

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 984 660**

51 Int. Cl.:

C07K 14/415 (2006.01)

C08B 30/04 (2006.01)

A23J 1/16 (2006.01)

A23J 1/12 (2006.01)

C08H 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.03.2016** **PCT/US2016/024020**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.09.2016** **WO16154441**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.03.2016** **E 16769697 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2024** **EP 3274365**

54 Título: **Aislado de proteína de maíz y métodos de fabricación del mismo**

30 Prioridad:

24.03.2015 US 201562137526 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
30.10.2024

73 Titular/es:

CARGILL, INCORPORATED (100.0%)
15407 McGinty Road West
Wayzata, MN 55391, US

72 Inventor/es:

CHEN, YUMIN;
PETERS, EUGENE MAX, JR.;
PORTER, MICHAEL A.;
WILSON, CRAIG A.;
YEHIA, HADI NAYEF y
ZHENG, GUO-HUA

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 984 660 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Aislado de proteína de maíz y métodos de fabricación del mismo

5 **Campo técnico**

La presente descripción se refiere a proteína de maíz aislada y a métodos de aislamiento de proteína de maíz.

10 **Antecedentes**

Desde hace más de 100 años, la molienda húmeda del maíz se utiliza para separar los granos de maíz en productos como almidón, proteínas, fibra y aceite. La molienda húmeda del maíz es un proceso en dos etapas que incluye un proceso de remojo para ablandar el grano de maíz y facilitar la siguiente etapa del proceso de molienda húmeda que da como resultado almidón purificado y diferentes coproductos como aceite, fibra y proteínas. En la actualidad se están investigando otros métodos de procesamiento del maíz para purificar aún más el coproducto proteínico con vistas, concretamente, a su incorporación a productos alimentarios. El creciente interés de los consumidores por las proteínas en su dieta y la creciente preocupación por el coste y la disponibilidad de las proteínas de origen animal hacen que las empresas alimentarias busquen cada vez más nuevas fuentes de proteínas. El documento EP 0 648 078 B1 describe métodos de extracción y purificación de zeína, cuerpos de zeína, glutelinas o gluten de maíz desalmidonado a partir de harina de gluten de maíz mediante la eliminación y recuperación eficaz de pigmentos e hidrolizados de almidón de calidad alimentaria, descartando al mismo tiempo las fracciones no deseadas. El gluten de maíz se somete a la combinación de hidrólisis enzimática del almidón, tratamiento alcalino, lavado con alcohol, extracción con alcohol, purificación con resina de intercambio iónico o de carbono y precipitación para producir una zeína sustancialmente libre de almidón, desaborizada y decolorada que es adecuada para su uso en alimentos y productos farmacéuticos. El documento EP 0 510 537 A1 describe procesos para tratar un material que contiene zeína con el fin de disminuir el color y el olor inherentes, así como para obtener un componente de zeína a partir del mismo, cuyo tono de color y olor han disminuido. La eliminación del color y el olor se lleva a cabo poniendo en contacto el material con una solución acuosa de acetona con una concentración de acetona que casi no disuelve el componente de zeína. La extracción del componente de zeína de la materia prima se lleva a cabo de forma convencional, por ejemplo, utilizando alcohol etílico acuoso.

30 **Resumen**

La invención se define por las reivindicaciones. En un aspecto, la presente invención proporciona un aislado de proteína de maíz, que comprende al menos un 85 % en peso de proteína de maíz en base seca; y menos del 1,5 % de aceite en base seca, caracterizado por que el aislado de proteína de maíz tiene un valor de color "a*" que varía de -0,5 y 1,5, un valor de color "b*" que varía de 10 y 25, y un valor de color L* de al menos 88; según el método de medición del color definido en la presente memoria.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para producir un aislado de proteína de maíz, que comprende: proporcionar un material de gluten de maíz desalmidonado, y lavar el material de gluten de maíz desalmidonado con un disolvente que comprende agua y un disolvente orgánico miscible en agua para obtener un aislado de proteína de maíz que tiene al menos un 85 % en peso de proteína en base seca y menos de un 1,5 % de aceite en base seca, en donde el disolvente orgánico miscible en agua comprende etanol o isopropanol en una concentración que varía del 75 al 95 % en peso y en donde el volumen del disolvente orgánico miscible en agua es de 3 a 40 litros por kilogramo de material de gluten de maíz desalmidonado con un contenido de humedad de hasta el 65 % en peso, caracterizado por que el aislado de proteína de maíz tiene un valor de color "a*" que varía de -0.5 a 1,5, un valor de color "b*" que varía de 10 y 25, y un valor de color L* de al menos 88, medido según el método de medición del color definido en la descripción.

50 **Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1 ilustra un ejemplo de proceso de lavado con disolvente de etanol utilizando gluten de maíz húmedo desalmidonado como material de partida.

La Figura 2 ilustra un ejemplo de proceso de lavado con disolvente de etanol utilizando gluten de maíz seco desalmidonado como material de partida.

55 **Descripción detallada**

Material de partida de maíz

El proceso de producción de un aislado de proteína de maíz comienza con un material de gluten de maíz que comprende al menos un 65 por ciento en peso (% en peso), al menos un 70 % en peso o al menos un 80 % en peso de proteína en base seca (bs). En al menos ciertos aspectos preferidos, la concentración de proteína puede variar de aproximadamente el 65 al 80 % en peso (bs), de aproximadamente el 70 al 80 % en peso (bs), o de aproximadamente el 75 al 80 % en peso (bs). La concentración de proteína a lo largo de la presente descripción se determina por la concentración de nitrógeno como se indica en [00027].

El material inicial de gluten de maíz también se desalmidona. Por “desalmidonado” se entiende el material de gluten de maíz de partida que tiene un residuo de sólidos de almidón insolubles comprendido entre el 0,1 % en peso y 3,0 % en peso (ss), medido por el método polarimétrico de Ewers conforme a la norma ISO 10520:1997. En al menos ciertos aspectos preferidos, los sólidos residuales de almidón en dicho material de gluten de maíz de partida pueden estar en el intervalo de aproximadamente el 0,1 al 2,0 % en peso (ss), de aproximadamente el 0,1 al 1,0 % en peso (ss), o de aproximadamente el 0,1 al 0,75 % en peso (ss). Sin embargo, si un material de gluten de maíz no se desalmidona, el material de gluten de maíz puede someterse a una hidrólisis enzimática o química y a una etapa de separación posterior para hidrolizar y eliminar, respectivamente, la mayoría de los componentes del almidón contenidos en el material de gluten de maíz.

En algunos aspectos, un material de gluten de maíz de partida puede ser el concentrado de proteína de maíz descrito en la patente estadounidense US-9,226,515. Un análisis típico de dicho concentrado de proteína de maíz (por ejemplo, Empyreal® 75, Cargill, Incorporated, Wayzata, MN) comprende de aproximadamente el 75 % al 80 % de proteína, aproximadamente un 4,5 % de grasa, aproximadamente un 5 % de carbohidratos solubles y otros nutrientes (tal cual), y tiene un color amarillo brillante o dorado. Dicho concentrado de proteína de maíz puede introducirse en forma de “polvo compacto” seco o en forma de “polvo compacto” húmedo (que comprende aproximadamente un 40-60 % de humedad).

Proceso de lavado con disolvente

A continuación, el material inicial de gluten de maíz desalmidonado se lava con un disolvente miscible en agua. La concentración del disolvente miscible en agua es del 75 al 95 % en peso, o de aproximadamente el 85 al 95 % en peso, o de aproximadamente el 90 % en peso.

Puede realizarse una serie de etapas de lavado con disolvente. Una ventaja de los procesos descritos en la presente memoria es la reducción del uso de disolventes en comparación con otros procesos de purificación descritos en la técnica anterior. En los procesos descritos en la presente memoria, se utilizan entre 3 y 40 litros (l) de disolvente por kilogramo (kg) de gluten de maíz desalmidonado para conseguir la pureza deseada del aislado de proteína de maíz. Otros métodos para producir un producto de proteína de maíz, incluido un aislado de proteína de maíz, requieren muchas más etapas de lavado y utilizan más disolvente que los aspectos descritos en la presente memoria y no consiguen eliminar la cantidad de componentes no proteicos en comparación con los procesos descritos en la presente memoria. Al menos por esta razón, los procesos descritos en la presente memoria son más rentables y más eficaces en la eliminación de componentes no proteicos que los descritos en la técnica anterior.

Sorprendentemente, se descubrió que los lavados con disolventes descritos en la presente memoria eliminaban muchos componentes no proteicos (pigmentos, micotoxinas, azúcares, ácidos orgánicos, aceites, etc.) del material de maíz de partida, mejorando así la recuperación del aislado de proteína de maíz, como se describe con más detalle a continuación.

En referencia a la Figura 1, se muestra un ejemplo de proceso de lavado con disolvente en donde se utiliza etanol como disolvente (se entenderá, sin embargo, que el proceso sigue siendo el mismo para un disolvente de isopropanol) y el material concentrado de proteína de maíz de partida se introduce en forma de polvo compacto húmedo desalmidonado. Como se ilustra, se mezclan aproximadamente 250 gramos (g) de un concentrado de proteína de maíz desalmidonado con un 50 % de humedad con etanol al 100 % (aproximadamente 120 g de sólidos en total). Se entenderá que, debido al contenido de humedad de aproximadamente el 50 % en el concentrado de proteína de maíz desalmidonado, se utiliza etanol al 100 % para equilibrar el agua en el primer tanque de mezcla y conseguir un disolvente con un contenido de etanol del 90 % en peso. La mezcla permanece en el tanque de mezcla durante aproximadamente 15 minutos y, a continuación, se envía a un embudo Buchner para filtrar el disolvente que no contiene componentes proteicos y mantener la corriente enriquecida en proteínas. Se entenderá que, si bien se ilustra una extracción en tanque de agitación discontinua, dicha extracción también puede llevarse a cabo mediante un reactor de tanque de agitación continuo o mediante extracción por percolación o inmersión. También debe entenderse que, aunque en un aspecto de este proceso se utiliza filtración, pueden emplearse otras técnicas de separación, como centrifugación o decantación, para lograr la separación del disolvente que no contiene componentes proteicos de la corriente enriquecida en proteínas. Se entenderá que el concentrado de proteína de maíz desalmidonado puede contener un 30-60 % de humedad y la cantidad de etanol introducida se ajustaría en consecuencia para alcanzar la concentración de etanol deseada en el tanque de extracción. Esta corriente enriquecida en proteínas se introduce entonces en 1200 g de un disolvente que contiene etanol al 90 % en peso y se mezcla en un tanque mezclador durante otros 15 minutos antes de que el disolvente que no contiene proteínas se elimine de la corriente enriquecida en proteínas una vez más mediante filtración. Esta etapa de lavado con disolvente se repite una vez más antes de que la corriente enriquecida en proteínas se seque al aire durante aproximadamente 60 minutos y, posteriormente, se seque en un horno de convección a aproximadamente 65 °C durante aproximadamente 60 a 120 minutos antes de recuperar el producto de aislado de proteína de maíz. En el proceso se realizan un mínimo de tres etapas de lavado con disolvente a esta relación disolvente/sólidos para obtener un producto de aislado de proteína de maíz. Para reducir la cantidad de disolvente fresco utilizado en el proceso, éste puede funcionar como extracción en contracorriente.

Producto de aislado de proteína de maíz

El proceso de lavado con disolventes descrito anteriormente concentra la proteína de maíz mediante la eliminación de otros componentes no proteicos. En particular, el proceso descrito en la presente memoria produce un producto aislado de proteína de maíz que comprende al menos un 85 % en peso, al menos un 86 % en peso, al menos un 87 % en peso, al menos un 88 % en peso, al menos un 89 % en peso, al menos un 90 % en peso, al menos un 91 % en peso o al menos un 92 % en peso de proteína de maíz en base seca (bs). A modo de ejemplo no limitativo, el producto de aislado de proteína de maíz puede estar en un intervalo de aproximadamente el 85 al 98 % en peso, aproximadamente el 86 al 98 % en peso, aproximadamente el 87 al 98 % en peso, aproximadamente el 88 al 98 % en peso, aproximadamente el 89 al 98 % en peso, aproximadamente el 90 al 98 % en peso, aproximadamente el 91 al 98 % en peso, o aproximadamente el 92 al 98 % en peso, de proteína de maíz en base seca. En otros aspectos ilustrativos, el producto aislado de proteína de maíz puede variar de aproximadamente el 88 al 96 % en peso, de aproximadamente el 89 al 96 % en peso, de aproximadamente el 90 al 96 % en peso, de aproximadamente el 91 al 96 % en peso, de aproximadamente el 92 al 96 % en peso, de aproximadamente el 88 al 95 % en peso, de aproximadamente el 88 al 94 % en peso, de aproximadamente el 88 al 93 % en peso, de aproximadamente el 88 al 92 % en peso, de aproximadamente el 88 al 91 % en peso o de aproximadamente el 88 al 90 % en peso de proteína de maíz en base seca. Por ejemplo, en al menos ciertos aspectos preferidos, el producto de aislado de proteína de maíz puede variar de aproximadamente el 87 al 92 % en peso, tal como de aproximadamente el 88 al 92 % en peso, de aproximadamente el 89 al 92 % en peso, o de aproximadamente el 90 al 92 % en peso, de proteína de maíz en base seca.

El proceso descrito también elimina los contaminantes de micotoxinas, concretamente la aflatoxina. Se sabe que la aflatoxina y la zearalenona se unen a la matriz proteica del maíz. El disolvente miscible en agua tiene un impacto significativo en la reducción de los niveles de micotoxinas. El aislado de proteína de maíz tiene un nivel de aflatoxina inferior a 2,0 partes por mil millones (ppb), inferior a aproximadamente 1,5 ppb, inferior a aproximadamente 1 ppb, inferior a aproximadamente 0,5 ppb, o ninguna presencia detectable de aflatoxina; un nivel de zearalenona inferior a aproximadamente 200 ppb, inferior a aproximadamente 150 ppb, inferior a 100 ppb, inferior a 50 ppb, inferior a 10 ppb, inferior a 5 ppb, inferior a aproximadamente 1 ppb, inferior a aproximadamente 0,5 ppb, inferior a 0,1 ppb, o ninguna presencia detectable de zearalenona; un nivel de desoxinivalenol inferior a 1 parte por millón (ppm), inferior a aproximadamente 0,5 ppm, inferior a aproximadamente 0,1 ppm, o ninguna presencia detectable de desoxinivalenol; y un nivel de fumonisina inferior a aproximadamente 4 ppm, inferior a aproximadamente 3 ppm, inferior a aproximadamente 2 ppm, inferior a aproximadamente 1 ppm, inferior a aproximadamente 0,5 ppm, o ninguna presencia detectable de fumonisina; y mezclas de los mismos.

El aceite es otro componente no proteínico que se encuentra en el material de partida de maíz desalmidonado. El proceso descrito en la presente memoria disminuye el contenido de aceite de más del 4 % en peso (bs) en el material inicial de gluten de maíz desalmidonado a menos del 1 % en peso (bs), menos del 0,5 % en peso (bs), menos del 0,1 % en peso (bs), o ninguna presencia detectable de aceite, en el producto de aislado de proteína de maíz. El aceite extraído del material inicial de gluten de maíz desalmidonado puede ser de hasta aproximadamente el 100 %, tal como, a modo de ejemplo, de aproximadamente el 40 al 100 %, de aproximadamente el 50 al 100 %, de aproximadamente el 60 al 100 %, de aproximadamente el 70 al 100 %, de aproximadamente el 80 al 100 %, de aproximadamente el 90 al 100 %, o de aproximadamente el 95 al 100 %, de la concentración inicial.

Los hidratos de carbono solubles pueden solubilizarse con disolventes miscibles en agua seleccionados que contengan agua. La concentración total de carbohidratos solubles en el aislado de proteína de maíz puede reducirse a aproximadamente 40 gramos/kilogramo (g/kg) o menos, aproximadamente 30 g/kg o menos, aproximadamente 25 g/kg o menos, aproximadamente 20 g/kg o menos, o aproximadamente 10 g/kg o menos. Los hidratos de carbono solubles están compuestos de glucosa, fructosa, maltosa, maltotriosa y/o una serie de polímeros de glucosa solubles que comprenden cuatro o más unidades de glucosa unidas con enlaces alfa 1,4-glicosídicos (también conocidos como hidratos de carbono DP4+). En algunos aspectos, los hidratos de carbono DP4+ comprenden al menos aproximadamente el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 80 % o al menos el 85 % de la concentración total de hidratos de carbono solubles. Los hidratos de carbono solubles eliminados del material inicial de gluten de maíz desalmidonado pueden ser de al menos el 5 %, o al menos el 10 %, con determinados disolventes. En otros aspectos ilustrativos, los hidratos de carbono solubles (principalmente azúcares pequeños, por ejemplo, fructosa, glucosa, maltosa y maltotriosa) eliminados del material inicial de gluten de maíz desalmidonado pueden variar de aproximadamente el 5 al 95 %, tal como de aproximadamente el 5 al 90 %, de aproximadamente el 5 al 80 %, de aproximadamente el 5 al 70 %, de aproximadamente el 5 al 60 %, de aproximadamente el 5 al 50 %, de aproximadamente el 5 al 40 %, de aproximadamente el 5 al 30 %, de aproximadamente el 5 al 20 %, o de aproximadamente el 5 al 10 %. En aun otros aspectos ilustrativos, los hidratos de carbono solubles eliminados del material inicial de gluten de maíz desalmidonado pueden variar de aproximadamente el 10 al 65 %, de aproximadamente el 10 al 60 %, de aproximadamente el 10 al 55 %, de aproximadamente el 10 al 50 %, de aproximadamente el 10 al 40 %, de aproximadamente el 10 al 30 % o de aproximadamente el 10 al 20 %.

Determinados disolventes miscibles en agua en determinadas proporciones de disolvente y agua pueden extraer determinados ácidos orgánicos. Como se describe en la presente memoria, los ácidos orgánicos incluyen ácido cítrico, ácido succínico, lactato, acetato, glicerol y propionato. El remojo del maíz da lugar a una variedad de ácidos orgánicos y algunos permanecen en el material de gluten de maíz de partida para este proceso. La concentración residual de ácido orgánico total (es decir, el total de ácido cítrico, ácido succínico, lactato, acetato, glicerol y/o propionato) en el producto de aislado de proteína de maíz tras la extracción con disolventes puede encontrarse en el intervalo de aproximadamente 4,25 g/kg o menos, 4,0 g/kg o menos, aproximadamente 3,5 g/kg o menos, aproximadamente 3,0 g/kg o menos,

aproximadamente 2,5 g/kg o menos, aproximadamente 2,0 g/kg o menos, aproximadamente 1,5 g/kg o menos, o aproximadamente 1,0 g/kg o menos, o aproximadamente 0,5 g/kg o menos. En otros aspectos ilustrativos, la concentración de ácido orgánico total residual en el producto aislado de proteína de maíz tras la extracción con disolventes puede variar de aproximadamente 0,5 a 4,25 g/kg, de aproximadamente 0,5 a 3,5 g/kg, de aproximadamente 0,5 a 3,0 g/kg, de aproximadamente 0,5 a 2,5 g/kg o de aproximadamente 0,5 a 2,0 g/kg. En al menos ciertos aspectos preferidos, la concentración de ácido orgánico total residual en el producto de aislado de proteína de maíz tras la extracción con disolvente puede variar de aproximadamente 0,7 a 4,25 g/kg, o de aproximadamente 0,7 a 3,5 g/kg, o de aproximadamente 0,7 a 2,6 g/kg. El total de ácidos orgánicos eliminados del material inicial de gluten de maíz desalmidonado puede ser de al menos el 30 %. En aun otros aspectos ilustrativos, el total de ácidos orgánicos eliminados del material inicial de gluten de maíz desalmidonado puede variar de aproximadamente el 40 al 100 %, tal como de aproximadamente el 50 al 100 %, de aproximadamente el 60 al 100 % o de aproximadamente el 70 al 100 %. En aun otros aspectos ilustrativos, el total de ácidos orgánicos eliminados del material inicial de gluten de maíz desalmidonado puede variar de aproximadamente el 40 al 90 %, tal como de aproximadamente el 50 al 90 %, de aproximadamente el 40 al 80 %, de aproximadamente el 50 al 70 %, de aproximadamente el 40 al 70 % o de aproximadamente el 60 al 70 %.

El material de maíz de partida puede ser de color amarillo anaranjado porque la mayoría de los pigmentos del maíz (luteínas, zeaxantinas, criptoxantinas y carotenos) se concentran en el flujo de proteínas. Se sabe que los pigmentos del maíz son liposolubles y tienen gran afinidad para unirse a la proteína zeína. Las xantofilas (luteínas, zeaxantinas y criptoxantinas) constituyen hasta el 94 % de las cantidades totales de pigmentos del material de gluten de maíz de partida. Este color es indeseable para la mayoría de las aplicaciones alimentarias. En consecuencia, la etapa de lavado con disolvente descrita en la presente memoria elimina una cantidad sustancial del color y proporciona un producto de aislado de proteína de maíz que tiene un valor de color "a*" en un intervalo de aproximadamente -0,5 a 0,5, de aproximadamente -0,4 a 0,5, de aproximadamente -0,3 a 0,5, de aproximadamente -0,2 a 0,5 o de aproximadamente -0,1 a 0,5. En otros aspectos ilustrativos, el valor de color "a*" puede estar en un intervalo de aproximadamente -0,5 a 0,3, de aproximadamente -0,4 a aproximadamente 0,3, de aproximadamente -0,3 a 0,3, de aproximadamente -0,2 a 0,3, o de aproximadamente -0,1 a 0,3. Por ejemplo, en al menos ciertos aspectos preferidos, el valor de "a*" puede variar de aproximadamente -0,5 a -0,1, o de aproximadamente -0,5 a -0,2. Además, el producto de aislado de proteína de maíz puede tener un valor de color "b*" en el intervalo de aproximadamente 10 a 25, de aproximadamente 10 a aproximadamente 22 o de aproximadamente 10 a 20. Por ejemplo, en al menos ciertos aspectos preferidos, el valor "b*" puede variar de aproximadamente 10 a 16, de aproximadamente 10 a 15, de aproximadamente 10 a 14, o de aproximadamente 10 a 13. Además, el producto de aislado de proteína de maíz puede tener un valor de color "L*" que varía de aproximadamente 88 a 95, de aproximadamente 89 a 95 o de aproximadamente 90 a 95. Por ejemplo, en al menos ciertos aspectos preferidos, el valor de color "L*" puede variar de aproximadamente 88 a 92, de aproximadamente 89 a 92 o de aproximadamente 90 a 92. Los valores de color indicados en la presente memoria corresponden a un producto de aislado de proteína de maíz de aspecto blanquecino.

Ejemplos

Procedimiento experimental y métodos analíticos

El gluten de maíz desalmidonado en forma de polvo compacto húmedo, preparado según la patente estadounidense US-9,226,515, se recogió de un tambor de deshidratación de filtros después de la licuefacción y el aclarado, se enfrió, se separó en porciones en bolsas de plástico y se congeló hasta su uso. La humedad del polvo compacto húmedo era del 53,7 %.

El gluten de maíz desalmidonado, preparado según la patente estadounidense US-9,226,515 y recogido como se ha descrito anteriormente, se liofilizó durante un periodo de cinco días para obtener un producto "seco" que contenía un 2,2 % de humedad. Esto se conservó a temperatura ambiente.

Los disolventes hexano (BDH, 98,5 %), acetato de etilo (ACROS, 99,5 %) e isopropanol (Omnisolve y JT Baker, 99,5 %) utilizados eran de calidad analítica, mientras que el disolvente etanol (puro, Brenntag) era de calidad alimentaria.

En los experimentos se utilizó el siguiente procedimiento cuando el polvo compacto húmedo de gluten de maíz desalmidonado era el material de partida (ilustrado también en la Figura 1). Se suspendieron 250 g de polvo compacto húmedo de gluten de maíz desalmidonado en 1200 g de disolvente. El polvo compacto tenía aproximadamente un 53,7 % de humedad, por lo que los sólidos iniciales eran de 115 a 116 g. Tras una breve dispersión con una batidora de inmersión, la suspensión se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente (21-24 °C). Los sólidos se recogieron filtrando la suspensión a través de papel VWR 417 (18,5 centímetros (cm)) en un embudo Buchner. Los sólidos se resuspendieron en 1200 g de disolvente fresco (10 % p/p de agua con 90 % p/p del disolvente indicado) y se procesaron como se ha indicado anteriormente otras dos veces. Por consiguiente, el material final se extrajo 3 veces para una relación total disolvente/sólidos de 30 (sin tener en cuenta el disolvente retenido en el polvo compacto final). La muestra se secó al aire en la campana durante aproximadamente 90 minutos a temperatura ambiente y, a continuación, se secó a 65 °C durante aproximadamente 75 minutos. Esta preparación demuestra el efecto del disolvente acuoso en la composición final.

Los experimentos utilizaron el siguiente procedimiento cuando el polvo compacto de gluten de maíz desalmidonado liofilizado (FD) era el material de partida (también ilustrado en la Figura 2). Se midieron 125 g de polvo compacto liofilizado de gluten de maíz desalmidonado (humedad aproximada = 2,2 %) y se dispersaron en 1200 g de disolvente con una batidora de

inmersión. La suspensión se agitó durante 15 minutos antes de recoger los sólidos filtrando la suspensión a través de papel VWR 417 (18,5 cm) en un embudo Buchner. Los sólidos se volvieron a suspender en 1200 g de disolvente fresco y se procesaron como se ha indicado dos veces más. Por consiguiente, el material final se extrajo 3 veces para una relación total disolvente/sólidos de aproximadamente 30 (sin tener en cuenta el disolvente retenido en el polvo compacto final). La muestra se secó al aire en la campana durante aproximadamente 90 minutos y, a continuación, se secó a 65 °C durante aproximadamente 75 minutos. Esta preparación demuestra el efecto del disolvente anhidro en la composición final.

La tabla 1 muestra cuatro disolventes en condiciones anhidras y acuosas en el lavado final con disolvente (y asume que el disolvente anhidro elimina el agua “libre” en los lavados anteriores). Las muestras n.º 4 y n.º 6 entran dentro del ámbito de las reivindicaciones, mientras que las muestras n.º 1, n.º 2, n.º 3, n.º 5, n.º 7 y n.º 8 no entran dentro del ámbito de las reivindicaciones.

Tabla 1

Muestra	Material de partida	Disolvente final
Muestra n.º 1	Polvo compacto húmedo de gluten de maíz desalmidonado	90 % en peso de hexano
Muestra n.º 2	Polvo compacto de gluten de maíz desalmidonado FD	100 % en peso de hexano
Muestra n.º 3	Polvo compacto de gluten de maíz desalmidonado FD	100 % en peso de etanol
Muestra n.º 4	Polvo compacto húmedo de gluten de maíz desalmidonado	90 % en peso de etanol
Muestra n.º 5	Polvo compacto húmedo de gluten de maíz desalmidonado	90 % en peso de acetato de etilo
Muestra n.º 6	Polvo compacto húmedo de gluten de maíz desalmidonado	90 % en peso de isopropanol
Muestra n.º 7	Polvo compacto de gluten de maíz desalmidonado FD	100 % en peso de isopropanol
Muestra n.º 8	Polvo compacto de gluten de maíz desalmidonado FD	100 % en peso de acetato de etilo

Antes de cualquier análisis analítico, las muestras se molieron utilizando una unidad SPEX CertiPrep 6870 Freezer/Mill® para molienda criogénica (SPEX SamplePrep, Metuchen, NJ). Esta unidad es una trituradora de impacto refrigerada por nitrógeno líquido. La baja temperatura proporcionada por el nitrógeno líquido ayuda a minimizar la oxidación potencial de los lípidos resultante del proceso de molienda. Unos 50 g de cada muestra, fragilizada por el frío, se pulverizaron mediante el martilleo de un impactador de acero contra los tapones extremos de la cámara de muestras. El programa de muestra de la trituradora utilizó 5 ciclos de funcionamiento, con un preenfriamiento (T₃) de 1,0 minuto, un tiempo de funcionamiento (T₁) de 3,0 minutos y un tiempo de enfriamiento (T₂) de 1,0 minuto. La frecuencia de impacto era de 10 por segundo. A continuación, se recogió la muestra pulverizada y se almacenó en recipientes individuales adecuados hasta que se necesitó.

La proteína total en bruto se midió con un analizador TruMac® (Modelo 630-300-300, LECO Corporation, St. Joseph, MI) utilizando 6,25 como factor de conversión de nitrógeno a proteína. La grasa bruta total se extrajo con un SPEX-Mill 8000M (SPEX SamplePrep, Metuchen, NJ) y se pesó. El contenido de humedad se midió con un analizador de humedad de halógeno Mettler-Toledo (modelo HB43-S).

El color se midió con un colorímetro HunterLab (modelo CFE2, Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA). El instrumento lee en la escala Hunter L*, “a*”, “b*”, donde el valor L* es una indicación de la luminosidad del color (cuanto más alto es el valor, más claro/blanco es el producto). Hunter “a*” representa el espectro de color rojo-verde con un valor positivo que indica un tono rojo. Hunter “b*” representa el espectro amarillo-azul con un valor positivo que indica un tono amarillo. Todas las mediciones se realizaron con polvos secos.

Los hidratos de carbono solubles y los ácidos orgánicos se midieron utilizando un sistema de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), en donde la temperatura de la columna era de 60 °C; el caudal fue de 0,6 ml/min; el tamaño del volumen de muestra fue de 20 µl/inyección; el disolvente era H₂SO₄ 0,01 N; y el tiempo de elución fue de 25 minutos en total. Se mezclaron 2 g del producto seco final con 20 g de agua desionizada Nanopure® en una batidora Waring a 11.000 rpm durante 1 minuto, seguido de una etapa de centrifugación a 4.000 rpm durante 5 minutos. A continuación, el sobrenadante se filtró a través de un filtro de jeringa de 0,45 µm. Este filtrado se inyectó en la columna de HPLC (columna preempaquetada HPX-87 H disponible de Bio-Rad Laboratory) y se comparó con una solución patrón.

Las pruebas de micotoxinas, incluidas las toxinas aflatoxina (AFLA), desoxinivalenol (DON), fumonisina (FUM) y zearalenona (ZEA), se realizaron mediante el método HPLC con detección por fluorescencia. Se utilizó la norma AOAC 994.08 para analizar la AFLA; JAOAC, Vol. 88, No. 4, 2005, se utilizó para analizar el DON; Se utilizó la norma AOAC 2001.04 para analizar la FUM; y JAOAC, Vol. 88, n.º 6, 2005, se utilizó para probar la ZEA.

El sulfito libre se midió por el método Monier-Williams AOAC 990.28. Toda referencia al “sulfito” descrito en la presente memoria significa sulfito libre.

Ejemplo 1: Resultados experimentales

El procedimiento o proceso experimental descrito en los párrafos [00020], [00021], [00022] y [00024] dio como resultado la concentración de la proteína mediante la eliminación de otros componentes, como aceite, carbohidratos, ácidos orgánicos y micotoxinas. Debe entenderse que, aunque los disolventes que contienen etanol e isopropanol no fueron necesariamente los más eficaces para eliminar cada uno de los aceites, hidratos de carbono, ácidos orgánicos y micotoxinas (véanse las tablas 3-6), a la hora de equilibrar el éxito de la purificación global, tanto el etanol al 90 % en peso como el isopropanol al 90 % en peso fueron sorprendentemente los más eficaces.

La tabla 2 muestra que diferentes disolventes a diferentes concentraciones tuvieron un efecto significativo en la concentración de proteína, con un 90 % en peso de etanol y un 90 % en peso de disolventes de isopropanol dando como resultado la mayor concentración de proteína en base seca (bs). El hexano al 100 % en peso, el etanol al 100 % en peso, el isopropanol al 100 % en peso y el acetato de etilo al 100 % en peso también fueron eficaces para concentrar la proteína (bs), así como el acetato de etilo al 90 % en peso. Se entenderá que puede haber otros disolventes miscibles en agua que pueden ser igual de eficaces para concentrar dicha proteína (bs).

Tabla 2 - Mejora de las proteínas

		Proteína
Código de la muestra	Disolvente final	% en bs
Muestra n.º 1	90 % en peso de hexano	85,2
Muestra n.º 2	100 % en peso de hexano	89,4
Muestra n.º 3	100 % en peso de etanol	92,0
Muestra n.º 4	90 % en peso de etanol	95,5
Muestra n.º 5	90 % en peso de acetato de etilo	88,5
Muestra n.º 6	90 % en peso de isopropanol	92,7
Muestra n.º 7	100 % en peso de isopropanol	89,6
Muestra n.º 8	100 % en peso de acetato de etilo	90,1
Gluten de maíz desalmidonado FD (materia prima)	Sin tratar	85,1

El proceso de lavado con disolventes eliminó los componentes no proteicos, como las micotoxinas. Los diferentes disolventes tuvieron un efecto significativo en la concentración de micotoxinas (tabla 3). Algunos disolventes no extrajeron ninguna micotoxina, mientras que otros fueron parcialmente capaces de eliminar estos compuestos. Los mejores resultados se obtuvieron cuando la concentración de disolvente era de aproximadamente el 90 % en peso de componente orgánico miscible en agua y el 10 % en peso de agua (en particular, etanol, isopropanol y acetato de etilo). Por ejemplo, el etanol al 90 % en peso eliminó todos los contaminantes de aflatoxina y zearalenona, y aproximadamente el 75 % de la fumonisina; el isopropanol al 90 % en peso eliminó todos los contaminantes de aflatoxina y zearalenona, y aproximadamente el 30 % de la fumonisina; y el acetato de etilo al 90 % en peso eliminó todas las aflatoxinas y aproximadamente el 70 % de los contaminantes de zearalenona. El disolvente etanol al 100 % en peso también fue eficaz para eliminar algunas micotoxinas, aproximadamente el 50 % de la aflatoxina y aproximadamente el 75 % de contaminantes de zearalenona.

Tabla 3 - Eliminación de micotoxinas

		Aflatoxina	Zearalenona	Desoxinivalenol	Fumonisin
Código de la muestra	Disolvente final	(ppb)	(ppb)	(ppm)	(ppm)
Muestra n.º 1	90 % en peso de hexano	2,2	253	0,0	3,9
Muestra n.º 2	100 % en peso de hexano	2,4	279	0,0	5,4
Muestra n.º 3	100 % en peso de etanol	1,0	54	0,0	4,7
Muestra n.º 4	90 % en peso de etanol	0,0	0,0	0,0	1,0
Muestra n.º 5	90 % en peso de acetato de etilo	0,0	69	0,0	4,4
Muestra n.º 6	90 % en peso de isopropanol	0,0	0,0	0,0	3,0

		Aflatoxina	Zearalenona	Desoxinivalenol	Fumonisin
Código de la muestra	Disolvente final	(ppb)	(ppb)	(ppm)	(ppm)
Muestra n.º 7	100 % en peso de isopropanol	2,4	259	0,0	4,5
Muestra n.º 8	100 % en peso de acetato de etilo	2,2	276	0,0	5,2
Gluten de maíz desalmidonado FD (materia prima)	Sin tratar	2,1	252	0,0	4,4

Gran parte del aumento de la concentración de proteínas puede atribuirse a la eliminación del aceite. El efecto de varios disolventes en la eliminación del aceite se muestra en la tabla 4. Todos los disolventes probados eliminaron el aceite, algunos con más eficacia que otros. El proceso de lavado con disolventes utilizando etanol al 90 % en peso, isopropanol al 90 % en peso, etanol al 100 % en peso, isopropanol al 100 % en peso, acetato de etilo al 100 % o hexano al 100 %, o mezclas de los mismos, eliminó eficazmente al menos el 90 % de aceite en el producto de aislado de proteína de maíz. El acetato de etilo al 90 % en peso (Muestra n.º 5) eliminó al menos o aproximadamente un 40 % de aceite del producto de aislado de proteína de maíz.

Tabla 4 - Eliminación de aceite

		Aceite
Código de la muestra	Disolvente final	% en bs
Muestra n.º 1	90 % en peso de hexano	4,29
Muestra n.º 2	100 % en peso de hexano	0,43
Muestra n.º 3	100 % en peso de etanol	0,16
Muestra n.º 4	90 % en peso de etanol	0,49
Muestra n.º 5	90 % en peso de acetato de etilo	1,42
Muestra n.º 6	90 % en peso de isopropanol	0,18
Muestra n.º 7	100 % en peso de isopropanol	0,47
Muestra n.º 8	100 % en peso de acetato de etilo	0,53
Gluten de maíz desalmidonado FD	Sin tratar	5,36
(Materia prima)		

El proceso de lavado con disolventes también eliminó los hidratos de carbono para aumentar el contenido de proteínas (tabla 5). Los carbohidratos son una clase de compuestos que cabe esperar que se disuelvan de forma diferente en disolventes de distinta polaridad y que, por tanto, tengan resultados diferentes en la pureza de las proteínas. La extracción con etanol al 90 % dio como resultado el menor residuo de carbohidratos solubles, con un residuo de carbohidratos de aproximadamente 21 g/kg del producto de aislado de proteína de maíz (en otras palabras, se elimina aproximadamente el 52 % de carbohidratos del material de partida cuando se utiliza etanol al 90 %). El acetato de etilo al 90 % y el isopropanol al 90 % fueron menos eficaces que el etanol al 90 %, aunque eliminaron alrededor del 30 % de carbohidratos del material de partida. Otros disolventes orgánicos acuosos no fueron muy eficaces para eliminar los sacáridos.

Tabla 5 - Eliminación de carbohidratos

		Carbohidratos solubles (g/kg)					
Código de la muestra	Disolvente final	DP4+	Maltotriosa	Maltosa	Glucosa	Fructosa	TOTAL
Muestra n.º 1	90 % en peso de hexano	18,8	5,4	6,3	8,7	4,6	43,8
Muestra n.º 2	100 % en peso de hexano	21,1	6,0	6,9	10,0	5,1	49,0
Muestra n.º 3	100 % en peso de etanol	22,4	5,4	5,2	4,7	2,5	40,3
Muestra n.º 4	90 % en peso de etanol	17,4	0,0	1,3	1,1	0,8	20,6

Código de la muestra	Disolvente final	Carbohidratos solubles (g/kg)					
		DP4+	Maltotriosa	Maltosa	Glucosa	Fructosa	TOTAL
Muestra n.º 5	90 % en peso de acetato de etilo	11,5	4,8	5,1	6,7	3,4	31,4
Muestra n.º 6	90 % en peso de isopropanol	22,3	3,6	2,7	2,4	1,4	32,3
Muestra n.º 7	100 % en peso de isopropanol	20,6	6,0	6,9	9,8	5,3	48,6
Muestra n.º 8	100 % en peso de acetato de etilo	20,6	6,0	7,0	9,7	5,5	48,8
Gluten de maíz desalmidonado FD (materia prima)	Sin tratar	19,0	5,5	6,4	9,1	5,2	45,2

Otra forma de aumentar la concentración de proteínas es eliminar los ácidos orgánicos, que también se disuelven en disolventes en función de la polaridad del disolvente. Los ácidos orgánicos analizados fueron ácido cítrico, ácido succínico, ácido láctico y ácido acético. La tabla 6 muestra la eliminación de ácidos orgánicos. La extracción con etanol al 90 % en peso dio como resultado el residuo de ácido orgánico total más bajo, de 3,5 g/kg (o aproximadamente un 70 % de eliminación). La extracción con un 90 % en peso de isopropanol dio como resultado un residuo de ácido orgánico total de 4,25 g/kg (o aproximadamente un 64 % de eliminación) y la extracción con un 100 % en peso de etanol dio como resultado un residuo de ácido orgánico total de 5,05 g/kg (o aproximadamente un 57 % de eliminación). Otros disolventes orgánicos acuosos no fueron tan eficaces para eliminar los ácidos orgánicos, aunque el uso de acetato de etilo al 90 % en peso dio como resultado un residuo total de ácido orgánico de 9,48 (o aproximadamente un 20 % de eliminación); el uso de un 90 % en peso de hexano dio como resultado un residuo de ácido orgánico total de 10,45 (o aproximadamente un 11 % de eliminación); y el uso de un 100 % en peso de hexano dio como resultado un residuo de ácido orgánico total de 11,04 (o aproximadamente un 6 % de eliminación).

Tabla 6 - Eliminación de ácidos orgánicos

Código de la muestra	Disolvente final	Ácidos orgánicos (g/kg)				
		Cítrico	Succínico	Lactato	Acetato	TOTAL
Muestra n.º 1	90 % en peso de hexano	1,62	0,98	7,34	0,51	10,45
Muestra n.º 2	100 % en peso de hexano	1,88	1,24	7,21	0,71	11,04
Muestra n.º 3	100 % en peso de etanol	1,84	0	3,21	0	5,05
Muestra n.º 4	90 % en peso de etanol	1,73	0,59	1,18	0	3,5
Muestra n.º 5	90 % en peso de acetato de etilo	1,4	0,8	4,27	3,01	9,48
Muestra n.º 6	90 % en peso de isopropanol	1,84	0,45	1,96	0	4,25
Muestra n.º 7	100 % en peso de isopropanol	2,22	2,51	7,54	1,56	13,83
Muestra n.º 8	100 % en peso de acetato de etilo	2,25	1,76	7,35	1,86	13,22
Gluten de maíz desalmidonado FD (materia prima)	Sin tratar	1,99	1,75	6,99	1,02	11,75

Una característica importante de un aislado de proteína de maíz de calidad alimentaria es el color. El proceso de lavado con disolvente elimina los pigmentos (normalmente de color amarillo anaranjado) del material de partida. La tabla 7 muestra el efecto de diferentes disolventes sobre el color, demostrándose una eliminación sustancial de pigmentos del material de partida con etanol al 90 % en peso e isopropanol al 90 % en peso. Estos disolventes tuvieron el mayor efecto en la eliminación del color amarillo y rojo de la proteína (de un valor a^* de 4,9 a 0,0 con etanol al 90 % en peso y a 0,3 con isopropanol al 90 % en peso); y de un valor b^* de 23,8 a 12,7 con un 90 % en peso de etanol y a 14,4 con un 90 % en peso de isopropanol). El etanol al 90 % en peso y el isopropanol al 90 % en peso presentaron los valores L^* más altos (cuanto más alto es el valor, más claro/blanco es el producto), lo que corresponde a muestras de color blanquecino. Los

demás disolventes, excepto el hexano al 90 % en peso, también fueron eficaces para eliminar los pigmentos del material de partida, aunque no tanto como el etanol al 90 % en peso y el isopropanol al 90 % en peso.

Tabla 7 – Color

Código de la muestra	Disolvente final	Color		
		L*	a*	b*
Muestra n.º 1	90 % en peso de hexano	84,8	5,9	40,7
Muestra n.º 2	100 % en peso de hexano	89,1	2,7	30,9
Muestra n.º 3	100 % en peso de etanol	91,4	1,0	20,1
Muestra n.º 4	90 % en peso de etanol	92,2	0,0	12,7
Muestra n.º 5	90 % en peso de acetato de etilo	79,5	6,7	39,2
Muestra n.º 6	90 % en peso de isopropanol	91,8	0,3	14,4
Muestra n.º 7	100 % en peso de isopropanol	89,8	2,4	26,1
Muestra n.º 8	100 % en peso de acetato de etilo	90,3	1,9	23,8
Gluten de maíz desalmidonado FD (materia prima)	Sin tratar	87,3	4,9	39,5

Ejemplo 2: Proceso que utiliza extracción y filtración discontinuas en tanque de agitación

La eficacia de un proceso depende de varios factores. Por ejemplo, cuantas más etapas requiera un proceso, mayor será el coste de capital para construirlo y mayor el coste de funcionamiento del equipo. Del mismo modo, un mayor número de etapas puede traducirse en tiempos de funcionamiento más largos, lo que se refleja en un mayor coste de producción expresado en rendimiento (kg/h). En este ejemplo que emplea la Muestra n.º 4, la extracción se completa en tres etapas de lavado utilizando un total de aproximadamente 38 l/kg de disolvente como se demuestra en la tabla 8.

Tabla 8 - Tanque de agitación discontinuo

Etapas	Disolvente	l/kg	Tiempo (min)
0	Arrastrar el agua del polvo compacto húmedo	1	0
1	Etanol al 100 %	12,7	25
2	Etanol al 90 % p/p	12,2	25
3	Etanol al 90 % p/p	12,2	25
	Volumen total de agua	1	
	Volumen total de etanol	37,1	
	Tiempo total		75

En un proceso industrial, el disolvente se recuperaría y reutilizaría, por lo que un menor volumen de disolvente y una mayor concentración de etanol en el disolvente conllevan un menor coste de recuperación.

Ejemplo 3: Proceso que utiliza extracción por inmersión y filtración

Se procesaron 20 kg de un polvo compacto inicial de gluten de maíz desalmidonado con un 55-60 % de humedad a través de una trituradora de doble rotor con un tamiz de 3,2 mm (0,125 pulgadas) para generar una partícula de tamaño uniforme para una extracción homogénea. El polvo compacto se alimentó a un extractor de inmersión Crown Iron Works Modelo IV utilizando un transportador de arrastre que cae a través de una válvula rotativa (para una mejor comprensión, se puede encontrar una ilustración del extractor de inmersión Crown Iron Works Modelo IV en el sitio web crowniron.com). El extractor incluía una serie de transportadores de arrastre inclinados dispuestos de forma que el extremo inferior del transportador quedaba sumergido en el disolvente de extracción y el extremo superior quedaba por encima del disolvente. El transportador llevaba los sólidos hacia delante de forma que el material quedaba inicialmente sumergido en disolvente y después el material salía del disolvente y el exceso de disolvente volvía a drenar en la corriente de disolvente. Al final del transportador, los sólidos caían sobre otro transportador con una disposición similar. El extractor modelo IV tenía seis etapas de extracción. El disolvente fresco se introdujo en el extremo de descarga y fluyó hacia el extremo de entrada y se descargó finalmente en un

punto anterior a la introducción de sólidos. Tras el contacto final con el disolvente, los sólidos se transportaron por una sección larga para permitir un drenaje más extenso antes de caer en un transportador para su transporte a la zona de eliminación del disolvente. Los sólidos se introdujeron en el sistema a 0,45 kg/min y el disolvente (100 % p/p) se introdujo a 1,8 kg/min (basado en un alimentador volumétrico) y el disolvente se mantuvo a 60 °C mediante intercambiadores de calor *in situ*. La proporción total de disolvente y sólidos fue de aproximadamente 4 y el tiempo total de contacto de aproximadamente 60 minutos. El agua del sistema de extracción se introdujo mediante una combinación de agua de arrastre del material de entrada y agua en el disolvente fresco. Cuando se utilizaba etanol como disolvente, la composición del disolvente de alimentación para entrar en contacto con el gluten de maíz desalmidonado extraído era de aproximadamente un 90 % de etanol y un 10 % de agua.

La eliminación del disolvente se produjo en un secador Bepex Solidaire que funcionaba con una temperatura superficial de aproximadamente 155-160 °C y una presión absoluta de aproximadamente 60 a 120 milibares (con un objetivo de aproximadamente 100 milibares). El producto resultante contenía aproximadamente un 90 % de sólidos. El material se molió en un molino de martillos para obtener un polvo fino y tenía la composición química que se detalla en la tabla 9.

Tabla 9 – Inmersión

Componente	Unidades	
Proteína	% en base seca	90,9
Grasa	% en base seca	0,0
Aflatoxina B1	Ppb	<1
Desoxinivalenol	Ppm	<0,1
Zearalenona	Ppb	<50
Color	L*	90,5
	a*	-0,39
	b*	11,9

Ejemplo 4

Utilizando el proceso descrito en el ejemplo 3, se realizaron varios ensayos para preparar muestras prototipo para su posterior análisis. Las concentraciones de proteína y aceite, y el color, en el material inicial de gluten de maíz desalmidonado (Emp-010815-2, Emp-032715-2) y en 23 muestras del producto de aislado de proteína de maíz se muestran en la tabla 10A. La tabla 10B y la tabla 10C muestran los análisis de carbohidratos solubles y ácidos orgánicos, respectivamente, para las mismas muestras.

Tabla 10A - Aumento de proteínas, eliminación de aceite y color

Id. de la muestra	Proteína	Aceite	Color		
	% bs	% bs	L*	a*	b*
Emp-010815-2	84,3	4,93	68,91	9,90	45,10
Emp-032715-2	81,4	7,10	66,55	14,87	60,99
CPI-P-012715-10	90,9	0,00	90,48	-0,39	11,85
CPI-P-020215-11	89,6	0,00	91,77	-0,54	10,47
CPI-P-020415-12	92,4	0,00	91,41	-0,49	12,02
CPI-P-020915-14	91,6	0,04	90,85	-0,46	12,21
CPI-P-021115-15	91,3	0,00	90,56	-0,52	12,41
CPI-P-021715-16	90,7	0,04	90,47	-0,28	13,16
CPI-P-021915-17	92,3	0,01	91,06	-0,37	12,96
CPI-P-030215-18	92,0	0,07	90,42	-0,35	13,26
CPI-P-030415-19	91,8	0,06	91,15	-0,39	12,99
CPI-P-030615-20	91,4	0,09	90,55	-0,27	13,25
CPI-P-030915-21	92,1	0,07	90,61	-0,44	10,71
CPI-P-031115-22	91,2	0,05	90,89	-0,5	10,31
CPI-P-031215-23	90,6	0,08	90,84	-0,4	11,44
CPI-P-031315-24	91,6	0,10	91,04	-0,46	11,71
CPI-P-032315-25	88,4	0,96	87,79	1,54	21,63

CPI-P-032415-26	90,6	0,33	90,18	-0,06	12,72
CPI-P-032515-27	90,5	0,24	90,43	-0,24	11,92
CPI-P-032615-28	92,4	0,15	90,18	-0,23	15,86
CPI-P-032715-29	91,9	0,00	90,70	-0,36	12,58
CPI-P-033015-30	91,1	0,00	91,42	-0,42	13,49
CPI-P-033115-31	93,6	0,00	91,62	-0,26	13,59
CPI-P-040115-32	93,0	0,06	91,62	-0,19	13,31
CPI-P-040215-33	90,4	0,03	91,46	-0,23	13,02
CPI promedio (n=23)	91,4	0,10	90,76	-0,27	12,91
CPI máximo	93,6	0,96	91,77	1,54	21,63
CPI mínimo	88,4	0,00	87,79	-0,54	10,31

La proteína del aislado de proteína de maíz se encontraba en el intervalo de aproximadamente el 88 al 94 % (bs), con una media del 91,4 % (bs); el aceite en el intervalo de aproximadamente el 0 al 1 % (bs) con una media del 0,1 % (bs), lo que corresponde a aproximadamente el 98 al 99 % de eliminación de aceite del material inicial de gluten de maíz desalmidonado; y un color “L*” en el intervalo de aproximadamente 88 a 92, con una media de 90,8; un color “a*” en el intervalo de aproximadamente -0,5 a 1,5 con una media de -0,3; un color “b*” en el intervalo de aproximadamente 10 a 22, con una media de 12,9.

5

Tabla 10B - Concentraciones de carbohidratos

Id. de la muestra	Carbohidratos solubles (CHO) (g por 1 kg de CPI en bs)					TOTAL
	DP3+	Maltotriosa	Maltosa	Glucosa	Fructosa	
Emp-010815-1	7,4	2,2	3,4	0,7	0,9	14,6
Emp-032715-2	8,1	1,2	0,6	0,5	0,0	10,4
CPI-P-012715-10	19,5	2,1	1,3	0,7	0,3	23,8
CPI-P-020215-11	24,0	1,6	1,0	0,7	0,0	27,3
CPI-P-020415-12	18,8	2,2	1,4	0,7	0,3	23,5
CPI-P-020915-14	15,5	2,0	1,2	0,3	0,1	19,2
CPI-P-021115-15	18,5	2,2	2,2	1,4	0,5	24,9
CPI-P-021715-16	21,0	2,5	1,6	0,8	0,5	26,4
CPI-P-021915-17	16,2	2,3	1,4	0,4	0,4	20,7
CPI-P-030215-18	17,8	1,9	1,1	0,5	0,2	21,5
CPI-P-030415-19	17,2	1,9	1,2	0,6	0,2	21,1
CPI-P-030615-20	20,6	2,0	1,1	0,5	0,3	24,4
CPI-P-030915-21	17,7	1,4	1,0	0,3	0,1	20,4
CPI-P-031115-22	11,3	1,3	0,9	0,5	0,1	14,1
CPI-P-031215-23	20,3	0,0	1,1	0,7	0,2	22,3
CPI-P-031315-24	19,2	1,3	0,9	0,6	0,1	22,2
CPI-P-032315-25	26,4	3,7	3,0	2,2	1,0	36,2
CPI-P-032415-26	16,2	2,2	1,6	0,9	0,2	21,1
CPI-P-032515-27	16,4	2,2	1,5	1,0	0,5	21,6
CPI-P-032615-28	16,2	2,0	1,2	0,5	0,1	20,0
CPI-P-032715-29	18,8	1,7	1,2	0,5	0,2	22,4
CPI-P-033015-30	12,5	1,0	0,6	0,3	0,0	14,3
CPI-P-033115-31	6,1	0,9	0,5	0,2	0,0	7,7
CPI-P-040115-32	7,7	0,7	0,3	0,4	0,0	9,2
CPI-P-040215-33	5,4	0,5	0,3	0,2	0,0	6,5
CPI promedio (n=23)	16,7	1,7	1,2	0,6	0,2	20,5
CPI máximo	26,2	3,7	3,0	2,2	1,0	36,2
CPI mínimo	5,4	0	0,3	0,2	0,0	6,5

Se cree que se eliminan los azúcares más pequeños. Los hidratos de carbono DP4+ son difíciles de eliminar y tienden a concentrarse en el producto de aislado de proteína de maíz, después de eliminar otros componentes no proteicos utilizando determinados disolventes miscibles en agua a determinadas concentraciones. Entre las 23 muestras de producto de aislado

10

de proteína de maíz, tres mostraron una eliminación de aproximadamente el 12 % a aproximadamente el 56 % de carbohidratos solubles totales a partir del material inicial de gluten de maíz desalmidonado en las condiciones descritas.

Tabla 10C – Eliminación de ácidos orgánicos.

	Ácidos orgánicos (g por 1kg de CPI en bs)						
	Ácido cítrico	Ácido succínico	Lactato	Glicerol	Acetato	Propionato	Total
Emp-010815-1	2,8	0,4	0,7	0,6	0,5	0,4	5,4
Emp-032715-2	1	0,0	0,7	0,0	1,9	0,8	4,4
CPI-P-012715-10	1,2	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	1,6
CPI-P-020215-11	1,3	0,0	0,2	0,0	0,0	0,1	1,6
CPI-P-020415-12	1,1	0,0	0,5	0,1	0,0	0,0	1,7
CPI-P-020915-14	1	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	1,3
CPI-P-021115-15	1,3	0,1	0,7	0,3	0,0	0,2	2,6
CPI-P 021715-16	1,4	0,0	0,4	0,3	0,0	0,0	2,1
CPI-P-021915-17	1,3	0,0	0,4	0,2	0,0	0,0	1,9
CPI-P-030215-18	0,9	0,0	0,2	0,1	0,0	0,0	1,2
CPI-P-030415-19	1	0,0	0,3	0,2	0,0	0,0	1,5
CPI-P-030615-20	1	0,0	0,3	0,2	0,0	0,0	1,5
CPI-P-030915-21	1,2	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	1,5
C PI-P-031115-22	1	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	1,2
CPI-P-031215-23	1,1	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	1,6
CPI-P-031315-24	1,2	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	1,8
CPI-P-032315-25	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5
CPI-P-032415-26	1,4	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	2,0
CPI-P-032515-27	1,2	0,0	0,4	0,2	0,0	0,0	1,8
CPI-P-032615-28	1	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	1,4
CPI-P-032715-29	1,1	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	1,4
CPI-P-033015-30	0,7	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,8
CPI-P-033115-31	0,6	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,7
CPI-P-040115-32	0,8	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	1,1
CPI-P-040215-33	0,6	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,8
CPI promedio	1,1	0,0	0,4	0,1	0,0	0,0	1,6
CPI máximo	1,5	0,1	0,7	0,3	0,0	0,2	2,6
CPI mínimo	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7

La mayoría de los ácidos orgánicos residuales eran ácido cítrico y ácido láctico. La concentración total de ácido orgánico residual en el producto de aislado de proteína de maíz se encontraba en el intervalo de aproximadamente 0,7 a 2,6 g/kg, con una media inferior a 2,0 g/kg (es decir, 0,2 % en peso (bs)). Se eliminaron de aproximadamente un 60 a un 70 % de ácidos orgánicos del material inicial de gluten de maíz desalmidonado.

Ejemplo 5

Se recogió un polvo compacto inicial de gluten de maíz desalmidonado en un filtro de vacío de tambor rotatorio con enjuague. La suspensión de gluten de maíz desalmidonado se introdujo en el tambor a una velocidad de 3,78 l/min (1,2 gal/min) a una densidad de aproximadamente 1,016 g/ml. El agua de aclarado, suplementada con peróxido de hidrógeno al 0,3 %, se aplicó a 0,45 l/min (0,12 gal/min). Una vez finalizada la deshidratación al vacío, el polvo compacto tratado se congeló hasta su uso posterior.

se procesaron 10 kg de un polvo compacto de gluten de maíz desalmidonado tratado con peróxido con un 60-65 % de humedad a través de una trituradora de doble rotor con un tamiz de 3,2 mm (0,125 pulgadas) para generar una partícula de tamaño uniforme para una extracción homogénea. El polvo compacto se alimentó a un extractor de inmersión Crown Iron Works Modelo IV utilizando un transportador de arrastre que cae a través de un tornillo de cruce y luego un volquete (para una mejor comprensión, se puede encontrar una ilustración del extractor de inmersión Crown Iron Works Modelo IV en el sitio web crowniron.com) en el extractor. El extractor incluía una serie de transportadores de arrastre inclinados dispuestos de forma que el extremo inferior del transportador quedaba sumergido en el disolvente de extracción y el extremo superior quedaba por encima del disolvente. El transportador llevaba los sólidos hacia delante de forma que el material quedaba inicialmente sumergido en disolvente y después el material salía del disolvente y el exceso de disolvente

volvía a drenar en la corriente de disolvente. Al final del transportador, los sólidos caían sobre otro transportador con una disposición similar. El extractor modelo IV tenía seis etapas de extracción. El disolvente fresco se introdujo en el extremo de descarga y fluyó hacia el extremo de entrada y se descargó finalmente en un punto anterior a la introducción de sólidos. Tras el contacto final con el disolvente, los sólidos se transportaron por una sección larga para permitir un drenaje más extenso antes de caer en un tornillo de cruce para su transporte a la zona de eliminación del disolvente. El disolvente se introdujo en el sistema a 0,109 kg/min y los sólidos a 0,027 kg/min (basado en un alimentador volumétrico) y el disolvente se mantuvo a 25 °C mediante intercambiadores de calor *in situ*. La proporción total de disolvente y sólidos fue de aproximadamente 4 y el tiempo total de contacto de aproximadamente 60 minutos. El agua del sistema de extracción se introdujo mediante una combinación de agua de arrastre del material de entrada y agua en el disolvente fresco. La composición del disolvente de alimentación en contacto con el gluten de maíz desalmidonado extraído era de aproximadamente un 90 % de etanol y un 10 % de agua. En consecuencia, la composición del disolvente varió en el extractor, pero la concentración final del disolvente fue de aproximadamente un 90 % de etanol.

La eliminación del disolvente se produjo en un secador Bepex Solidaire que funcionaba con una temperatura superficial de aproximadamente 155-160 °C y una presión absoluta de aproximadamente 270-330 milibares (con un objetivo de aproximadamente 300 milibares).

El producto resultante tenía aproximadamente un 89,0 % de proteínas (base seca). Además, el aceite era inferior al 1 % en base seca, el color del producto tenía un color “L*” igual a 90,3, un color “a*” igual a 0,2 y un color “b*” igual a 16,1. La concentración de sulfito libre fue de 104 mg/kg (bs) en comparación con una concentración de sulfito libre superior a 500 mg/kg (bs) del polvo compacto de gluten de maíz desalmidonado (material de partida).

Ejemplo 6

Se recogió un polvo compacto inicial de gluten de maíz desalmidonado en un filtro de vacío de tambor rotatorio con enjuague. La suspensión desalmidonada se introdujo en el tambor a 4,54 l/min (1,2 gal/min) a una densidad de aproximadamente 1,016 g/ml. El agua de aclarado, suplementada con peróxido de hidrógeno al 0,3 %, se aplicó a 0,45 l/min (0,12 gal/min). Una vez finalizada la deshidratación al vacío, el polvo compacto tratado se congeló hasta su uso posterior.

Se procesaron 10 kg de un polvo compacto de gluten de maíz desalmidonado tratado con peróxido con un 60-65 % de humedad a través de una trituradora de doble rotor con un tamiz de 3,2 mm (0,125 pulgadas) para generar una partícula de tamaño uniforme para una extracción homogénea. El polvo compacto se alimentó a un extractor de inmersión Crown Iron Works Modelo IV utilizando un transportador de arrastre que cae a través de un tornillo de cruce y luego un volquete (para una mejor comprensión, se puede encontrar una ilustración del extractor de inmersión Crown Iron Works Modelo IV en el sitio web crowniron.com) en el extractor. El extractor incluía una serie de transportadores de arrastre inclinados dispuestos de forma que el extremo inferior del transportador quedaba sumergido en el disolvente de extracción y el extremo superior quedaba por encima del disolvente. El transportador llevaba los sólidos hacia delante de forma que el material quedaba inicialmente sumergido en disolvente y después el material salía del disolvente y el exceso de disolvente volvía a drenar en la corriente de disolvente. Al final del transportador, los sólidos caían sobre otro transportador con una disposición similar. El extractor modelo IV tenía seis etapas de extracción. El disolvente fresco se introdujo en el extremo de descarga y fluyó hacia el extremo de entrada y se descargó finalmente en un punto anterior a la introducción de sólidos. Tras el contacto final con el disolvente, los sólidos se transportaron por una sección larga para permitir un drenaje más extenso antes de caer en un tornillo de cruce para su transporte a la zona de eliminación del disolvente. El disolvente se introdujo en el sistema a 0,218 kg/min y los sólidos a 0,027 kg/min (basado en un alimentador volumétrico) y el disolvente se mantuvo a 30 °C mediante intercambiadores de calor *in situ*. La proporción total de disolvente y sólidos fue de aproximadamente 8 y el tiempo total de contacto de aproximadamente 60 minutos. El agua del sistema de extracción se introdujo mediante una combinación de agua de arrastre del material de entrada y agua en el disolvente fresco. La composición del disolvente de alimentación en contacto con el gluten de maíz desalmidonado extraído era de aproximadamente un 93,6 % de etanol y un 6,4 % de agua. En consecuencia, la composición del disolvente varió en el extractor, pero la concentración final del disolvente fue de aproximadamente un 93,6 % de etanol.

La eliminación del disolvente se produjo en un secador Bepex Solidaire que funcionaba con una temperatura superficial de aproximadamente 155-160 °C y una presión absoluta de aproximadamente 270-330 milibares (con un objetivo de aproximadamente 300 milibares).

El producto resultante tenía aproximadamente un 89,0 % de proteínas (bs). Además, el aceite era inferior al 1 % (bs), el color del producto tenía un color “L*” de 90,3, un color “a*” de 0,2 y un color “b*” de 16,1. La concentración de sulfito libre fue de 104 mg/kg (bs) en comparación con una concentración de sulfito libre promedio de aproximadamente 530 mg/kg (bs) del polvo compacto de gluten de maíz desalmidonado (material de partida).

REIVINDICACIONES

1. Un aislado de proteína de maíz, que comprende:

- 5 a) al menos un 85 % en peso de proteína de maíz en base seca; y
b) menos del 1,5 % de aceite en base seca,

10 **caracterizado porque** el aislado de proteína de maíz tiene un valor de color "a*" que varía de -0,5 a 1,5, un valor de color "b*" que varía de 10 a 25 y un valor de color L* de al menos 88, medido con el método de medición del color definido en la descripción.

2. El aislado de proteína de maíz de la reivindicación 1, en donde la proteína de maíz varía del 87 al 98 % en peso en base seca, o del 87 al 92 % en peso en base seca.

15 3. El aislado de proteína de maíz de la reivindicación 1, en donde el valor de color L* varía de 88 a 95 o de 90 a 92.

4. El aislado de proteína de maíz de la reivindicación 1, en donde el valor de color "a*" varía de -0,3 a 0,3, o de -0,2 a 0,2.

20 5. El aislado de proteína de maíz de la reivindicación 1, en donde el valor de color "b*" varía de 10 a 20, o de 10 a 15.

6. El aislado de proteína de maíz de la reivindicación 1, en donde el aceite es menos del 1,0 % en peso en base seca, o menos del 0,5 % en peso, en base seca.

25 7. El aislado de proteína de maíz de la reivindicación 1, que tiene una concentración de carbohidratos solubles de 40 g/kg o menos, o de 25 g/kg o menos.

30 8. El aislado de proteína de maíz de la reivindicación 1, que tiene una concentración de ácido orgánico de 4,25 g/kg o menos, 3,5 g/kg o menos, o 2,0 g/kg o menos.

9. El aislado de proteína de maíz de la reivindicación 1, que tiene una concentración de aflatoxinas inferior a 1 ppb o inferior a 0,5 ppb.

35 10. El aislado de proteína de maíz de la reivindicación 1, que tiene una concentración de sulfito libre inferior a 150 ppm, inferior a 120 ppm o inferior a 100 ppm.

11. Un método de producción de un aislado de proteína de maíz, que comprende:

- 40 a) proporcionar un material de gluten de maíz desalmidonado; y
b) lavar el material de gluten de maíz desalmidonado con un disolvente que comprende agua y un disolvente orgánico miscible en agua para obtener un aislado de proteína de maíz que tiene al menos un 85 % en peso de proteína en base seca y menos de un 1,5 % de aceite en base seca, en donde el disolvente orgánico miscible en agua comprende etanol o isopropanol en una
45 concentración que varía del 75 al 95 % en peso y en donde el volumen del disolvente orgánico miscible en agua es de 3 a 40 litros por kilogramo de material de gluten de maíz desalmidonado que tiene un contenido de humedad de hasta el 65 % en peso,

50 **caracterizado porque** el aislado de proteína de maíz tiene un valor de color "a*" que varía de -0,5 a 1,5, un valor de color "b*" que varía de 10 a 25 y un valor de color L* de al menos 88, medido con el método de medición del color definido en la descripción.

12. El método de la reivindicación 11, en donde el material de gluten de maíz desalmidonado comprende sólidos de almidón insolubles residuales que varía del 0,1 al 3,0 % en peso en base seca, medidos según el método polarimétrico de Ewers conforme a la norma ISO 10520:1997.

13. El método de la reivindicación 11, en donde el disolvente miscible en agua está en una concentración que varía del 85 al 95 % en peso.

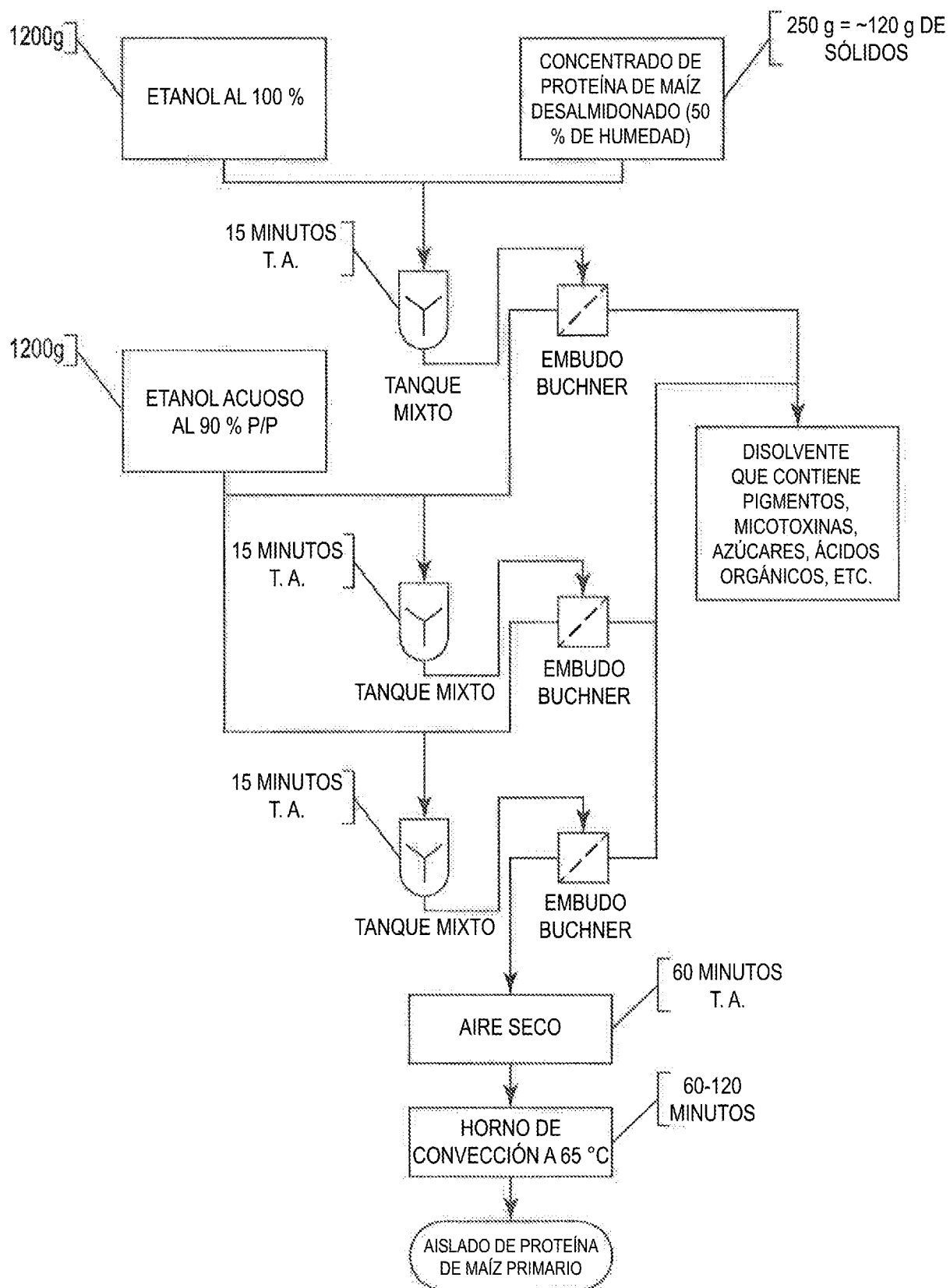


Figura 1

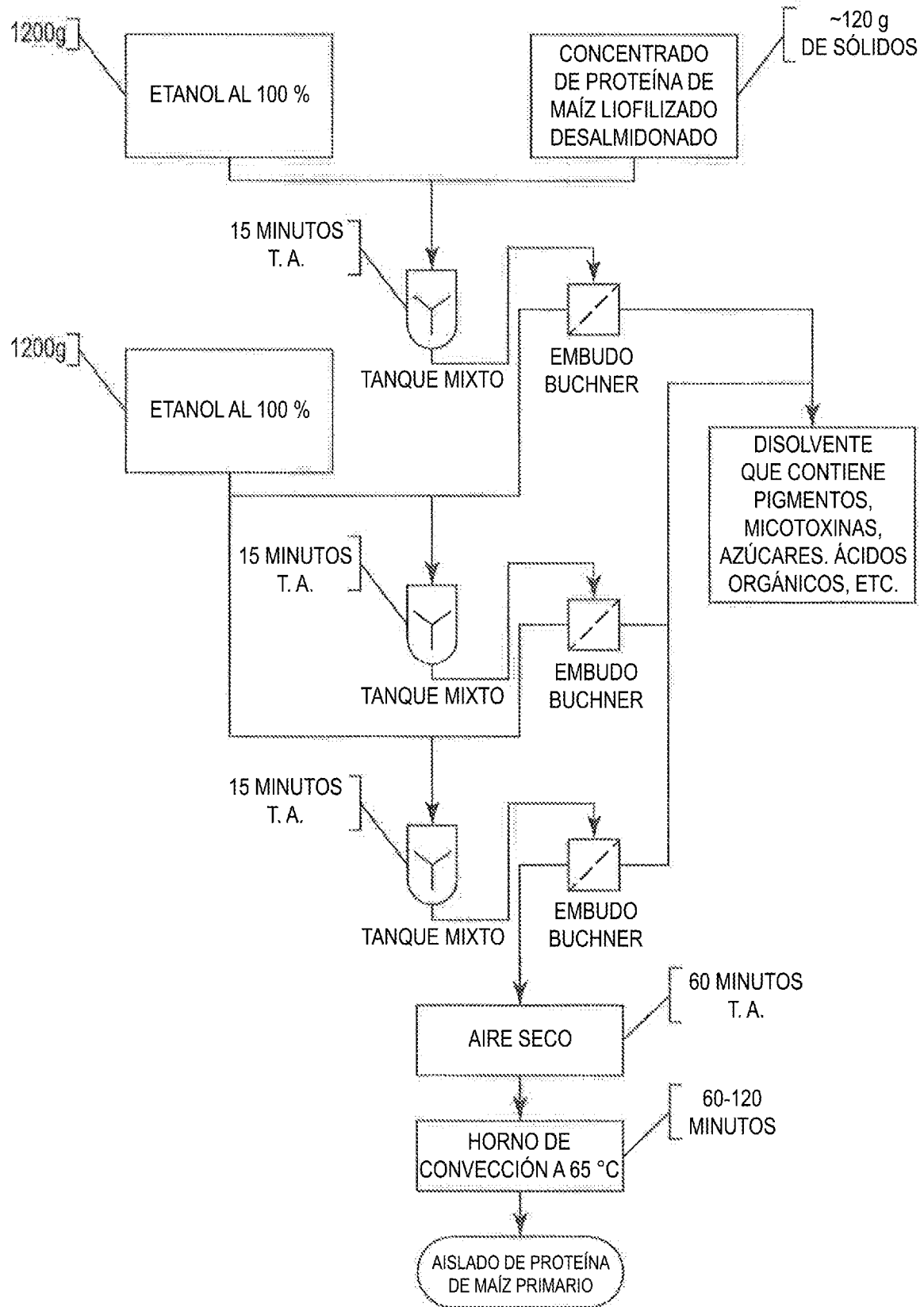


Figura 2