



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102612322 A

(43) 申请公布日 2012. 07. 25

(21) 申请号 201080032351. 0

A23J 3/16(2006. 01)

(22) 申请日 2010. 04. 23

(30) 优先权数据

61/213181 2009. 05. 14 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 01. 13

(86) PCT申请的申请数据

PCT/CA2010/000633 2010. 04. 23

(87) PCT申请的公布数据

W02010/130026 EN 2010. 11. 18

(71) 申请人 伯康营养科学 (MB) 公司

地址 加拿大马尼托巴

(72) 发明人 S·梅迪纳 K·I·塞加尔

B·E·格林 M·施维策尔

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 李进 郭文洁

(51) Int. Cl.

A23J 1/14(2006. 01)

权利要求书 3 页 说明书 13 页

(54) 发明名称

无热处理地生产卡诺拉蛋白产物
(“C200CaC”)

(57) 摘要

加工沉淀卡诺拉蛋白胶束团所得上清液以提供卡诺拉蛋白产物,所述卡诺拉蛋白产物基于干重基础具有约 60 至低于约 90 重量% (N×6. 25) 蛋白的蛋白含量,并可溶于酸性水环境。

1. 一种制备卡诺拉蛋白产物的方法,所述方法包括:

将钙盐、优选氯化钙加入沉淀卡诺拉蛋白胶束团所得上清液中提供电导率为约 5mS 至约 30mS,优选约 8 至约 10mS,以形成植酸钙沉淀,

从所得溶液中除去沉淀的植酸钙,以提供澄清溶液,

任选调节澄清溶液的 pH 为约 2.0 至约 4.0,优选约 2.9 至约 3.2,例如通过加入盐酸,

将任选经 pH 调节的澄清溶液浓缩至蛋白含量为至少约 50g/L,优选约 50 至约 500g/L,更优选约 100 至约 250g/L,以产生澄清的浓缩卡诺拉蛋白溶液,

任选渗滤澄清的浓缩卡诺拉蛋白溶液,例如使用大量 pH 3 或者天然 pH 的水,

任选进行脱色步骤,例如颗粒活性炭处理,和

干燥浓缩蛋白溶液以产生干燥卡诺拉蛋白产物,其中所述浓缩和 / 或任选渗滤步骤以下述方式进行,所述方式使得干燥卡诺拉蛋白产物基于干重基础含有约 60 至低于 90 重量% (N×6.25) 的蛋白。

2. 一种制备卡诺拉蛋白产物的方法,所述方法包括:

将沉淀卡诺拉蛋白胶束团所得上清液部分浓缩至浓度为约 50g/L 以下,

将钙盐、优选氯化钙加入部分浓缩的上清液中提供电导率为约 2mS 至约 30mS,优选约 4mS 至约 10mS,以从部分浓缩的上清液中沉淀植酸钙,

从所得溶液中除去沉淀的植酸钙以提供澄清溶液,

任选调节澄清溶液的 pH 为约 2.0 至约 4.0,优选约 2.9 至约 3.2,例如通过加入盐酸,

将任选经 pH 调节的澄清溶液浓缩至蛋白含量为至少约 50g/L,优选约 50 至约 500g/L,更优选约 100 至约 250g/L,以产生澄清的浓缩卡诺拉蛋白溶液,

任选渗滤澄清的浓缩卡诺拉蛋白溶液,例如使用大量 pH 3 的水,

任选进行脱色步骤,例如颗粒活性炭处理,和

干燥浓缩蛋白溶液以产生干燥卡诺拉蛋白产物,其中所述浓缩和 / 或任选渗滤步骤以下述方式进行,所述方式使得干燥卡诺拉蛋白产物基于干重基础含有约 60 至低于 90 重量% (N×6.25) 的蛋白。

3. 一种制备卡诺拉蛋白产物的方法,所述方法包括:

将沉淀卡诺拉蛋白胶束团所得上清液浓缩至蛋白含量为至少约 50g/L,优选约 50 至约 500g/L,更优选约 100 至约 250g/L,以产生浓缩的上清液,

将钙盐、优选氯化钙加入浓缩的上清液中提供电导率为约 2 至约 30mS,优选约 4 至约 10mS,以引起植酸钙的沉淀,

从所得溶液中除去植酸钙以提供澄清溶液,

任选调节澄清溶液的 pH 为约 2.0 至约 4.0,优选约 2.9 至约 3.2,例如通过加入盐酸,

任选渗滤澄清的任选经 pH 调节的溶液,例如使用大量 pH 3 的水,

任选进行脱色步骤,例如颗粒活性炭处理,和

干燥澄清的任选经 pH 调节的蛋白溶液以产生干燥卡诺拉蛋白产物,

其中所述浓缩和 / 或任选渗滤步骤以下述方式进行,所述方式使得干燥卡诺拉蛋白产物基于干重基础含有约 60 至低于 90 重量% (N×6.25) 的蛋白。

4. 一种制备卡诺拉蛋白产物的方法,所述方法包括:

将初始量的钙盐、优选氯化钙加入沉淀卡诺拉蛋白胶束团所得上清液中,提供电导率

为约 1 至约 3.5, 优选约 1 至约 2mS, 且不足以引起植酸钙的沉淀,

调节所得溶液的 pH 为约 2.0 至约 4.0, 优选约 2.9 至约 3.2, 例如通过加入盐酸, 以形成酸化溶液,

将酸化溶液部分浓缩至蛋白浓度为约 50g/L 以下,

加入另外量的钙盐、优选氯化钙, 以提供电导率为约 4mS 至约 30mS, 优选约 4 至约 10mS, 并引起沉淀形成,

从所得溶液中除去沉淀以提供澄清的经 pH 调节的溶液,

将澄清的经 pH 调节的溶液浓缩至蛋白含量为至少约 50g/L, 优选约 50 至约 500g/L, 更优选约 100 至约 250g/L, 以产生澄清的浓缩卡诺拉蛋白溶液,

任选渗滤澄清的卡诺拉蛋白溶液, 例如使用大量 pH 3 的水,

任选进行脱色步骤, 例如颗粒活性炭处理, 和

干燥浓缩蛋白溶液以产生干燥卡诺拉蛋白产物, 其中所述浓缩和 / 或任选渗滤步骤以下述方式进行, 所述方式使得干燥卡诺拉蛋白产物基于干重基础含有约 60 至低于 90 重量% (N×6.25) 的蛋白。

5. 一种制备卡诺拉蛋白产物的方法, 所述方法包括:

将钙盐、优选氯化钙加入沉淀卡诺拉蛋白胶束团所得上清液中, 提供电导率为约 5mS 至约 30mS, 优选约 8 至约 10mS, 以引起植酸钙从上清液中沉淀,

在不除去植酸钙沉淀的条件下调节所得溶液的 pH 为约 2.0 至约 4.0, 优选约 2.9 至约 3.2, 例如通过加入盐酸, 以溶解沉淀并形成澄清的经 pH 调节的溶液,

将澄清的经 pH 调节的溶液浓缩至蛋白含量为至少约 50g/L, 优选约 50 至约 500g/L, 更优选约 100 至约 250g/L, 以产生澄清的浓缩卡诺拉蛋白溶液,

任选渗滤澄清的浓缩卡诺拉蛋白溶液, 例如使用大量 pH 3 的水,

任选进行脱色步骤, 例如颗粒活性炭处理, 和

干燥浓缩蛋白溶液以产生干燥卡诺拉蛋白产物, 其中所述浓缩和 / 或任选渗滤步骤以下述方式进行, 所述方式使得干燥卡诺拉蛋白产物基于干重基础含有约 60 至低于 90 重量% (N×6.25) 的蛋白。

6. 一种制备卡诺拉蛋白产物的方法, 所述方法包括:

将沉淀卡诺拉蛋白胶束团所得上清液部分浓缩至浓度为约 50g/L 以下,

将钙盐、优选氯化钙加入部分浓缩的上清液中提供电导率为约 2mS 至约 30mS, 优选约 4mS 至约 10mS, 以从部分浓缩的上清液中沉淀植酸钙,

在不除去植酸钙沉淀的条件下调节所得溶液的 pH 为约 2.0 至约 4.0, 优选约 2.9 至约 3.2, 例如通过加入盐酸, 以溶解沉淀并形成澄清的经 pH 调节的溶液,

将经 pH 调节的澄清溶液浓缩至蛋白含量为至少约 50g/L, 优选约 50 至约 500g/L, 更优选约 100 至约 250g/L, 以产生澄清的浓缩卡诺拉蛋白溶液,

任选渗滤澄清的卡诺拉蛋白溶液, 例如使用大量 pH 3 的水,

任选进行脱色步骤, 例如颗粒活性炭处理, 和

干燥浓缩蛋白溶液以产生干燥卡诺拉蛋白产物, 其中所述浓缩和 / 或任选渗滤步骤以下述方式进行, 所述方式使得干燥卡诺拉蛋白产物基于干重基础含有约 60 至低于 90 重量% (N×6.25) 的蛋白。

7. 一种制备卡诺拉蛋白产物的方法,所述方法包括:

将沉淀卡诺拉蛋白胶束团所得上清液浓缩至蛋白含量为至少约 50g/L,优选约 50 至约 500g/L,更优选约 100 至约 250g/L,以产生浓缩的上清液,

将钙盐、优选氯化钙加入浓缩的上清液中提供电导率为约 2 至约 30mS,优选约 4 至约 10mS,以引起植酸钙的沉淀,

在不除去植酸钙沉淀的条件下调节所得溶液的 pH 为约 2.0 至约 4.0,优选约 2.9 至约 3.2,例如通过加入盐酸,以溶解沉淀并形成澄清的经 pH 调节的溶液,

任选渗滤澄清的经 pH 调节的溶液,例如使用大量 pH 3 的水,

任选进行脱色步骤,例如颗粒活性炭处理,和

干燥澄清的经 pH 调节的蛋白溶液以产生干燥卡诺拉蛋白产物,

其中所述浓缩和 / 或任选渗滤步骤以下述方式进行,所述方式使得干燥卡诺拉蛋白产物基于干重基础含有约 60 至低于 90 重量% (N×6.25) 的蛋白。

8. 一种卡诺拉蛋白产物,其通过权利要求 1-7 中任一项的方法生产。

9. 一种酸性溶液,其中溶解有权利要求 8 的卡诺拉蛋白产物。

无热处理地生产卡诺拉蛋白产物 (“C200CaC”)

[0001] 相关申请的引用

[0002] 本申请根据 35USC 119(e) 要求于 2009 年 5 月 14 日提交的美国临时专利申请第 61/213,181 号的优先权。

发明领域

[0003] 本发明涉及卡诺拉 (canola) 蛋白产物的生产。

[0004] 发明背景

[0005] 转让给其受让人且其公开内容通过引用结合到本文中的共同待审的于 2009 年 8 月 18 日提交的美国专利申请第 12/542,922 号 (7865-402), 描述了在宽的酸性 pH 值范围内有溶解性并在水介质中有澄清度的卡诺拉蛋白分离物的生产, 使得例如制备蛋白强化饮料 (尤其在酸性 pH 下) 成为可能, 饮料的澄清度不受加入卡诺拉蛋白分离物的损害。

[0006] 在前美国申请第 12/542,922 号中使用的步骤包括: 将氯化钙加入沉淀卡诺拉蛋白胶束团 (micellar mass) 所得上清液中以提供电导率为约 5mS 至约 30mS, 优选约 8 至约 10mS; 从所得溶液中除去沉淀的植酸盐物质以留下澄清溶液; 任选调节澄清溶液的 pH 为约 2.0 至约 4.0, 优选约 2.9 至约 3.2, 例如通过加入盐酸; 将任选经 pH 调节的澄清溶液浓缩至蛋白含量为约 50 至约 500g/L, 优选约 100 至约 250g/L, 产生澄清的浓缩卡诺拉蛋白溶液; 任选渗滤澄清的浓缩卡诺拉蛋白溶液, 例如使用大量 pH 3 的水; 任选进行脱色步骤, 例如颗粒活性炭处理; 和干燥浓缩溶液。

[0007] 该在前申请以卡诺拉蛋白分离物形式描述产物, 即一种基于干重基础含有至少 90 重量% (N×6.25) 的卡诺拉蛋白产物。

[0008] 卡诺拉也被称为油菜籽或者油菜 (oil seed rape)。

[0009] 发明概述

[0010] 现已发现, 如果前述 US 12/542,922 中描述的步骤以下述方式进行, 所述方式使得所得卡诺拉蛋白产物含有低于约 90 重量% (N×6.25) d. b. 蛋白, 例如至少约 60 重量% (N×6.25), 该浓度的产物被认为是浓缩物, 那么得到性能令人满意的卡诺拉蛋白产物。本文通过省略渗滤步骤或通过较早停止超滤步骤实现该结果, 使得在这些步骤期间除去较少量的杂质。

[0011] 依据本发明一个方面, 提供一种制备卡诺拉蛋白产物的方法, 所述方法包括:

[0012] 将钙盐 (优选氯化钙) 加入沉淀卡诺拉蛋白胶束团所得上清液中以提供电导率为约 5mS 至约 30mS, 优选约 8 至约 10mS, 以形成植酸钙沉淀,

[0013] 从所得溶液中除去沉淀的植酸钙以提供澄清溶液,

[0014] 任选调节澄清溶液的 pH 为约 2.0 至约 4.0, 优选约 2.9 至约 3.2, 例如通过加入盐酸,

[0015] 将任选经 pH 调节的澄清溶液浓缩至蛋白含量为至少约 50g/L, 优选约 50 至约 500g/L, 更优选约 100 至约 250g/L, 以产生澄清的浓缩卡诺拉蛋白溶液,

[0016] 任选渗滤澄清的浓缩卡诺拉蛋白溶液, 例如使用大量 pH 3 或天然 pH 的水,

- [0017] 任选进行脱色步骤,例如颗粒活性炭处理,和
- [0018] 干燥浓缩蛋白溶液以产生干燥卡诺拉蛋白产物,
- [0019] 其中所述浓缩和 / 或任选渗滤步骤以下述方式进行,所述方式使得干燥卡诺拉蛋白产物基于干重基础含有约 60 至低于 90 重量% (N×6.25) 的蛋白。
- [0020] 在加入钙盐之前可将上清液部分浓缩至中间浓度。如上所述除去形成的沉淀并将所得溶液酸化,进一步浓缩至终浓度,然后任选渗滤和干燥。
- [0021] 备选地,首先可将上清液浓缩至终浓度,将钙盐加入浓缩上清液中,除去所得沉淀,酸化溶液,然后任选渗滤和干燥。
- [0022] 在上述方法的另一个变体中,最初将少量钙盐加入上清液中使得无沉淀形成,酸化溶液并部分浓缩至中间浓度,将另外量的钙盐加入部分浓缩的上清液中,沉淀形成。
- [0023] 除去沉淀,将溶液浓缩至其终浓度,并任选渗滤和干燥。
- [0024] 上述步骤中一个任选项是省略除去沉淀,这导致产物中较高的植酸盐含量。在这样的步骤中,将钙盐加入上清液(部分浓缩上清液或完全浓缩上清液)中,且不除去沉淀。酸化导致沉淀的再次溶解。
- [0025] 另一个任选项是省略酸化并在天然 pH 下进行溶液的处理。在该任选项中,将钙盐加入上清液(部分浓缩上清液或浓缩上清液)中以形成被除去的沉淀。然后将所得溶液按照上述无酸化步骤地进行处理。
- [0026] 如果在加入钙盐之前部分浓缩上清液并在除去沉淀之后完全浓缩,那么将上清液首先浓缩至蛋白浓度为约 50g/L 以下,并在除去沉淀之后,接着浓缩至浓度为至少约 50g/L,优选约 50 至约 500g/L,更优选约 100 至约 250g/L。
- [0027] 在本发明一个实施方案中,可分两个阶段加入钙盐。在该实施方案中,将少量钙加入上清液中以提供电导率为约 1mS 至约 3.5mS,优选约 1mS 至约 2mS,该电导率不足以引起沉淀形成。
- [0028] 在上述条件下,酸化和部分浓缩所得溶液。将余下的钙盐加入部分浓缩溶液中以提供电导率为约 4mS 至约 30mS,优选约 4 至约 10mS,导致沉淀形成。然后除去沉淀。然后将所得澄清溶液在上述条件下浓缩。
- [0029] 本文方法生产的卡诺拉蛋白产物不仅适合酸性介质的蛋白强化,而且可用于常规应用蛋白分离物,包括但不限于加工食品和饮料的蛋白强化、油的乳化、在焙烤食品中作为成体剂 (body former) 和在截留气体的产品中作为发泡剂。此外,卡诺拉蛋白产物可形成在仿肉制品中有用的蛋白纤维,并且可用作其中蛋清用作粘合剂的食物产品中的蛋清代替物或者增补剂。卡诺拉蛋白产物可用作营养补充剂。卡诺拉蛋白产物的其它用途为在宠物食品、动物饲料中和在工业和化妆品应用以及个人护理产品中。
- [0030] 发明的一般性说明
- [0031] 提供卡诺拉蛋白产物的方法的最初步骤包括溶解卡诺拉油粕的蛋白物质。从卡诺拉籽粕中回收的蛋白物质可以是天然存在于卡诺拉籽中的蛋白,或者蛋白物质可以通过遗传操作改造但是具有天然蛋白特有的疏水性和极性的蛋白。卡诺拉粕可以是任何从卡诺拉油籽中除去卡诺拉油所得的含有不同水平的非变性蛋白的卡诺拉粕,例如得自热己烷提取或冷油挤出方法。从卡诺拉油籽中除去卡诺拉油通常是以与本文所述蛋白分离物回收步骤分离的操作形式进行。

[0032] 通过使用食品级盐溶液进行蛋白溶解最有效,因为盐的存在增强从油粕中除去可溶蛋白。如果卡诺拉蛋白分离物旨在用于非食品用途,那么可使用非食品级化学制品。盐通常是氯化钠,但是可使用其它盐,例如氯化钾。盐溶液的离子强度为至少约 0.05,优选至少约 0.10,以使能够进行显著量蛋白的溶解。随着盐溶液的离子强度增加,油粕中蛋白的溶解程度开始增加直到达到最大值。任何随后的离子强度增加不增加总的溶解蛋白。引起最大限度的蛋白溶解的食品级盐溶液的离子强度视涉及的盐和选择的油粕而不同。

[0033] 鉴于随着离子强度增加,蛋白沉淀所需的稀释程度越大,通常优选使用的离子强度值小于约 0.8,且更优选的值为约 0.1 至约 0.15。

[0034] 在分批过程中,蛋白的盐溶解在约 5°C 至约 75°C 的温度下进行,优选伴随搅拌以减少溶解时间,溶解时间通常为约 10 至约 60 分钟。优选进行溶解以从油粕中提取基本上与可实行的一样多的蛋白,以便提供总的高产物产率。

[0035] 选择约 5°C 的温度下限是因为低于该温度溶解不可实行地慢,而选择约 75°C 的优选温度上限是由于部分存在的蛋白的变性温度。

[0036] 在连续过程中,卡诺拉油粕中蛋白的提取以与进行卡诺拉油粕蛋白的连续提取一致的任何方式进行。在一个实施方案中,将卡诺拉油粕连续与食品级盐溶液混合,并将混合物通过有一定长度的管道或导管且以适于足以依照本文所述参数进行所需提取的停留时间的流速传送。在这种连续步骤中,以可达约 10 分钟的时间快速进行盐溶解步骤,优选进行溶解以从卡诺拉油粕中提取基本上与可实行的一样多的蛋白。连续步骤中的溶解在约 10°C 至约 75°C 的温度下进行,优选约 15°C 至约 35°C。

[0037] 食品级盐水溶液一般 pH 为约 5 至约 6.8,优选约 5.3 至约 6.2,视需要,可将盐溶液的 pH 调节为约 5 至约 6.8 范围内的任何所需值,以用于通过使用任何合宜的酸(通常是盐酸)或碱(通常是氢氧化钠)进行的提取步骤。

[0038] 在溶解步骤期间食品级盐溶液中的油粕浓度可改变很大。典型的浓度值为约 5 至约 15% w/v。

[0039] 使用盐水溶液的蛋白提取步骤具有另外的溶解可能存在于卡诺拉粕中的脂肪的作用,这因此引起脂肪存在于水相中。

[0040] 得自提取步骤的蛋白溶液一般蛋白浓度为约 5 至约 40g/L,优选约 10 至约 30g/L。

[0041] 盐水溶液可包含抗氧化剂。抗氧化剂可以是任何合宜的抗氧化剂,例如亚硫酸钠或抗坏血酸。抗氧化剂的用量可从溶液的约 0.01 变化至约 1 重量%,优选约 0.05 重量%。抗氧化剂用来抑制蛋白溶液中酚的氧化。

[0042] 然后可以任何合宜的方式将得自提取步骤的水相与残余卡诺拉粕分离,例如通过使用倾析式离心,接着碟式离心和/或过滤以除去残余粕。可干燥分离的残余粕以处理。

[0043] 通过将粉末活性炭或者其它色素吸附剂与分离的蛋白水溶液混合,并随后合宜地通过过滤除去吸附剂以提供蛋白溶液,可在浅色和不太强烈黄色方面改进最终的卡诺拉蛋白产物的颜色。渗滤也可用于除去色素。

[0044] 这样的色素除去步骤可在任何合宜条件下完成,通常在分离的蛋白水溶液的环境下,使用任何合适的色素吸附剂。对于粉末活性炭,用量为约 0.025% 至约 5% w/v,优选约 0.05% 至约 2% w/v。

[0045] 如果卡诺拉籽粕包含显著量的脂肪,如转让给其受让人和其公开内容通过引用结

合到本文中的美国专利第 5,844,086 和 6,005,076 号所述,那么可对分离的蛋白水溶液和下文所述的浓缩的蛋白水溶液进行其中所述的脱脂步骤。如果进行颜色改进步骤,那么可在第一次脱脂步骤后进行这种步骤。

[0046] 作为使用盐水溶液提取油粕的备选,可单独使用水进行这种提取,但是与盐水溶液相比,单独使用水往往从油粕中提取较少的蛋白。如果使用这样的备选,那么可将上文所述浓度的盐加入与残余油粕分离后的蛋白溶液中,以便在下文所述浓缩步骤期间将蛋白维持在溶液中。如果进行第一次除脂步骤,那么通常在这种操作完成后加入盐。

[0047] 另一个备选步骤是使用相对高 pH 值(高于约 6.8,一般高至约 9.9)的食品级盐溶液提取油粕。食品级盐溶液的 pH 可通过使用任何合宜的食品级碱(例如氢氧化钠水溶液)调节至所需的碱性值。备选地,可使用相对低 pH(低于约 pH 5,一般低至约 pH 3)的盐溶液提取油粕。如果使用这种备选,那么然后以任何合宜方式将得自油粕提取步骤的水相与残余卡诺拉粕分离,例如通过使用倾析式离心,接着碟式离心和/或过滤以除去残余粕。可干燥分离的残余粕以处理。

[0048] 然后在下文所述进一步处理之前,如上所述将得自高或低 pH 提取步骤的蛋白水溶液的 pH 调节为约 5 至约 6.8 的范围,优选约 5.3 至约 6.2。视需要,这种 pH 调节可使用任何合宜的酸(例如盐酸)或碱(例如氢氧化钠)进行。

[0049] 浓缩蛋白水溶液以提高其蛋白浓度,同时保持其离子强度基本上恒定。一般进行这种浓缩以提供蛋白浓度为至少约 50g/L 的浓缩蛋白溶液,优选至少约 200g/L,更优选至少约 250g/L。

[0050] 可以与分批或者连续操作一致的任何合宜方式进行浓缩步骤,例如通过使用任何合宜的选择性膜技术,例如使用膜(例如中空纤维膜或缠绕膜)的超滤或渗滤,考虑到不同膜材料和结构,膜具有合适的分子量分离点,例如约 3,000 至约 100,000 道尔顿,优选约 5,000 至约 10,000 道尔顿,且对于连续操作,随着蛋白水溶液通过膜,膜尺寸允许所需浓缩程度。

[0051] 如众所周知的,超滤和类似的选择性膜技术允许低分子量物类通过膜,同时防止较高分子量物类通过膜。低分子量物类不仅包括食品级盐的离子物类,而且包括提取自源材料的低分子量物质(例如碳水化合物、色素和抗营养因子),以及任何低分子量形式的蛋白。考虑到不同膜材料和结构,通常选择膜的分子量分离点以确保截留溶液中显著比例的蛋白,同时允许污染物通过。

[0052] 然后,可使用摩尔浓度和 pH 与提取溶液相同的盐水溶液对浓缩蛋白溶液进行渗滤步骤。可使用约 2 至约 20 体积的渗滤溶液进行这种渗滤,优选约 5 至约 10 体积的渗滤溶液。在渗滤操作中,通过使渗透物通过膜从蛋白水溶液中除去更多量的污染物。可进行渗滤操作,直到在渗透物中不存在显著另外量的污染物和可见颜色。可使用与浓缩步骤相同的膜进行这种渗滤。然而,视需要,可使用有不同分子量分离点的分离膜进行渗滤步骤,例如考虑到不同膜材料和结构,具有在约 3,000 至约 100,000 道尔顿,优选约 5,000 至约 10,000 道尔顿范围内的分子量分离点的膜。

[0053] 在至少部分渗滤步骤期间,抗氧化剂可存在于渗滤介质中。抗氧化剂可以是任何合宜的抗氧化剂,例如亚硫酸钠或抗坏血酸。在渗滤介质中所用抗氧化剂的量取决于使用的材料,且可从约 0.01 变化至约 1 重量%,优选约 0.05 重量%。抗氧化剂用来抑制存在于

浓缩的卡诺拉蛋白分离物溶液中的酚的氧化。

[0054] 浓缩步骤和渗滤步骤可在任何合宜温度下进行,一般约 20°C 至约 60°C,优选约 20°C 至约 30°C,并持续一段时间以完成所需程度的浓缩。使用的温度和其它条件在某种程度上取决于用于进行浓缩的膜设备和所需的溶液蛋白浓度。

[0055] 视需要,如美国专利第 5,844,086 和 6,005,076 号所述,可对浓缩和任选渗滤的蛋白溶液进行进一步的脱脂操作。

[0056] 作为上文所述脱色操作的备选,可对浓缩和任选渗滤的蛋白溶液进行脱色操作。本文可使用粉末活性炭,以及颗粒活性炭(GAC)。可用作颜色吸附剂的另一种材料是聚乙烯吡咯烷酮。

[0057] 颜色吸附剂处理步骤可在任何合宜条件下进行,一般在卡诺拉蛋白溶液的环境温度下。对于粉末活性炭,用量可为约 0.025% 至约 5% w/v,优选约 0.05% 至约 2% w/v。如果聚乙烯吡咯烷酮用作颜色吸附剂,那么用量可为约 0.5% 至约 5% w/v,优选约 2% 至约 3% w/v。从卡诺拉蛋白溶液中除去颜色吸附剂可通过任何合宜的方法,例如通过过滤。

[0058] 可对得自任选脱色步骤的浓缩和任选渗滤的蛋白溶液进行巴氏消毒以减少微生物载量。这种巴氏消毒可在任何所需的巴氏消毒条件下进行。一般地,将浓缩和任选渗滤的蛋白溶液加热至温度为约 55°C 至约 70°C,优选约 60°C 至约 65°C,持续约 10 至约 15 分钟,优选约 10 分钟。然后可将巴氏消毒的浓缩蛋白溶液冷却,以用于如下文所述的进一步处理,优选冷却至温度为约 25°C 至约 40°C。

[0059] 取决于浓缩步骤和任选渗滤步骤使用的温度以及是否进行巴氏消毒,可将浓缩蛋白溶液加热至温度为至少约 20°C,且可达约 60°C,优选约 25°C 至约 40°C,以减少浓缩蛋白溶液的粘度,利于进行随后的稀释步骤和胶束形成。不能加热浓缩蛋白溶液超过下述温度,高于该温度,在通过冷水稀释时不发生胶束形成。

[0060] 然后,将得自浓缩步骤和任选渗滤步骤、任选脱色步骤、任选巴氏消毒步骤和任选脱脂步骤的浓缩蛋白溶液稀释,以进行胶束形成,稀释是通过将浓缩蛋白溶液与冷水混合,冷水具有达到所需稀释程度所需要的体积。取决于期望通过胶束途径得到的卡诺拉蛋白比例和来自上清液的比例,浓缩蛋白溶液的稀释程度可不同。一般地,对于较低稀释水平,较大比例的卡诺拉蛋白保留在水相中。

[0061] 当期望通过胶束途径提供最大比例的蛋白时,将浓缩蛋白溶液稀释约 5 倍至约 25 倍,优选约 10 倍至约 20 倍。

[0062] 浓缩蛋白溶液与之混合的冷水温度为低于约 15°C,一般约 1 至约 15°C,优选低于约 10°C,因为在所用稀释因子下使用这些较冷的温度得到提高产率的蛋白胶束团形式的蛋白分离物。

[0063] 如上所述,在分批操作中,将分批的浓缩蛋白溶液加入具有所需体积的静态冷水体中。浓缩蛋白溶液的稀释和随之发生的离子强度减少引起胶束形式的分离蛋白滴形式的高度缔合蛋白分子的云状团形成。在分批步骤中,使蛋白胶束能够在冷水体中沉降(settle)以形成聚集、并生、密集、无定形的粘性面筋样蛋白胶束团(PMM)。沉降可例如通过离心辅助。这种诱导沉降减少蛋白胶束团的液体含量,从而以总胶束团重量计,通常将水分含量从约 70% 重量至约 95% 重量减少至约 50% 重量至约 80% 重量的值。以这种方式减少胶束团的水分含量也减少胶束团吸留的盐含量,并因此减少干燥分离物的盐含量。

[0064] 备选地, 稀释操作可连续进行, 通过使浓缩蛋白溶液连续地通过 T- 形管的一个入口, 同时将稀释水喂入 T- 形管的另一个入口, 允许在管中混合。将稀释水喂入 T- 形管的速率足以达到浓缩蛋白溶液的所需稀释程度。

[0065] 浓缩蛋白溶液与稀释水在管中的混合起始蛋白胶束的形成, 将混合物从 T- 形管的出口连续喂入沉降容器中, 当装满时, 允许上清液从沉降容器中溢出。优选将混合物以最小化液体中湍流的方式喂入沉降容器中的液体中。

[0066] 在连续步骤中, 允许蛋白胶束在沉降容器中沉降, 以形成聚集、共生、密集、无定形、粘性、面筋样的蛋白胶束团 (PMM), 并继续该步骤直到在沉降容器底部积累了所需量的 PMM, 随后从沉降容器中除去积累的 PMM。通过沉积 (sedimentation) 代替沉降, 可通过离心连续分离 PMM。

[0067] 与使用上述美国专利中描述的任何已知的现有技术蛋白分离物形成步骤获得的相比, 将蛋白溶液浓缩至至少约 200g/L 的优选蛋白含量的过程参数的组合和使用约 10 至约 20 的稀释因子, 就从初始粕提取物中回收蛋白胶束团形式的蛋白而言, 产生更高的产率, 通常显著更高的产率, 且就蛋白含量而言产生纯得多的分离物。

[0068] 与分批过程相比, 通过使用回收卡诺拉蛋白产物的连续过程, 对于相同水平的蛋白提取, 可显著减少初始蛋白提取步骤的时间, 和显著较高的温度可用于提取步骤。此外, 在连续操作中, 与分批操作相比存在较少的污染机会, 产生较高产品质量, 且过程可在更小型的设备中进行。

[0069] 将沉降的卡诺拉蛋白产物与残余水相或上清液分离, 例如通过倾析沉淀团块的残余水相或者通过离心。PMM 可以以湿的形式使用, 或者可通过任何合宜的技术 (例如喷雾干燥或冷冻干燥) 干燥为干燥形式。干燥 PMM 有高的蛋白含量, 超过约 90 重量% 蛋白, 优选至少约 100 重量% 蛋白 (以 Kjeldahl N \times 6.25 计算), 且基本上是未变性的 (通过差示扫描量热法测定)。当视需要使用 USP 5, 844, 086 和 6, 005, 076 的步骤时, 从含脂油粕中分离的干燥 PMM 也有低的残余脂肪含量, 其可低于约 1 重量%。

[0070] 如从转让给其受让人且其公开内容通过引用结合到本文中的美国专利第 7, 662, 922 号 (WO 03/086760) 已知的, PMM 主要由 7S 卡诺拉蛋白组成, 具有的蛋白组分含量为约 60 至 98 重量% 的 7S 蛋白、约 1 至约 15 重量% 的 12S 蛋白和 0 至约 25 重量% 的 2S 蛋白。

[0071] 来自 PMM 形成和沉降步骤的上清液包含在稀释步骤中未沉淀的显著量的卡诺拉蛋白, 加工上清液以从中回收卡诺拉蛋白分离物。如上述美国专利第 7, 662, 922 号所述, 得自上清液的卡诺拉蛋白分离物主要由 2S 卡诺拉蛋白组成, 具有的蛋白组分含量为约 60 至约 95 重量% 的 2S 蛋白、约 5 至约 40 重量% 的 7S 蛋白和 0 至约 5 重量% 的 12S 蛋白。

[0072] 在本发明中, 将钙盐 (优选氯化钙) 加入上清液中, 以提供电导率为约 5mS 至约 30mS, 优选 8mS 至约 10mS, 上清液可以下文所述方式首先浓缩或者部分浓缩。加入上清液的氯化钙可呈任何所需形式, 例如其浓缩水溶液。

[0073] 氯化钙的加入有以植酸盐形式从上清液沉淀植酸和保留上清液的球蛋白和白蛋白部分的作用。从上清液中回收沉淀的植酸盐, 例如通过离心和 / 或过滤, 以留下澄清溶液。视需要, 可不除去沉淀的植酸盐, 在该情况下进一步的加工得到有较高植酸盐含量的产物。

[0074] 然后将澄清溶液的 pH 调节至约 2.0 至约 4.0 的值, 优选约 2.9 至 3.2。pH 调节可以以任何合宜的方式进行, 例如通过加入盐酸。视需要, 可从本文所述不同任选项中省略酸化步骤。

[0075] 如果尚未浓缩, 那么浓缩经 pH 调节的澄清溶液以提高其蛋白浓度。这种浓缩使用任何合宜的选择性膜技术进行, 例如超滤, 使用有合适分子量分离点的膜, 允许低分子量物类 (包括从蛋白源材料中提取的盐、碳水化合物、色素和其它低分子量材料) 通过膜, 同时在溶液中保留显著比例的卡诺拉蛋白。考虑到不同的膜材料和结构, 可使用分子量分离点为约 3,000 至 100,000 道尔顿, 优选约 5,000 至约 10,000 道尔顿的超滤膜。以这种方式浓缩上清液也减小需要干燥以回收蛋白的液体的体积。在干燥之前, 通常将上清液浓缩至蛋白浓度为至少约 50g/L, 优选约 50 至约 500g/L, 更优选约 100 至约 150g/L。如上文对于蛋白溶液浓缩步骤所述, 这种浓缩操作可以以分批方式或者以连续操作进行。

[0076] 如果在加入钙盐之前部分浓缩上清液且在除去沉淀之后完全浓缩, 那么将上清液首先浓缩至蛋白浓度为约 50g/L 以下, 且在除去沉淀之后, 接着浓缩至浓度为至少约 50g/L, 优选约 50 至约 500g/L, 更优选约 100 至约 250g/L。

[0077] 在本发明一个实施方案中, 可分两个阶段加入钙盐。在该实施方案中, 将少量的钙加入上清液中以提供电导率为约 1mS 至约 3.5mS, 优选约 1mS 至约 2mS, 其不足以引起沉淀形成。

[0078] 在上述条件下酸化和部分浓缩所得溶液。将剩余的钙盐加入部分浓缩的溶液中以提供电导率为约 4mS 至约 30mS, 优选约 4 至约 10mS, 导致沉淀形成。然后除去沉淀。然后在上述条件下浓缩所得澄清溶液。

[0079] 然后可使用水、盐水或酸化水对浓缩上清液进行渗滤步骤。水可在其天然 pH、等于待渗滤蛋白溶液的 pH 或者在两者之间的任何 pH。可使用约 2 至约 20 体积的渗滤溶液 (例如 pH 3 或者天然 pH 的水) 进行这种渗滤, 优选约 5 至约 10 体积的渗滤溶液, 在渗滤操作中, 通过使渗透物通过膜从水性上清液中除去更多量的污染物。可进行渗滤操作直到在渗透物中不存在显著另外量的污染物和可见颜色。可使用与浓缩步骤相同的膜进行这种渗滤。然而, 视需要, 可使用分离膜进行渗滤, 考虑到不同的膜材料和结构, 例如分子量分离点在约 3,000 至约 100,000 道尔顿、优选约 5,000 至约 10,000 道尔顿范围内的膜。

[0080] 本文以下述方式进行浓缩步骤和渗滤步骤, 所述方式使得随后回收的卡诺拉蛋白分离物包含低于约 90 重量% 的蛋白 ($N \times 6.25$), 例如至少约 60 重量% 的蛋白 ($N \times 6.25$)。如上所述, 公知的是浓缩和渗滤过程允许从溶液中除去水和小分子量污染物。通过部分浓缩和 / 或渗滤溶液, 可仅部分除去污染物, 从而一旦进行了干燥步骤就得到有较低水平的纯度的蛋白产物。

[0081] 在至少部分渗滤步骤期间, 抗氧化剂可存在于渗滤介质中。抗氧化剂可以是任何合宜的抗氧化剂, 例如亚硫酸钠或抗坏血酸。在渗滤介质中使用的抗氧化剂的量取决于使用的材料, 且可从约 0.01 变化至约 1 重量%, 优选约 0.05 重量%。抗氧化剂用来抑制存在于浓缩卡诺拉蛋白分离物溶液中的酚的氧化。

[0082] 作为上述脱色操作的备选, 可对浓缩和任选渗滤的蛋白溶液进行脱色操作。本文可使用粉末活性炭, 以及颗粒活性炭 (GAC)。可用作颜色吸附剂的另一种材料是聚乙烯吡咯烷酮。

[0083] 颜色吸附剂处理步骤可在任何合宜的条件下进行，一般在卡诺拉蛋白溶液的环境温度下。对于粉末活性炭，用量可为约 0.025% 至约 5% w/v，优选约 0.05% 至约 2% w/v。如果聚乙烯吡咯烷酮用作颜色吸附剂，那么用量可为约 0.5% 至约 5% w/v，优选约 2% 至约 3% w/v。颜色吸附剂可通过任何合宜方法（例如通过过滤）从卡诺拉蛋白溶液中除去。

[0084] 浓缩和任选渗滤和任选脱色处理的蛋白溶液通过任何合宜技术干燥为干燥形式，例如喷雾干燥或冷冻干燥。卡诺拉蛋白产物植酸含量低，一般低于约 1.5% 重量。

[0085] 本文生产的卡诺拉蛋白产物包含白蛋白和球蛋白部分二者，并可溶于酸性水环境，使得该产物对于加入饮料（碳酸的和非碳酸的）以对其提供蛋白强化是理想的。这样的饮料有宽范围的酸性 pH 值，从约 2.5 变化到约 5。本文提供的卡诺拉蛋白产物可以以任何合宜的量加入这样的饮料中以对这样的饮料提供蛋白强化，例如，至少约 5g 卡诺拉蛋白产物 /12 流体盎司量。加入的卡诺拉蛋白产物在饮料中溶解且不损害饮料的澄清度。在通过溶解于水使饮料复溶之前，卡诺拉蛋白产物可与干燥饮料混合。

实施例

[0086] 实施例 1：

[0087] 该实施例描述本发明一个实施方案低于 90% 蛋白重量的新的卡诺拉蛋白产物的生产。

[0088] 在环境温度下将“a”kg 卡诺拉粕加入“b”L 的“c”M NaCl 溶液中，并搅拌 30 分钟以提供蛋白水溶液。除去残余卡诺拉粕，并通过离心使所得蛋白溶液部分澄清，产生“d”L 部分澄清的蛋白含量为“e”% 重量的蛋白溶液。过滤部分澄清的蛋白溶液以进一步使溶液澄清，产生体积为“f”的蛋白含量为“g”重量的溶液。

[0089] 通过在分子量分离点为“j”道尔顿的聚醚砜 (PES) 膜上浓缩，使“h”L 蛋白提取物溶液的体积减少为“i”L。所得浓缩蛋白溶液的蛋白含量为“k”% 重量。

[0090] 将“l”°C 的浓缩溶液以“m”稀释到温度为“n”°C 的冷 RO 水中。白色云状物立刻形成，并通过离心以“o”重量% 过滤蛋白溶液的产率回收沉淀的、粘滞的、粘性的团块 (PMM)。发现干燥 PMM 衍生蛋白的蛋白含量为“p”% (N×6.25) d. b.。将产物命名为“q”C307C。

[0091] 一次运行的参数“a”-“q”示于下表 1：

[0092] 表 1

[0093]

q	BW-SD092-J06-08A
a	100
b	1000
c	0.15
d	755
e	1.29

f	792
g	1.20
h	792
i	37.72
j	100,000
k	19.36
l	30
m	1 : 15
n	4
o	43.5
p	101
q	BW-SD092-J06-08A

[0094]

[0095] 然后对 PMM 沉淀所得上清液进行本发明所述氯化钙加入。

[0096] 通过加入来自其浓缩溶液的氯化钙将“r”L 上清液的电导率调节为“s”ms。然后将该溶液离心和 / 或过滤以除去沉淀的植酸盐物质,产生“t”L 植酸盐含量减少、澄清的蛋白溶液,其浓度为“u”%重量。然后将植酸盐含量减少、澄清的上清液通过加入 HCl 调节至 pH “v”,并且使用分子量分离点为“x”道尔顿的聚醚砜 (PBS) 膜通过超滤使体积减少为“w”L。然后使用“y”L 水在相同的膜上渗滤浓缩物。渗滤的浓缩物包含“z”%重量的蛋白。与从上清液回收的另外的蛋白一起,渗滤的蛋白溶液的总蛋白回收率为“aa”重量%。通过使浓缩物通过 pH 3 的“ad”BV/hr 的颗粒活性炭 (activated carborate) 的“ac”L 床体积柱对“ab”L 浓缩物进行退色步骤。“ae”L (GAC) 处理的溶液退色,蛋白含量为“af”%重量,然后将该溶液喷雾干燥并命名为“q”C200CaC,蛋白含量为“ah”。

[0097] 一次运行的参数“r”-“ah”示于下表 2 中。

[0098] 表 2

[0099]

q	BW-SD092-J06-08A
r	578.5

s	8
t	570
u	0.63
v	3.0
w	25.86
x	10,000
y	150
z	8.98
aa	24
ab	25.86
ac	5.7
ad	5
ae	28.86
af	4.30
ah	88.57

[0100]

[0101] 将干燥卡诺拉蛋白产物加入水中制备蛋白含量为 3.2w/v% 的溶液。混合溶液直到溶解,然后在 HunterLab ColorQuest XE 仪器上分析颜色和澄清度。在 pH 3 再次溶解样品的颜色和澄清度值见表 3。

[0102] 表 3

[0103]

	蛋白含量	溶液 pH	溶液蛋白	“L”	“a”	“b”	%雾度
BW-SD092-J06-08A	88.6%	3.08	3.2%	97.77	-6.80	35.92	4.5%
BW-SD092-A06-09A	93.5%	3.03	3.2%	94.03	-7.92	37.10	0.5%
BW-SD092-C23-09A	93.3%	3.2	3.2%	92.58	-6.45	38.75	3.1%

[0104] 表 3 提供的浓缩物的颜色和澄清度读数与更高蛋白含量的相似产物的读数相当。

[0105] 实施例 2：

[0106] 该实施例描述本发明另一个实施方案的低于 90% 重量蛋白的新的卡诺拉蛋白产品的生产。

[0107] 在环境温度下将“a”kg 卡诺拉粕加入“b”L 的“c”M NaCl 溶液中,并搅拌 30 分钟以提供蛋白水溶液。除去残余卡诺拉粕,并通过离心使所得蛋白溶液部分澄清,以产生“d”L 部分澄清的蛋白溶液,其蛋白含量为“e”%重量。将部分澄清的蛋白溶液过滤以进一步澄清,得到体积为“f”L 的蛋白含量为“g”%重量的溶液。

[0108] 通过在分子量分离点为“j”道尔顿的聚醚砜 (PES) 膜上浓缩使“h”L 澄清的蛋白提取溶液的体积减少为“i”L。所得浓缩蛋白溶液的蛋白含量为“k”%重量。

[0109] 将“l”℃下的浓缩溶液以“m”稀释到温度为“n”℃的冷 RO 水中。白色云状物立刻形成,并通过离心以“o”重量%过滤蛋白溶液的产率回收沉淀的、粘滞的、粘性的团块 (PMM)。将 PMM 从上清液中除去并干燥。发现干燥 PMM 衍生蛋白的蛋白含量为“p”% (N x 6.25) d. b.。将产品命名为“q”C307C。

[0110] 通过加入来自浓缩溶液的氯化钙来调节“r”L 上清液至电导率为“s”ms。然后离心和 / 或过滤该溶液以除去沉淀的植酸盐物质,得到“t”L 植酸盐含量减少、澄清的蛋白溶液,其浓度为“u”%重量。通过加入 HCl 调节植酸盐含量减少、澄清的上清液至 pH “v”,并通过使用分子量分离点为“x”道尔顿的聚醚砜 (PES) 膜超滤使其体积减至“w”L。在减体积点 3、5 和 7 时,取 200ml 截留物样品并干燥。将干燥卡诺拉蛋白产物加入足够的 RO 水中以制备蛋白含量为 3.2w/v% 的溶液。混合溶液直到完全溶解,然后在 HunterLab ColorQuest XE 仪器上分析颜色和澄清度。在酸性条件下再次溶解后分析干燥样品的蛋白含量和澄清度。结果示于下表 4:

[0111] 表 4

[0112]

	%蛋白 DB	颜色分析			雾度(%)
		“L”	“a”	“b”	
VRF 3	70%	95.23	-7.54	34.68	0.0%
VRF 5	78%	94.63	-7.84	38.13	1.5%
VRF 7	81%	94.18	-8.07	40.90	1.9%

[0113] 一次运行的参数 ‘a’ - ‘x’ 示于下表 5 中:

[0114] 表 5

[0115]

q	BW-SD092-A06-09A
a	150
b	1500
c	0.15
d	1075.2
e	1.62

f	1047
g	1.47
h	1047
i	69.12
j	100,000
k	18.68
l	30
m	1 : 15
n	4
o	43.5
p	105
r	1058.1
s	8
t	974
u	0.63
v	3.0
w	48
x	10,000

[0116]

[0117] 表 4 中提供的颜色和澄清度读数与高蛋白含量的相似产物的读数相当, 如可通过与表 3 中的分离物比较看出的。

[0118] 公开的总结

[0119] 在本公开的总结中, 产生的 2S- 占优的卡诺拉蛋白产物的性质与前述美国专利申请第 12/542,922 号中产生的 2S- 占优的卡诺拉蛋白分离物相当。在本发明的范围内可作出修改。