

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 843 249**

51 Int. Cl.:

A01G 31/02 (2006.01)

A23L 33/105 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.07.2019** **PCT/EP2019/070196**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.01.2020** **WO20021071**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.07.2019** **E 19748777 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.05.2022** **EP 3829326**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de una materia prima enriquecida con isotiocianatos y polifenoles**

30 Prioridad:

27.07.2018 IT 201800007593

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

28.06.2022

73 Titular/es:

SICIT GROUP SPA (100.0%)

Via Arzignano 80

36072 Chiampo (VI), IT

72 Inventor/es:

ALBERT, GRETTEL;

ESTIGARRIBIA SCHININI, VICTOR;

NERESINI, MASSIMO;

PATTINI, ANDRES;

PITUELLO, CHIARA;

POVOLO, CHIARA y

RUMIGNANI, ALBERTO

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 843 249 T3

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

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la preparación de una materia prima enriquecida con isotiocianatos y polifenoles

Campo técnico de la invención

- 5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de brotes de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) cultivados a partir de semilla y a un procedimiento para la preparación de una materia prima enriquecida con isotiocianatos (ITC) y polifenoles (PF), obtenida de semilla y/o de brotes cosechados de la planta adulta.

Estado de la técnica

Es bien sabido que las empresas que operan en la industria nutracéutica hacen un gran esfuerzo por utilizar materias primas de alta calidad, calidad que viene indicada por el tipo de cultivo (orgánico) y el contenido de principios activos.

- 10 El uso de moringa en formulaciones nutracéuticas y cosméticas se ha incrementado en los últimos años, involucrando casi en su totalidad el uso de las hojas. Las hojas de moringa son muy interesantes desde el punto de vista nutricional por su contenido en proteínas (alrededor del 27 % p/p en base a materia seca), aminoácidos esenciales, vitaminas (vitamina A, carotenoides con potencial provitamina A y vitamina C), minerales (incluyendo sodio, potasio, fósforo, calcio y hierro), y PFs con acción antioxidante. Los ITC y sus precursores, los glucosinolatos, están presentes en las
15 hojas, pero en cantidades modestas en comparación con las otras partes de la planta. Las semillas son la parte de la planta más rica en glucosinolatos, pero también la más pobre en PF.

El cultivo sin suelo de *Moringa oleifera* se describe en la disertación de George W. Crosby con el título "Soilless Culture of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) for the Production of Fresh Biomass", <https://search.proquest.com/docview/304844775?pq-origsite=gscholar>.

- 20 Los antioxidantes se pueden clasificar como antioxidantes directos o indirectos, dependiendo de su mecanismo de acción frente a los radicales libres. Los PF, que son antioxidantes directos, reaccionan directamente con especies radicales activas; por el contrario, los ITC, como se demostró recientemente (Turner et al., 2015), poseen una acción antioxidante indirecta, es decir, aunque no actúan directamente sobre las especies radicales activas, contribuyen al funcionamiento de las defensas del organismo frente al daño oxidativo.

- 25 En general, los ITC derivan de precursores glicosilados llamados glucosinolatos, mediante una reacción mediada por la enzima mirosinasa. Los glucosinolatos son compuestos típicos de las plantas pertenecientes a la familia Brassicaceae, perteneciente al orden Capparales, que incluye *Moringa oleifera* Lam. También conocidos como glucósidos sulfatados o tioglucósidos, son un grupo de glucósidos formados por una parte de azúcar unida, mediante un átomo de azufre, a la parte de aglicona, derivados de aminoácidos como la metionina, la fenilalanina, la tirosina y el triptófano. Mientras los glucosinolatos permanezcan secuestrados en los compartimentos subcelulares de los tejidos
30 vegetales, son químicamente estables y biológicamente inactivos. Por el contrario, después del daño tisular (causado por parásitos u otros factores que conducen a la laceración de los tejidos), los glucósidos entran en contacto con las enzimas mirosinasas, activando así un procedimiento de hidrólisis enzimática de los glucosinolatos, con escisión del enlace β -tioglucósido y formación de intermediarios inestables, y por tanto con la formación de moléculas nitrogenadas o sulfurosas-nitrógenas como nitrilos, tiocianatos (TC) e ITC. Estos productos de degradación se caracterizan por un sabor amargo y un picante característico, apreciados en platos como salsas y preparaciones a base de mostaza, rábano picante y wasabi. Aparte de sus características organolépticas conocidas desde hace mucho tiempo, las TIC han sido objeto de numerosos estudios a lo largo de los años que demuestran sus propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, anticancerígenas y antioxidantes.

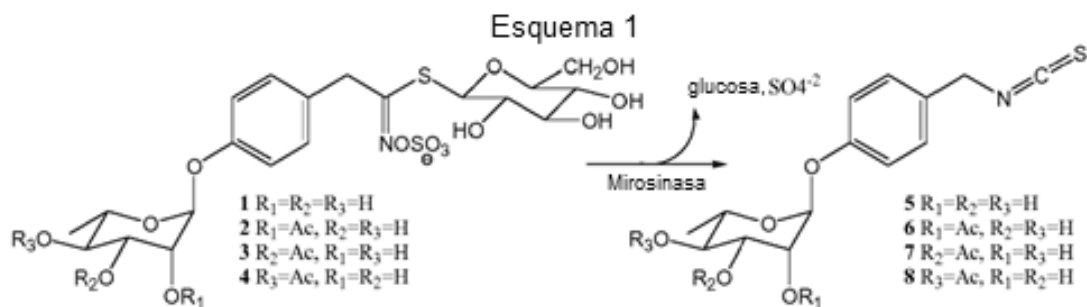
- 40 Otro método de conversión de glucosinolatos a TC e ITC está asociado a la microbiota intestinal, en el que la mirosinasa específica de algunos microorganismos implementa la misma reacción; sin embargo, el porcentaje de conversión a isotiocianatos es incierto. Por eso, por motivos de salud, es preferible tomar directamente las TIC, que son las moléculas activas, que los glucosinolatos.

- 45 El esquema 1 muestra la estructura de los glucosinolatos de *Moringa oleifera* Lam. y la de los isotiocianatos correspondientes.

En particular, el principal glucosinolato de moringa es el glucosinolato de 4-(α -L-ramnopiranosiloxi)-bencilo (glucomoringina o GM) (compuesto 1 en el esquema 1), que está presente en todas las partes de la planta en diferentes concentraciones (Bennet et al., 2003).

- 50 Además, tres isómeros de acetilo de GM (compuestos 2, 3 y 4 en el esquema 1) están presentes en algunas partes de la planta. El ITC de la glucomoringina, denominado isotiocianato de glucomoringina (GM-ITC, compuesto 5 en el esquema 1), junto con el ITC del isómero de acetilato de glucomoringina en la posición 4' de la ramnosa (compuesto 8 en el esquema 1), poseen propiedades antioxidantes indirectas actividad comparable a la del sulforafano, el ITC característico del brócoli.

Los compuestos 6 y 7 (Esquema 1) son los otros dos de los tres isómeros acetilados de la glucomoringina.



Sumario de la invención

La invención se refiere a un procedimiento para la preparación de brotes de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) a partir de semilla, que comprende las siguientes etapas:

- 5 a) selección de semillas de moringa;
- b) preparación de semillas: descascarillado opcional de semillas; lavado y desinfección de semillas;
- c) germinación;
- d) crecimiento bajo condiciones controladas sin suelo y sin soluciones nutritivas;
- e) recolección de partes aéreas y residuos de semillas y raíces.
- 10 La invención también se refiere a la preparación de una materia prima a partir de brotes obtenidos por el procedimiento descrito anteriormente, opcionalmente con los residuos de semillas y raíces, y/o a partir de brotes cosechados de la planta adulta de *Moringa oleifera* L., que comprende las siguientes etapas:
 - f) I. lavado de la parte aérea de los brotes obtenidos en la etapa e) y desinfección opcional de los residuos de semillas y raíces obtenidos en la etapa e), y/o II. lavado de las partes aéreas de los brotes cosechados de la planta adulta,
 - 15 g) extracción de las partes aéreas por extractor de tornillo para obtener un sólido y un líquido,
 - h) homogeneización de:
 - I. el sólido y el líquido obtenidos en la etapa g) y opcionalmente, por separado, de los residuos de semillas y raíces, para obtener uno o dos purés homogéneos; o de:
 - II. el sólido y el líquido obtenidos en la etapa g) y los residuos de semillas y raíces, combinados para obtener un único puré homogéneo;
 - 20 i) eliminación del agua de los purés obtenidos en la etapa h) por secado o liofilización,
 - j) trituración;

y también se relaciona con la materia prima que se obtiene de los brotes de moringa (*Moringa oleifera* L.) por dicho procedimiento.

25 Breve descripción de las figuras.

En la figura 1 se muestra un esquema del procedimiento para la preparación de brotes de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) a partir de semilla, y la materia prima obtenible de dichos brotes.

La figura 2 muestra una estructura para contener las bandejas germinadoras, vista frontal.

La figura 3 muestra una sección transversal de la estructura para contener las bandejas germinadoras, vista lateral.

30 Descripción detallada de la invención

Es objeto de la presente invención es un procedimiento para la preparación de brotes de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) mediante cultivo sin suelo a partir de semillas de moringa.

Según la invención, los brotes se obtienen mediante el cultivo de semillas de moringa sin suelo ni soluciones nutritivas.

Otro objeto de la invención es un procedimiento para la preparación de una materia prima enriquecida con isotiocianatos (ITC), conocidos por sus propiedades antiinflamatorias, antibacterianas y anticancerígenas, y polifenoles (PF), conocidos principalmente por su acción antioxidante, a partir de brotes de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) cultivados a partir de semillas por el procedimiento según la invención y/o a partir de brotes cosechados de la planta adulta de *Moringa oleifera* L., por ejemplo cosechados directamente en el campo cortando la parte apical de las ramas constituidas por hojas desplegadas y hojas tiernas.

Los brotes preparados según la presente invención permiten la producción de materias primas con un alto contenido de ITC y PF, beneficiándose ambas de las propiedades conferidas por dichas clases de moléculas.

Dichas materias primas se utilizan en la industria nutracéutica y cosmética, bien como tales o tras sucesivos procedimientos de extracción para obtener extractos más concentrados, en forma (sólida o líquida) apropiada al campo específico de aplicación.

El procedimiento para la preparación de brotes de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) a partir de semilla comprende las siguientes etapas:

a) selección de semillas de moringa;

b) preparación de semillas: descascarillado opcional de semillas; lavado y desinfección de semillas;

c) germinación;

d) crecimiento bajo condiciones controladas sin suelo y sin soluciones nutritivas;

e) recolección de partes aéreas (brotes) y residuos de semillas y raíces.

En la etapa a), las semillas pueden seleccionarse desechando las que estén rotas, descoloradas, mohosas o dañadas.

En la etapa b) de preparación de semillas, las semillas pueden descascararse opcionalmente, ya sea manualmente o con la ayuda de una máquina descascaradora, después de lo cual las semillas pueden lavarse colocándolas, opcionalmente descascarilladas, en un baño de agua, preferiblemente durante la noche, y luego enjuagándolas; la desinfección posterior puede realizarse colocando las semillas en una solución desinfectante, preferiblemente una solución acuosa de hidróxido de calcio o hipoclorito de sodio, o una solución acuosa de macerado de glicerina de hojas de citronela, más preferiblemente una solución acuosa que contenga de 30 a 60 g/l de hidróxido de calcio o una solución acuosa que contiene de 0.045 a 0.55 ml/l de hipoclorito de sodio o una solución acuosa que contiene de 100 a 300 ml/l de macerado de glicerina de hojas de citronela obtenido por métodos conocidos del estado de la técnica.

La desinfección se realiza preferentemente durante un tiempo de 8 a 12 horas si la desinfección se realiza con una solución acuosa de hidróxido de calcio, o de 20 a 30 minutos si la desinfección se realiza con una solución acuosa de hipoclorito de sodio o una solución acuosa de macerado de glicerina de hojas de citronela.

Después de la desinfección, las semillas se pueden enjuagar, preferiblemente tres veces, para eliminar el exceso de solución desinfectante.

Luego sigue la germinación (etapa c)); las semillas se pueden colocar en recipientes tapados en la oscuridad en una cámara de germinación con temperatura y humedad controladas durante el tiempo que sea necesario para la germinación completa, preferiblemente de 3 a 5 días, para obtener las semillas germinadas.

La temperatura de germinación oscila preferentemente entre 23 °C y 32 °C, y más preferentemente asciende a 26 °C.

La humedad de germinación oscila preferentemente entre el 60 % y el 90 %, y más preferentemente asciende al 75 %.

En la etapa d), las semillas germinadas se cultivan en condiciones controladas sin suelo. Por ejemplo, las semillas germinadas se transfieren a bandejas perforadas y se colocan en un invernadero con condiciones ambientales controladas (como temperatura, humedad e iluminación). La temperatura oscila preferentemente entre 23 °C y 32 °C, y más preferentemente asciende a 28 °C. Los brotes se riegan con agua por aspersión; la humedad oscila preferentemente entre el 60 % y el 90 %, y más preferentemente asciende al 75 %. La iluminación se aplica con una intensidad que oscila preferentemente entre 100 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

A continuación, los brotes se cosechan haciendo un corte por encima de la semilla, de modo que se separe la parte aérea de la parte que comprende la semilla y las raíces (etapa e)).

A partir de partes aéreas (brotes) y residuos de semillas y raíces así obtenidos en la etapa e), se puede preparar una materia prima mediante un procedimiento según la invención que comprende las etapas que se describen a continuación. Según una realización adicional, la materia prima se puede preparar a partir de brotes cosechados de la planta adulta de *Moringa oleifera* L., ya sea sola o combinada con partes aéreas (brotes) cultivadas a partir de semillas por el procedimiento según la invención y residuos de semillas y raíces.

El procedimiento para la preparación de una materia prima a partir de los brotes así obtenidos por el procedimiento descrito anteriormente, opcionalmente con los residuos de semillas y raíces, y/o con brotes cosechados de la planta adulta de *Moringa oleifera* L., comprende las siguientes etapas:

- 5 f) I. lavado de la parte aérea de los brotes obtenidos en la etapa e) y desinfección opcional de los residuos de semillas y raíces obtenidos en la etapa e), y/o II. lavado de las partes aéreas cosechadas de la planta adulta,
- g) extracción de las partes aéreas con un extractor de tornillo para obtener un sólido y un líquido,
- h) homogeneización de:
 - I. el sólido y el líquido obtenidos en la etapa g) y opcionalmente, por separado, los residuos de semillas y raíces, para obtener uno o dos purés homogéneos; o:
 - 10 II. el sólido y el líquido obtenidos en la etapa g) y los residuos de semillas y raíces, combinados para obtener un único puré homogéneo;
- i) eliminación del agua por secado o liofilización;
- j) trituración.
- 15 En la etapa f), las partes aéreas de los brotes, obtenidos a partir de semillas por el procedimiento según la invención y/o cosechados de la planta adulta, se lavan con agua, mientras que los residuos de semillas y raíces, cosechados por separado, se desinfectan en una solución desinfectante, preferentemente una solución acuosa de hidróxido de calcio o hipoclorito de sodio, o más preferentemente una solución acuosa que contenga de 30 a 60 g/l de hidróxido de calcio o una solución acuosa que contenga de 0.045 a 0.55 ml/l de hipoclorito de sodio. Alternativamente, la
- 20 desinfección puede realizarse con una solución acuosa de macerado de glicerina de citronela, preferiblemente una solución acuosa que contenga de 100 a 300 ml/l de macerado de glicerina de hojas de citronela obtenida por métodos conocidos del estado de la técnica. Preferiblemente, la desinfección se lleva a cabo por un tiempo de 8 a 12 horas si la desinfección se realiza con una solución acuosa de hidróxido de calcio, o por un tiempo de 20 a 30 minutos si la desinfección se realiza con una solución acuosa de hipoclorito de sodio o una solución acuosa de macerado de glicerina de hojas de citronela.
- 25 Luego se enjuagan las semillas con agua, preferiblemente tres veces, para eliminar la solución desinfectante y obtener una biomasa.
- En la etapa g) las partes aéreas se introducen en un extractor de zumo de prensa en frío de tipo tornillo (velocidad: entre 60 y 75 rpm) para separar el producto sólido del líquido.
- 30 En la etapa h) I, la biomasa se somete a un procedimiento mecánico de homogeneización. El producto sólido y el producto líquido resultantes de la etapa g) y, por separado, los residuos de semillas y raíces se homogeneizan para obtener dos purés homogéneos separados (etapa h) I).
- Alternativamente, el producto sólido y el producto líquido resultantes de la etapa g) y los residuos de semillas y raíces se homogeneizan juntos para obtener un puré homogéneo (etapa h) II).
- 35 El agua puede ser eliminada (etapa i)) del puré homogéneo mediante secado a una temperatura comprendida preferentemente entre 40 °C y 60 °C, por ejemplo con horno eléctrico de ventilación, o liofilizado.
- Finalmente, el producto seco o liofilizado obtenido en la etapa i) se tritura, por ejemplo con un molino de cuchillas, para obtener la materia prima deseada (etapa j)).
- 40 Según una realización, el procedimiento de preparación de una materia prima a partir de los brotes así obtenidos por el procedimiento descrito anteriormente, opcionalmente con los residuos de semillas y raíces, comprende las siguientes etapas:
- f) I. lavado de la parte aérea de los brotes obtenidos en la etapa e) y desinfección de los residuos de semillas y raíces obtenidos en la etapa e),
- g) extracción de las partes aéreas con un extractor de tornillo para obtener un sólido y un líquido,
- h) homogeneización de:
 - I. el sólido y el líquido obtenidos en la etapa g) y opcionalmente, por separado, los residuos de semillas y raíces, para obtener uno o dos purés homogéneos; o:
 - 45 II. el sólido y el líquido obtenidos en la etapa g) y los residuos de semillas y raíces, combinados para obtener un único puré homogéneo;
- i) eliminación del agua por secado o liofilización;

j) trituración.

Según una realización adicional, el procedimiento para la preparación de una materia prima a partir de brotes cosechados de la planta adulta de *Moringa oleifera* L. y de brotes obtenidos a partir de semillas por el procedimiento descrito anteriormente, opcionalmente con los residuos de semillas y raíces, comprende las siguientes etapas:

5 f) I. lavado de las partes aéreas obtenidas de los brotes cosechados de la planta adulta de *Moringa oleifera* L. y de los brotes obtenidos en la etapa e), y desinfección opcional de los residuos de semillas y raíces obtenidos en la etapa e),

g) extracción de las partes aéreas con un extractor de tornillo para obtener un sólido y un líquido,

h) homogeneización de:

10 III. el sólido y el líquido obtenidos en la etapa g) y opcionalmente, por separado, los residuos de semillas y raíces, para obtener uno o dos purés homogéneos; o:

IV. el sólido y el líquido obtenidos en la etapa g) y los residuos de semillas y raíces, combinados para obtener un único puré homogéneo;

i) eliminación del agua por secado o liofilización;

j) trituración.

15 Según una realización adicional, el procedimiento para la preparación de una materia prima a partir de brotes cosechados de la planta adulta de *Moringa oleifera* L., comprende las siguientes etapas:

f) I. lavado de las partes aéreas obtenidas de los brotes cosechados de la planta adulta de *Moringa oleifera* L.,

g) extracción de las partes aéreas con un extractor de tornillo para obtener un sólido y un líquido,

h) homogeneización de:

20 I. el sólido y el líquido obtenidos en la etapa g),

i) eliminación del agua por secado o liofilización;

j) trituración.

Otro objeto de la presente invención es una materia prima obtenida a partir de brotes de moringa mediante el procedimiento descrito anteriormente.

25 Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Producción de dos productos liofilizados diferentes derivados de la parte aérea y residuos de semillas y raíces obtenidos de semillas sin descascarillar

30 Se hace una selección visual de las semillas, descartándose las semillas rotas, descoloridas, mohosas o dañadas (etapa a)).

A continuación, las semillas se remojan colocándolas en un baño de agua durante 8 horas. Luego, las semillas se enjuagan tres veces y luego se desinfectan colocándolas en una solución desinfectante que contiene 0.45 ml/l de hipoclorito de sodio durante 30 minutos. Después de la desinfección, las semillas se enjuagan tres veces para eliminar el exceso de solución desinfectante (etapa b)).

35 Luego se realiza la germinación (etapa c)), colocando las semillas en recipientes tapados en la oscuridad en una cámara de germinación durante 5 días a una temperatura de 26 °C y 80 % de humedad hasta que las semillas germinen.

40 En la etapa d), las semillas germinadas se transfieren a charolas perforadas de 45 cm x 30 cm (1200 semillas por charola) y se colocan en un invernadero con una temperatura promedio de 29 °C y 80 % de humedad. El crecimiento tiene lugar durante 15 días. A continuación, los brotes se cosechan haciendo un corte por encima de la semilla (etapa e)), para separar la parte aérea de la parte que comprende la semilla y las raíces. El peso fresco de la parte aérea producida en cada bandeja asciende a 1.7 veces el peso seco de las semillas dejadas germinar, mientras que el peso fresco de las semillas y raíces remanentes después del procedimiento asciende a 3.6 veces el peso seco de las semillas que se dejan germinar.

La parte aérea de los brotes se lava con agua, mientras que los residuos de semillas y raíces se desinfectan colocándolos en una solución desinfectante que contiene 0.45 ml/l de hipoclorito de sodio durante 30 minutos (etapa f)), y luego se enjuaga con agua para eliminar la solución desinfectante y obtener una biomasa.

5 La parte aérea de los brotes se somete a un procedimiento de extracción mecánica (etapa g)) usando un extractor de tornillo, que opera en frío (temperatura ambiente) ya baja velocidad (60 rpm). El peso del jugo obtenido asciende a 0.81 veces el peso de la biomasa procesada, mientras que el peso del sólido asciende a 0.12 veces el peso de la biomasa.

10 A continuación, el producto sólido y el producto líquido obtenido de la parte aérea se combinan y mezclan en un mezclador de inmersión para obtener un puré homogéneo. El mismo procedimiento se lleva a cabo para los residuos de semillas y raíces (etapa h) I.).

15 Los dos purés obtenidos se liofilizan por separado para eliminar el agua, con el fin de obtener una masa estable y almacenable (etapa i)). El producto liofilizado procedente de la parte aérea asciende a 0.08 veces el peso de la biomasa sometida a liofilización, mientras que el procedente de los residuos de semillas y raíces asciende a 0.21 veces el peso de la biomasa sometida a liofilización. Los productos liofilizados se retiran de las bandejas del liofilizador, luego se muelen con un molino de cuchillas hasta obtener un polvo (etapa j)), el cual se envasa convenientemente. El polvo resultante constituye la materia prima obtenida a partir de los brotes de moringa que constituyen el objeto de la presente invención.

Ejemplo 2 - Elaboración de un producto liofilizado derivado de la parte aérea y residuos de semillas y raíces obtenidos a partir de semillas descascarilladas

20 Se hace una selección visual de las semillas, descartándose las semillas rotas, decoloridas, mohosas o dañadas (etapa a)).

25 Las semillas se descascarillan con una máquina descascarilladora y luego se remojan colocándolas en un baño de agua durante 8 horas; luego se enjuagan las semillas tres veces y luego se desinfectan colocándolas en una solución desinfectante que contiene 0.45 ml/l de hipoclorito de sodio durante 30 minutos. Después de la desinfección, las semillas se enjuagan tres veces para eliminar el exceso de solución desinfectante (etapa b)).

Luego se realiza la germinación (etapa c)), colocando las semillas en recipientes tapados en la oscuridad en una cámara de germinación durante 5 días a una temperatura de 26 °C y 80 % de humedad hasta que las semillas germinen.

30 En la etapa d), las semillas germinadas se transfieren a charolas perforadas de 45 cm x 30 cm (3000 semillas por charola) y se colocan en un invernadero con una temperatura promedio de 29 °C y 80 % de humedad. El crecimiento tiene lugar durante 15 días. A continuación, los brotes se cosechan haciendo un corte por encima de la semilla (etapa e)), para separar la parte aérea de la parte que comprende la semilla y las raíces. El peso fresco de la parte aérea producida en cada bandeja asciende a 2.0 veces el peso seco de las semillas que se dejan germinar, mientras que el peso fresco de las semillas y raíces remanentes después del procedimiento asciende a 3.2 veces el peso seco de las semillas que se dejan germinar.

La parte aérea de los brotes se lava con agua, mientras que los residuos de semillas y raíces se desinfectan colocándolos en una solución desinfectante que contiene 0.45 ml/l de hipoclorito de sodio durante 30 minutos (etapa f)), y luego se enjuaga con agua para eliminar la solución desinfectante y obtener una biomasa.

40 La parte aérea de los brotes se somete a un procedimiento de extracción mecánica (etapa g)) mediante un extractor de tornillo, que opera en frío (temperatura ambiente) ya baja velocidad (60 rpm). El peso del jugo obtenido asciende a 0.81 veces el peso de la biomasa, mientras que el peso del sólido asciende a 0.12 veces el peso de la biomasa.

Los productos sólidos y líquidos obtenidos de la parte aérea, y los residuos de semillas y raíces, son luego combinados y mezclados con un mezclador de inmersión para obtener un puré homogéneo (etapa h) II.).

45 El puré obtenido se liofiliza para eliminar el agua, con el fin de obtener una masa estable y almacenable (etapa i)). El producto liofilizado, que asciende a 0.10 veces el peso de la biomasa sometida a liofilización, se retira de las bandejas del liofilizador, luego se muele con un molino de cuchillas hasta obtener un polvo (etapa j)), que se envasa convenientemente. El polvo resultante constituye la materia prima obtenida a partir de los brotes de moringa que constituyen el objeto de la presente invención.

50 Ejemplo 3 - Producción de materias primas enriquecidas con isotiocianatos y polifenoles a partir de brotes de *Moringa oleífera* L. cultivados en un ambiente controlado

Los brotes de *Moringa oleífera* L. se cultivan en un invernadero con parámetros ambientales controlados, como temperatura, humedad e iluminación, como se indica en la descripción detallada anterior.

En concreto, el invernadero tiene una longitud de 18 m, una anchura de 4 m y una altura máxima de 4 m. Dos estructuras en el invernadero, que sirven para contener las bandejas germinadoras de semillas (Figuras 1 y 2), tienen

una longitud de 16 m, un ancho de 0.7 m y una altura de 1.8 m, y están divididas en 3 estantes, cada uno con una altura de 0.6 m. Cada bandeja tiene 0.45 m de largo y 0.30 m de ancho. Cada estructura contiene 192 bandejas, dando al invernadero una capacidad total de 384 bandejas.

5 Las semillas se seleccionan desechando las que están rotas, descoloradas, mohosas y/o dañadas. En cada bandeja se colocan 360 g de semillas como tales, previamente dejadas en baño maría durante la noche, enjuagadas y luego desinfectadas con una solución acuosa que contiene 0.45 ml/l de hipoclorito de sodio durante 30 minutos. Alternativamente, para cada bandeja se pueden utilizar 500 g de semillas descascarilladas, previamente dejadas al baño maría durante la noche, enjuagadas y luego desinfectadas con una solución acuosa que contenga 0.45 ml/l de hipoclorito de sodio durante 30 minutos.

10 El ciclo de producción requiere 5 días para la germinación de las semillas y 15 días para el crecimiento de los brotes, haciendo un total de 20 días, es decir, 16 ciclos de producción por año. La mitad de las bandejas del invernadero se llenan con semillas sin descascarar y el resto con semillas descascarilladas. Al final de cada ciclo de producción, los brotes se cosechan haciendo un corte por encima de la semilla, para separar la parte aérea de la parte que comprende la semilla y las raíces. La parte aérea de los brotes se lava con agua, mientras que los residuos de semillas y raíces
15 se desinfectan colocándolos en una solución desinfectante que contiene 0.45 ml/l de hipoclorito de sodio durante 30 minutos y luego se enjuaga.

De semilla sin descascarillar se obtienen 1800 Kg de parte aérea y 3900 Kg de residuos de semillas y raíces al año. La parte aérea de los brotes se somete a un procedimiento de extracción mecánica mediante un extractor de tornillo (60 rpm) para obtener un jugo y un residuo sólido, que se combinan y mezclan para obtener un puré homogéneo. El
20 mismo procedimiento se lleva a cabo para los residuos de semillas y raíces. A continuación se liofilizan los dos purés obtenidos, con una producción anual de 150 Kg de liofilizado de la parte aérea y 800 Kg de liofilizado de los residuos de semillas y raíces.

De la semilla descascarillada se obtienen 3000 Kg de parte aérea y 4900 Kg de residuos de semillas y raíces al año. La parte aérea de los brotes se somete a un procedimiento de extracción mecánica mediante un extractor de tornillo (60 rpm) para obtener un jugo y un residuo sólido, que se combinan y mezclan con los residuos de semillas y raíces
25 para obtener un puré homogéneo. El puré se liofiliza para obtener una producción anual de 790 Kg de producto liofilizado.

Bibliografía

30 Turner, T. B., Rojas-Silva, P., Poulev, A., Raskin, I., & Waterman C. (2015). Direct and Indirect antioxidant activity of Polyphenol- and Isothiocyanate-Enriched Fractions from *Moringa oleifera*. J. Agric. Food. Chem., 63, 1505-1513.

Bennett, N. R., Mellon, F. A., Foidl, N., Pratt, J. H., Dupont, M. S., Perkins, L., & Kroon, P.A. (2003). Profiling Glucosinolates and Phenolics in Vegetative and Reproductive Tissues of the Multi-Purpose Trees *Moringa oleifera* L. (Horseradish Tree) and *Moringa stenopetala* L. J. Agric. Food Chem., 51, 3546-3553.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de brotes de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) que comprende las siguientes etapas:
 - a) selección de semillas de moringa;
 - 5 b) preparación de semillas: descascarillado opcional de las semillas; lavado y desinfección de semillas;
 - c) germinación;
 - d) crecimiento bajo condiciones controladas sin suelo y sin soluciones nutritivas;
 - e) recolección de partes aéreas y residuos de semillas y raíces.
- 10 2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la desinfección de la etapa b) se realiza colocando las semillas en una solución desinfectante seleccionada entre una solución acuosa de hidróxido de calcio o una solución acuosa de hipoclorito de sodio, o una solución acuosa que contiene macerado de glicerina de hojas de citronela.
3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la solución desinfectante es una solución acuosa que contiene de 30 a 60 g/l de hidróxido de calcio o una solución acuosa que contiene de 0.045 a 0.55 ml/l de hipoclorito de sodio o una solución acuosa que contiene de 100 a 300 ml/l de macerado de glicerina de hojas de citronela.
- 15 4. Procedimiento de acuerdo a las reivindicaciones 1-3, en el que la desinfección de la etapa b) se realiza colocando las semillas en una solución desinfectante por un tiempo que oscila entre 8 a 12 horas si la desinfección se realiza con una solución acuosa de hidróxido de calcio, o por un tiempo que oscila entre 20 y 30 minutos si la desinfección se realiza con una solución acuosa de hipoclorito de sodio o macerado de glicerina de hojas de citronela.
- 20 5. Procedimiento según las reivindicaciones 1-4, en el que en la etapa c) la temperatura de germinación oscila entre 23 °C y 32 °C, y preferiblemente asciende a 26 °C.
6. Procedimiento según las reivindicaciones 1-5, en el que en la etapa c) la humedad de germinación oscila entre el 60 % y el 90 %, y preferiblemente asciende al 75 %.
7. Procedimiento según las reivindicaciones 1-6, en el que en la etapa d) la temperatura de crecimiento oscila entre 23 °C y 32 °C, y preferiblemente asciende a 28 °C.
- 25 8. Procedimiento según las reivindicaciones 1-7, en el que en la etapa d) la humedad de crecimiento oscila entre el 60 % y el 90 %, y preferentemente asciende al 75 %.
9. Procedimiento para la preparación de una materia prima a partir de los brotes obtenidos según el procedimiento de las reivindicaciones 1-8, opcionalmente con los residuos de semillas y raíces, y/o a partir de brotes cosechados de plantas adultas de *Moringa oleifera* L., que comprende las siguientes etapas:
 - 30 f) I. lavado de las partes aéreas obtenidas en la etapa e) y desinfección opcional de los residuos de semillas y raíces obtenidos en la etapa e), y/o II. lavado de las partes aéreas cosechadas de la planta adulta,
 - g) extracción por extractor de tornillo de la parte aérea, para obtener un sólido y un líquido;
 - h) homogeneización de:
 - I. el sólido y el líquido obtenidos en la etapa g), y opcionalmente, por separado, los residuos de semillas y raíces, para
 - 35 obtener uno o dos purés homogéneos; o de:
 - II. el sólido y el líquido obtenidos en la etapa g) y los residuos de semillas y raíces, combinados para obtener un único puré homogéneo;
 - i) eliminar el agua de los purés obtenidos en la etapa h) por secado o liofilización;
 - j) trituración.
 - 40 10. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la desinfección de la etapa f) se realiza con una solución desinfectante seleccionada entre una solución acuosa de hidróxido de calcio o hipoclorito de sodio o una solución acuosa que contiene macerado de glicerina de hojas de citronela.
 - 45 11. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la solución desinfectante es una solución acuosa que contiene de 30 a 60 g/l de hidróxido de calcio o una solución acuosa que contiene de 0.045 a 0.55 ml/l de hipoclorito de sodio o una solución acuosa que contiene de 100 a 300 ml/l de macerado de glicerina de hojas de citronela.

12. Procedimiento según las reivindicaciones 9-10, en el que la desinfección de la etapa b) se realiza colocando las semillas en una solución desinfectante por un tiempo que oscila entre 8 a 12 horas si la desinfección se realiza con una solución acuosa de hidróxido de calcio, o por un tiempo que oscila entre 20 y 30 minutos si la desinfección se realiza con una solución acuosa de hipoclorito de sodio o macerado de glicerina de hojas de citronela.

- 5 13. Materia prima obtenida de los brotes de moringa (*Moringa oleífera* L.) de acuerdo con el procedimiento de las reivindicaciones 9-12.

Figura 1

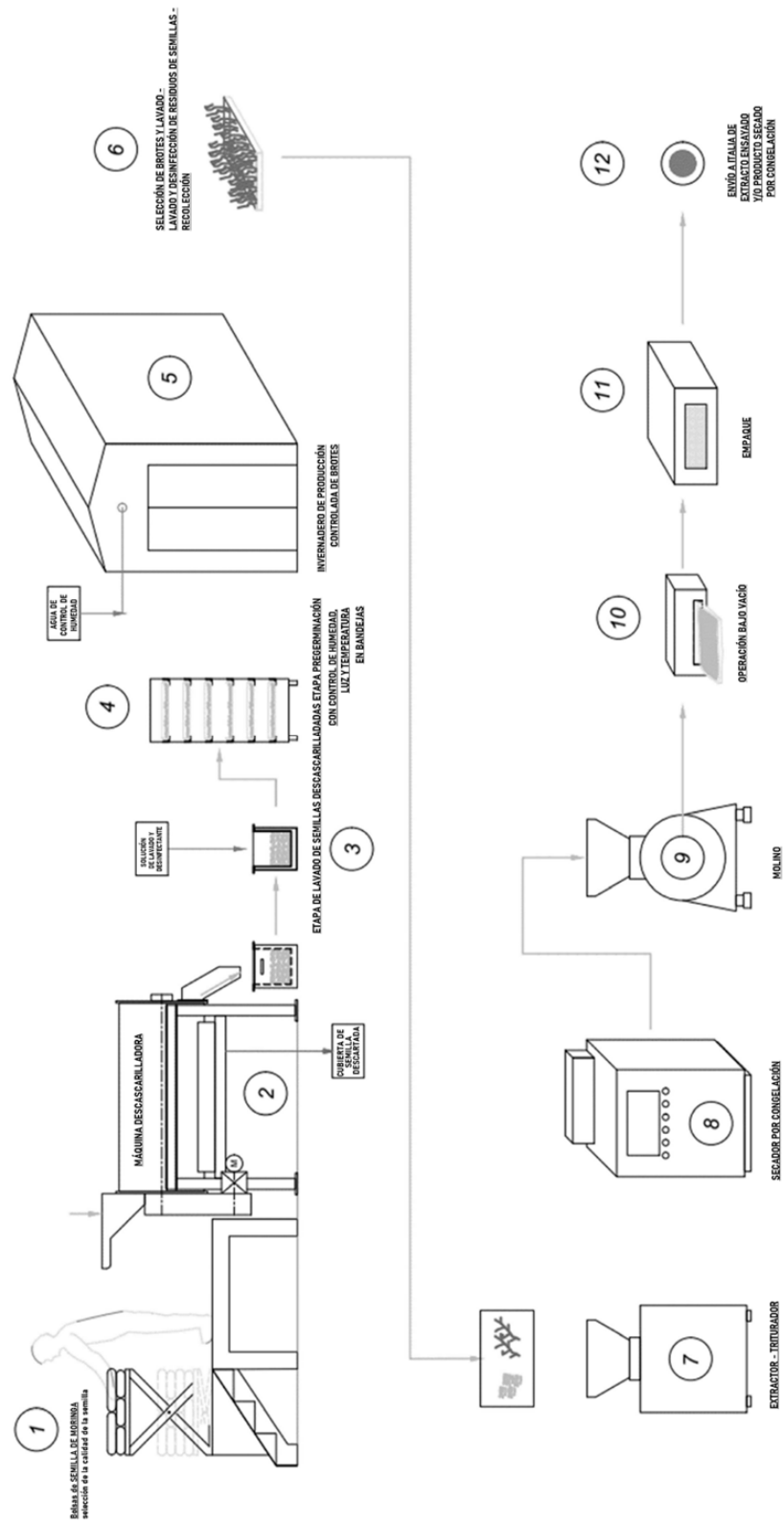


Figura 2

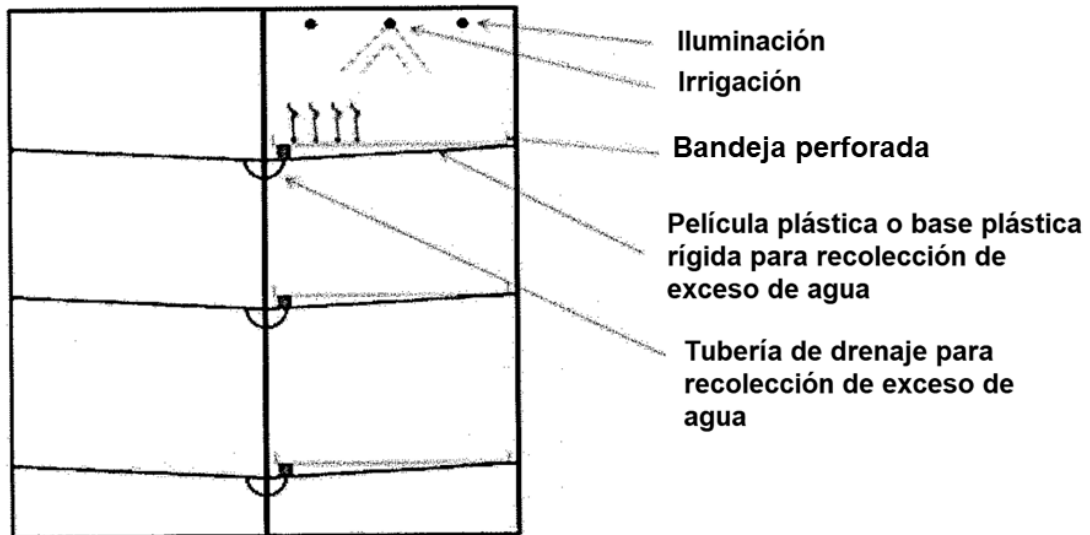


Figura 3

