01.05.2000
----- EP0421105 A	----- 10.04.1991	----- DE3929090 A EP19900116042	----- 07.03.1991 22.08.1990

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2011/070571

Information on patent family members

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		US5009795 A	23.04.1991
-----	-----	-----	-----
US4100024 A	11.07.1978	BE850478 A	18.07.1977
		DK13577 A	20.07.1977
		NL7700529 A	21.07.1977
		FR2338001 AB	12.08.1977
		JP52114095 A	24.09.1977
		JP56052543 B	12.12.1981
		JP1112697 C	16.09.1982
		GB1547911 A	27.06.1979
-----	-----	-----	-----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2011/070571

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A23J1/00 (2006.01)
A23J1/14 (2006.01)
A23J3/34 (2006.01)
C12P21/06 (2006.01)
A23L1/305 (2006.01)
A61K38/01 (2006.01)
A61K8/64 (2006.01)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ES2011/070571

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

Ver Hoja Adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A23J, C12P, A23L, A61K

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

EPODOC, INVENES, WPI, BIOSIS

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	ES 2173036 A1 (PEPTONAS VEGETALES S L) 01/10/2002, todo el documento.	1-29
A	WO 9215697 A1 (NOVO NORDISK AS) 17/09/1992, todo el documento.	1-29
A	US 3741771 A (POUR-EL A ET AL.) 26/06/1973, todo el documento.	1-29
A	US 2003165612 A1 (SANZ GUTIERREZ PEDRO) 04/09/2003, todo el documento.	1-29
A	EP 0495391 A1 (CPC INTERNATIONAL INC) 22/07/1992, todo el documento.	1-29
A	EP 0421105 A1 (MERCK PATENT GMBH) 10/04/1991, todo el documento.	1-29

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos ☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
28/11/2011

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
11 ENERO 2012 (11.01.2012)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado
A. Maquedano Herrero

Nº de teléfono 91 3495474

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/ES2011/070571

C (Continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
A	US 4100024 A (ADLER-NISSEN JENS LORENZ) 11/07/1978, todo el documento.	1-29

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional n°

PCT/ES2011/070571

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
ES2173036 AB	01.10.2002	EP1195097 A US2002042500 A US6706312 B JP2002212199 A US2003165612 A US7255890 B ES2209645 AB	10.04.2002 11.04.2002 16.03.2004 31.07.2002 04.09.2003 14.08.2007 16.06.2004
-----	-----	-----	-----
WO9215697 A	17.09.1992	CA2104595 A AU1422492 A FI933888 A FI102389 B FI102389 B EP0575443 AB JPH06505162 A JP3181913B2 B US5520935 A AT154830 T ES2103366 T DE69220568 T DK0575443 T GR3024752 T	08.09.1992 06.10.1992 06.09.1993 30.11.1998 30.11.1998 29.12.1993 16.06.1994 03.07.2001 28.05.1996 15.07.1997 16.09.1997 13.11.1997 29.12.1997 31.12.1997
-----	-----	-----	-----
US3741771 A	26.06.1973	NINGUNO	
-----	-----	-----	-----
US2003165612 A	04.09.2003	EP1195097 A US2002042500 A US6706312 B JP2002212199 A ES2173036 AB US7255890 B ES2209645 AB	10.04.2002 11.04.2002 16.03.2004 31.07.2002 01.10.2002 14.08.2007 16.06.2004
-----	-----	-----	-----
EP0495391 AB	22.07.1992	MX9200126 A NO920162 A FI920154 A CA2059015 A IE920033 A AU1023592 A EP19920100260 BR9200080 A US5180597 A JP5056753 A AU650313 B AT164730 T ES2113893 T DE69225006 T KR100254916 B	01.07.1992 15.07.1992 15.07.1992 15.07.1992 15.07.1992 16.07.1992 09.01.1992 06.10.1992 19.01.1993 09.03.1993 16.06.1994 15.04.1998 16.05.1998 30.07.1998 01.05.2000
-----	-----	-----	-----
EP0421105 A	10.04.1991	DE3929090 A EP19900116042	07.03.1991 22.08.1990

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ES2011/070571

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
		US5009795 A	23.04.1991
-----	-----	-----	-----
US4100024 A	11.07.1978	BE850478 A	18.07.1977
		DK13577 A	20.07.1977
		NL7700529 A	21.07.1977
		FR2338001 AB	12.08.1977
		JP52114095 A	24.09.1977
		JP56052543 B	12.12.1981
		JP1112697 C	16.09.1982
		GB1547911 A	27.06.1979
-----	-----	-----	-----

CLASIFICACIONES DE INVENCION

A23J1/00 (2006.01)

A23J1/14 (2006.01)

A23J3/34 (2006.01)

C12P21/06 (2006.01)

A23L1/305 (2006.01)

A61K38/01 (2006.01)

A61K8/64 (2006.01)