

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202293471 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.03.14

(51) Int. Cl. A23J 1/00 (2006.01)
A23J 1/14 (2006.01)
A23J 1/12 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.06.25

(54) ПОЛУЧЕНИЕ ИЗОЛЯТОВ НЕОСАЖДЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО БЕЛКА

(31) 20305715.3
(32) 2020.06.26
(33) EP
(86) PCT/EP2021/067468
(87) WO 2021/260169 2021.12.30
(71) Заявитель:
ИМПРУВ (FR)

(72) Изобретатель:
Шваб Жером (FR)
(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(57) Изобретение относится к способу получения из частей растений изолята белка, имеющего чистоту более 80%, включающему следующие последовательные стадии: (a) промывание указанных частей растений в кислых условиях, в результате чего получают промытые кислотой части растений; (b) обеспечение контакта указанных промытых кислотой частей растений с раствором щелочи и (c) извлечение жидкой фракции, в результате чего получают белковый изолят, имеющий чистоту выше 80%, при этом указанный способ не включает никакой стадии кислотного осаждения.

202293471

A1

A1

202293471

ПОЛУЧЕНИЕ ИЗОЛЯТОВ НЕОСАЖДЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО БЕЛКА

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к получению изолятов растительного белка.

Предшествующий уровень техники

Растительные материалы включают универсальную широкую и разнообразную группу частей растений из самых разных видов. Общие категории растительных материалов включают травы, древесину, стебли, корни, семена и листья. Основной химический состав структур одинаков, поскольку каждая из них состоит из полисахаридов, белков, липидов и других второстепенных компонентов. Зато можно найти различия в пропорциях между этими макрокомпонентами, их видами и их биологическими активностями, например, структурными (древесина, стебли, корни), дыхательными (листья) и запасующими энергию (крахмал и белки) частями растения (семена). Таким образом, белки интегрированы в сложную и различную архитектуру, состоящую из нескольких видов молекул.

Белки семян были эмпирически классифицированы Осборном на основе их растворимости следующим образом:

- экстрагируемые водой (альбумины);
- экстрагируемые в разбавленных растворах солей (глобулины);
- экстрагируемые в водном растворе спирта (проламины);
- экстрагируемые слабокислыми или щелочными, или разбавленными растворами ДСН (глутелины).

Позже белки семян были также классифицированы на основе их коэффициентов седиментации (S) (Mandal and Mandal (2000) Current Science 79: 576-589).

Классификация делит белки семян на запасные, структурные и биологически активные белки. Как показано в таблице 1 ниже, классификация делит белки семян на альбумины (2S), которые представляют собой разнообразные биологически активные белки (лектины, ферменты и ингибиторы ферментов) и запасные белки, ремобилизуемые во время прорастания семян. Глобулины (7S, молекулярная масса которых составляет от 150 до 190 кДа, и 11/12 S, молекулярная масса которых составляет от 300 до 360 кДа) являются основными запасными белками двудольных растений (например, бобовых и масличных культур), тогда как семейства проламинов и глутелинов являются основными запасующими белками в однодольных растениях (например, злаках).

Белковые концентраты или изоляты из семян являются представляющими интерес

ингредиентами для пищевой промышленности из-за их питательной ценности и функциональных возможностей. Производственные процессы, как правило, разрабатываются в соответствии со спецификациями конечного продукта. Фактически, ценность белкового ингредиента возрастает в зависимости от его чистоты и функциональности. Рыночная цена на нерастворимый концентрат является низкой (<2 евро/кг), в то время как растворимый белковый изолят, способный пениться, стабилизировать эмульсию или формировать гель, достигает высоких рыночных цен от 4 до 8 евро /кг.

Таблица 1: Растворимость белков семян (классификация по Осборну)

Белковая фракция	Альбумин	Глобулин	Проламин	Глютелин
<i>Растворимость</i>	Вода	Солевой раствор	Этанол 70%	pH>11
<i>Функция в растении</i>	Физиологическая	Хранение	Хранение	Хранение
Соя	10%	90%		
Горох	20%	65%		15%
Конские бобы	25%	55%		20%
Подсолнечник	20%	60%	5%	15%
Рапс	50%	25%	5%	10%
Майло	8%	4%	46%	42%
Пшеница	5%	10%	45%	40%

Процесс мокрого фракционирования представляет собой комбинацию единичных операций, целью которых является использование физико-химических свойств белков, таких как их растворимость, с целью разделения и их отделения от других макрокомпонентов, а также микрокомпонентов. Используя эту стратегию, можно получать белковые изоляты, обогащенные глобулиновой белковой фракцией с высоким уровнем чистоты (>90% белков на основе сухого вещества – $N \times 6,25$).

Простейший способ мокрого фракционирования, используемый для получения белковых концентратов или изолятов из семян зернобобовых культур или жмыха масличных культур, состоит из двух стадий, описанных в US2785155. В этом способе сырье суспендируют в щелочной среде, что позволяет извлекать белки (в основном семейства глобулинов и альбуминов) и солюбилизировать указанные белки в растворителе, оставляя другие нерастворимые компоненты (крахмал и волокна) диспергированными в том же растворителе.

После разделения твердого вещества и жидкости, очищающего надосадочную жидкость, выделение белка осуществляют путем изoeлектрического осаждения. Добавлением кислого химического вещества, такого как соляная кислота, удается достичь pH, при котором нейтрализуются электрические заряды (обычно pH находится в

диапазоне 4,0-5,0). Уменьшенное взаимодействие между белками и растворителем позволяет им менять фазу (раствор/суспензия) и выпадать в осадок. Затем разделение твердого вещества и жидкости позволяет собирать осажденные белки, которые при необходимости могут быть нейтрализованы и высушены в конце процесса.

Позднее способ был оптимизирован, и были предложены другие варианты или пути получения изолятов белка, такие как выполнение стадии экстракции в кислых условиях (Alli et al. (1993) *J. Agr. Food Chem.* 41: 1830-1834), или в воде (Klamczynska et al. (2001) *Int. J Food Sci. & Technol.* 36:563-572). При анализе общей чистоты полученных продуктов кислотная и/или щелочная экстракция показывает высокий уровень чистоты (>90%), в то время как 50-65% – это уровень чистоты белков, экстрагированных водой (Chéreau et al. (2016) *OCL* 23:D406).

Альтернативно, способ ультрафильтрации может быть использован для очистки белка вместо кислотного осаждения (Olsen et al. (1978) *J. Sci. Food Agric.* 29:323-331). Основное отличие от изoeлектрического осаждения состоит в том, что физико-химические свойства белка, такие как растворимость и технологические возможности, обычно находятся на более высоком уровне при использовании ультрафильтрационного подхода.

Классически стадии процесса очистки рассчитаны на максимальный выход и чистоту конечного изолята. Экстракцию и солюбилизацию обычно проводят в щелочной среде, поскольку выход экстракции повышается, а взаимодействия между фитиновой кислотой и белками снижаются (Ghodsvali et al. (2005) *Food Res. Int.* 38:223-231).

Однако экстремально щелочные условия (pH >11) имеют недостатки, поскольку они могут привести к денатурации белка, снижению растворимости белка и связанных с этим технико-функциональных свойств (Ma et al. (1990) *J. Agric. Food Chem.* 38: 1707-1711; Manamperi et al. (2011) *J. Food Sci.* 76: E266-E273). Кроме того, эти условия могут повлиять на усвояемость из-за потери аминокислотных остатков, таких как лизин, цистеин, серин, треонин, аргинин и некоторые другие аминокислотные остатки. Фактически, обработанные щелочью белки могут содержать некоторые необычные соединения, такие как орнитин, β -аминоаланин, лизиноаланин, орнитиноаланин, лантионин, метиллантионин и D-алло-изолейцин, а также другие D-аминокислоты (Deng et al. (1990) *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 23:140-142).

Кроме того, в этих окислительных средах условия благоприятствуют необратимым химическим реакциям между белками и полифенолами. Высокая температура, присутствие металлов и кислорода также являются прооксидантными факторами, приводящими к получению конечного белкового изолята темного цвета, который нежелателен для пищевой промышленности и потребителя (Wanasundara (2011) *Crit. Rev.*

Food Sci. Nutr. 51:635-677; Sęczyk et al. (2019) Molecules 24:408).

Для улучшения вкуса белковых изолятов было изучено несколько стратегий. Одной из них является использование добавок, вносимых в щелочную среду для противодействия окислительным факторам. Например, на этой стадии могут быть использованы некоторые виды добавок антиоксидантного действия, такие как поликислоты, гексаметафосфат натрия (SHMP), сульфит натрия или бисульфит натрия. Применение добавок обычно ограничивает процессы окисления белков и полифенолов, а также их взаимодействия. Однако добавление химикатов сопряжено с затратами, которые повышают конечную стоимость изолята. Кроме того, использование этих молекул может регулироваться и ограничиваться национальными нормативными актами.

Альтернативно, предшественники с неприятным вкусом могут быть удалены путем промывания сырья перед стадией экстракции и солюбилизации.

Спиртовое промывание обычно используют в качестве растворителя для очистки муки и обезжиренных осадков благодаря его способности удалять из образца растворимые вещества в виде простых сахаров, олигосахаридов, жира и золы, а также другие второстепенные компоненты, такие как летучие вещества, поскольку они растворимы в спирте. Как правило, такой растворитель позволяет удалять привкус незрелых бобов из сои, арахиса и земляных орехов. Таким образом, использование амфифильного, органического и пищевого растворителя может быть преимуществом при предварительном промывании сырья, позволяя удалить небольшое количество липидов, а также предшественников посторонних ароматов, таких как фенольные соединения. Однако взаимодействие между растворителем, используемым для предварительного промывания, и белками может иметь негативные последствия для трехмерной структуры белка, денатурируя его структуру, тем самым снижая его технические функциональные возможности (Roland et al. (2017), Chem. J. 94:58-65). Кроме того, применение этанола может оказывать влияние с технической точки зрения и с точки зрения затрат. Действительно, хорошо известно, что этанол является легковоспламеняющимся и взрывоопасным веществом. Соответственно, для обработки муки и осадков, предварительно промытых спиртом, необходимы зоны потенциально взрывоопасной атмосферы (ATEX) и машины/оборудование, которые являются более дорогими с точки зрения общей стоимости лицензии и покупной цены. Кроме того, такой способ подразумевает дополнительные процессы десольвентизации сырья и очистки этанола с целью его повторного использования.

Таким образом, существует настоятельная потребность в новых способах получения изолятов растительного белка с высокой чистотой, при одновременном

ограничении присутствия посторонних привкусов, улучшении запаха, цвета и функциональных свойств, устранении антипитательных факторов и/или отказе от дорогостоящего оборудования.

Изложение сущности изобретения

Настоящее изобретение является результатом неожиданного открытия авторами изобретения того, что путем выполнения кислотного промывания растительного материала можно удалять антипитательные факторы и посторонние привкусы, и непосредственно выделять белки путем щелочной экстракции, без применения стадии осаждения, в частности стадии кислотного осаждения. Такой способ улучшает качество готового изолята, поскольку он позволяет удалять посторонние привкусы, уменьшать нежелательные и типичные растительные запахи и сделать более нейтральным цвет конечного изолята. Питательные качества также повышаются за счет удаления α -галактозидов, которые являются антипитательными факторами. Более того, отказ от осуществления стадии осаждения, в частности кислотного осаждения, позволяет сохранить белковые структуры, тем самым получая высококачественный белковый изолят. Белковый изолят, полученный указанным способом, также преимущественно обладает усовершенствованными функциональными свойствами, такими как улучшенная растворимость, улучшенная гелеобразующая способность, улучшенная пенообразующая способность и низкая вязкость.

Таким образом, белковый изолят может быть использован в пищевых композициях в качестве источника белка, делая пищеварение более комфортным, в частности, по сравнению с белковым изолятом, полученным традиционными способами, и/или по его функциональным свойствам.

Таким образом, первым объектом изобретения является белковый изолят из частей растений, в частности, изолят белка бобовых, который содержит по меньшей мере 80% белков в пересчете на сухое вещество и содержит менее 0,10% альфа-галактозидов от массы белкового изолята.

Другим объектом изобретения является композиция, включающая по меньшей мере один белковый изолят, как определено выше, в частности, пищевая композиция, кормовая композиция, кормовая композиция для домашних животных, косметическая композиция, нутрацевтическая композиция или фармацевтическая композиция.

Другим объектом изобретения является способ получения изолята белка, как определено выше, включающий следующие последовательные стадии:

а) промывание указанных частей растений в кислых условиях, в результате чего получают промытые кислотой части растений;

б) обеспечение контакта указанных частей растений, промытых кислотой, с щелочным раствором; и

с) извлечение жидкой фракции, в результате чего получают белковый изолят, показывающий чистоту выше 80%.

Указанный способ предпочтительно не включает никакой стадии кислотного осаждения.

Таким образом, настоящее изобретение, в частности, касается способа получения изолята белка, имеющего чистоту по меньшей мере 80%, предпочтительно равную или превышающую 85%, из частей растений, причем указанный способ включает следующие последовательные стадии:

а) промывание указанных частей растений в кислых условиях, в результате чего получают промытые кислотой части растений;

б) обеспечение контакта указанных частей растений, промытых кислотой, с щелочным раствором, и

с) выделение жидкой фракции, в результате чего получают изолят белка, имеющий чистоту по меньшей мере 80%, предпочтительно равную или превышающую 85%,

причем указанный способ не включает никакой стадии осаждения и никакой стадии мембранной фильтрации.

Другим объектом изобретения является применение изолята белка, как определено выше, в качестве пищевого ингредиента, в частности, чтобы сделать пищеварение более комфортным, и/или в качестве функционального ингредиента, например, в качестве пенообразователя и/или в качестве гелеобразующего агента, в частности, в композиции, как определено выше.

Подробное описание изобретения

Растения и части растений

Под «растением» в настоящей заявке подразумеваются все растения и популяции растений, такие как желательные и нежелательные дикорастущие растения, культивары и разновидности растений (независимо от того, охраняются ли они сортом растения или правами селекционера растений). Примеры растений, которые могут быть использованы в контексте изобретения, включают бобовые, зернобобовые, масличные растения, злаки, корнеплоды и микроводоросли.

Под «бобами» в настоящей заявке подразумевается съедобное семя бобового растения.

Бобовые включают, например, люпин, маш, бамбарский земляной орех, желтый горох, сою, конские бобы, нут, чечевицу, фасоль и понгамию.

К масличным растениям относятся, например, рапс, подсолнечник и камелия.

К злакам относятся, например, кукуруза, овес и ячмень.

К корнеплодным растениям относятся, например, картофель и маниока.

В предпочтительном варианте осуществления растение, как определено выше, не является масличным растением.

В конкретном варианте осуществления указанные растения являются бобовыми.

Под «бобовыми» в настоящей заявке подразумеваются растения семейства Fabaceae или Leguminosae, которые включают шесть следующих подсемейств: Cercidoideae (включая роды Bauhinia и Cercis), Detarioideae (включая роды Amherstia, Detarium и Tamarindus), Duparquetioideae (включая род Duparquetia), Dialioideae (включая род Dialium), Caesalpinioideae (включая роды Caesalpinia, Senna, Mimosa и Acacia) и Faboideae (включая роды Astragalus, Lupinus и Pisum).

В конкретном варианте осуществления указанные растения относятся к подсемейству Faboideae, более конкретно к родам Cicer, Glycine, Lathyrus, Lens, Lupinus, Medicago, Phaseolus, Pisum, Trifolium, Vicia или Vigna.

В еще одном конкретном варианте осуществления указанные растения представляют собой горох, конские бобы, нут или сою.

В предпочтительном варианте осуществления растение, как определено выше, не является соей, или более предпочтительно, не является соей культурной.

В предпочтительном варианте осуществления растение, как определено выше, является бобовым, причем указанное бобовое растение не является соей, или более предпочтительно, не является соей культурной.

В одном варианте осуществления растение, как определено выше, предпочтительно бобовое, не является растением рода Glycine.

Под «частями растения» подразумеваются все наземные и подземные части и органы растений, такие как побег, лист, цветок и корень, при этом, например, они включают листья, иглы, стебли, ветви, соцветия, плодовые тела, плоды и семена, а также корни, клубнелуковицы и корневища. Сельскохозяйственные культуры и вегетативный и генеративный материал для размножения, например, черенки, клубнелуковицы, корневища, побеги и семена, также относятся к частям растений.

В контексте изобретения части растений также включают побочные продукты растительной пищевой промышленности.

В конкретном варианте осуществления указанные части растения являются семенами.

В конкретном варианте осуществления указанные части растений используют на

стадии промывания (а) в механически преобразованной форме, такой как, например, мука или лущеные семена.

В конкретном варианте осуществления указанные части растения, в частности указанные семена, используют в виде муки, лущеных семян или осадков на стадии промывания (а) способа по изобретению.

Однако, поскольку одним из основных преимуществ способа по изобретению является устранение осаждения белка во время экстракции, части растений, используемые на стадии промывания (а) способа по изобретению, предпочтительно не подвергают предварительной экстракции белка.

Белковый изолят

Настоящее изобретение, в частности, относится к изоляту белка.

Под «изолятом белка» обычно подразумевают продукт, который содержит по меньшей мере 85% белков в пересчете на сухое вещество. Как правило, белковый изолят соответствует наиболее рафинированной форме белковых продуктов, имеющих наибольшую концентрацию белков, но не содержащих пищевых волокон. В более широком смысле «белковый изолят», как определено в настоящей заявке, содержит по меньшей мере 80% белков в пересчете на сухое вещество.

Таким образом, белковый изолят по изобретению может содержать по меньшей мере 80% белков в пересчете на сухое вещество, что означает, что белковый изолят имеет чистоту по меньшей мере 80% в пересчете на сухое вещество.

Под «чистотой» в настоящей заявке подразумевается отношение массы белков в изоляте к общей массе изолята в пересчете на сухое вещество.

Белковый изолят предпочтительно получают способом, как определено выше или ниже в разделе «Способ получения белкового изолята».

Таким образом, способ по изобретению позволяет получать белковый изолят, имеющий чистоту по меньшей мере 80%, предпочтительно равную или превышающую 85%.

Белковый изолят по изобретению предпочтительно находится в форме порошка.

В предпочтительном варианте осуществления белковый изолят представляет собой белковый изолят бобовых, причем упомянутые бобовые предпочтительно не являются соей, более предпочтительно не являются соей культурной.

Белковый изолят, как определено выше, предпочтительно получают из лущеных семян или муки.

Белковый изолят по изобретению предпочтительно дополнительно характеризуется по меньшей мере одним признаком, предпочтительно по меньшей мере двумя

признаками, более предпочтительно по меньшей мере тремя, четырьмя, пятью, шестью или семью признаками, выбранными из группы, состоящей из улучшенного цвета, улучшенного вкуса, улучшенного запаха, улучшенной растворимости, гелеобразующей способности, улучшенной пенообразующей способности, низкой вязкости и уменьшенного количества α -галактозидов, в частности, по сравнению с изолятом белка, полученным способом, включающим первую стадию щелочной экстракции, за которой следует вторая стадия кислотного осаждения, также упоминаемым в настоящей заявке как «стандартный рН-метрический способ», и предпочтительно по сравнению с коммерческими изолятами белка.

Белковый изолят, как определено выше, предпочтительно имеет сниженное количество α -галактозидов и предпочтительно дополнительно характеризуется по меньшей мере одним признаком, предпочтительно по меньшей мере двумя признаками, более предпочтительно по меньшей мере тремя, четырьмя, пятью или шестью признаками, выбранными из группы, состоящей из улучшенного цвета, улучшенного вкуса, улучшенного запаха, улучшенной растворимости, гелеобразующей способности, улучшенной пенообразующей способности и низкой вязкости, в частности, при сравнении с изолятом белка, полученным способом, включающим первую стадию щелочной экстракции, за которой следует вторая стадия кислотного осаждения, также упоминаемым в настоящей заявке как «стандартный рН-метрический способ», и предпочтительно при сравнении с коммерческими изолятами белка.

Стандартный рН-метрический способ, например, включает первую стадию щелочной экстракции при рН 9, например, при 55°C в течение 30 минут, и вторую стадию кислотного осаждения при рН 4,5, например, при 55°C в течение 15 минут.

Стандартный рН-метрический способ может, в частности, включать:

- первую стадию щелочной экстракции при рН 9, предпочтительно при 55°C, предпочтительно с NaOH, предпочтительно в течение 30 минут, с последующим одним или двумя разделениями твердого вещества/жидкости для получения надосадочной жидкости;
- вторую стадию кислотного осаждения полученной надосадочной жидкости при рН 4,5, предпочтительно при 55°C, предпочтительно серной кислотой, предпочтительно в течение 15 минут, для получения осадка;
- при необходимости, стадию промывания полученного осадка, предпочтительно водой при рН 4,5, с последующим разделением твердого вещества и жидкости;
- при необходимости, стадию нейтрализации при рН от 6,8 до 7 с NaOH;
- при необходимости, стадию термообработки, например, при 90°C в течение 90

секунд; и

- при необходимости, стадию сушки, предпочтительно в распылительной сушилке.

Стандартный рН-метрический способ проиллюстрирован в Примере 5.

Стандартный рН-метрический способ не включает дополнительных стадий, в частности, направленных на улучшение органолептических, функциональных и/или питательных свойств изолята белка.

Цвет, вкус и запах, в частности, определяют органолептические качества белкового изолята.

Под «белковым изолятом, имеющим улучшенную окраску» в настоящей заявке подразумевается, что белковый изолят, представленный в виде порошка, имеет менее желтый оттенок (т.е. более низкое значение b^*) и, предпочтительно, является значительно более светлым (т.е. имеет более высокое значение L^*), в частности, по сравнению с порошком белкового изолята, полученным стандартным рН-метрическим способом.

Белковый изолят по изобретению предпочтительно имеет значение b ниже 15, предпочтительно ниже 14, более предпочтительно ниже 13. Напротив, белковый изолят, полученный стандартным рН-метрическим способом, или известные коммерческие белковые изоляты имеют значение b^* более 20, иногда даже более 30.

Цвет может быть оценен любым методом, хорошо известным специалисту в данной области техники. Например, цвет может быть оценен с помощью колориметра в соответствии с методом L^*a^*b , как описано в таблице 14.

Поскольку гранулометрия порошка может влиять на значение L^* , сравнение цвета между двумя порошками следует выполнять для порошков, имеющих сходную гранулометрию.

Под «изолятом белка, обладающим улучшенным запахом» в настоящей заявке подразумевается изолят белка, имеющий нейтральный запах без запаха бобовых, в частности, по сравнению с порошком изолята белка, полученным стандартным рН-метрическим способом.

Запах может быть оценен любым способом, хорошо известным специалисту в данной области техники. Например, может быть использована комиссия по сенсорной оценке для анализа изолята белка в сухой или жидкой форме.

Под «изолятом белка, имеющим улучшенный вкус» в настоящей заявке подразумевается изолят белка, имеющий более нейтральный вкус и/или оставляющий лучшее вкусовое впечатление во рту, в частности, по сравнению с изолятом белка, полученным стандартным рН-метрическим способом.

Изолят белка бобовых по изобретению преимущественно имеет ореховые,

злаковые и/или молочные ноты, тогда как коммерческие образцы или изолят белка, полученный стандартным рН-метрическим способом, имеет гороховый или бобовый привкус.

Вкус может быть оценен любым способом, хорошо известным специалисту в данной области техники. Например, комиссия по сенсорной оценке может быть использована для анализа изолята белка в сухой или жидкой форме.

Растворимость, гелеобразующие свойства, пенообразующая способность и низкая вязкость особенно определяют функциональные свойства белкового изолята.

Под «изолятом белка, обладающим улучшенной растворимостью» в настоящей заявке подразумевается, что растворимость изолята белка, как определено выше, превышает растворимость изолята белка, полученного стандартным рН-метрическим способом.

Растворимость изолята белка по изобретению в 2% растворе белков предпочтительно по меньшей мере на 30% и по меньшей мере на 10% выше при рН 6 и 8, соответственно, чем у изолята белка, полученного стандартным рН-метрическим способом.

Растворимость может быть оценена любым способом, хорошо известным специалисту в данной области техники. Например, приготовление 2% раствора белка при заданном рН и определение содержания белка по методу Кьельдаля в надосадочной жидкости после центрифугирования (15000 г, 10 мин).

Выражение «х% белковый раствор» в настоящей заявке означает раствор, содержащий х г белка на 100 мл раствора.

Растворимость изолята белка по изобретению предпочтительно составляет более 50% при рН 8, более предпочтительно выше 60% при рН 8, более предпочтительно выше 70% при рН 8.

Под «изолятом белка, обладающим гелеобразующим свойством» в настоящей заявке подразумевается, что белки из белкового изолята обладают способностью формировать гель при нагревании 10% раствора белка, в частности, в отличие от изолята белка, полученного стандартным рН-метрическим способом.

Гелеобразующие свойства могут быть оценены любым методом, хорошо известным специалисту в данной области техники. Например, 10% белковый раствор при рН 7 подвергают температурному скачку от 25°C до 90°C с градиентом 2°C/мин. Измерение вязкости производят с помощью DHR-2-реометра (ТА) с пластиной/линейными размерами пластины 40 мм.

Под «белковым изолятом, обладающим улучшенной пенообразующей

способностью» в настоящей заявке подразумевается, что объем пены 0,1% белкового раствора указанного белкового изолята по меньшей мере в 1,1 раза выше через 20 с и/или по меньшей мере в 15 раз выше через 600 с, чем у белкового раствора из белкового изолята, полученного с помощью стандартного pH-метрического способа.

Пенообразующая способность может быть оценена любым способом, хорошо известным специалисту в данной области техники. Например, объем пены и стабильность 0,1% раствора белка при pH 7 измеряют с помощью устройства FOAMSCAN™.

Под «изолятом белка, имеющим низкую вязкость» в настоящей заявке подразумевается, что вязкость 10% раствора белка из указанного изолята белка составляет менее 0,1 Па/с при скорости сдвига 100 с^{-1} , предпочтительно ниже 0,05 Па/с.

Вязкость 10% раствора белкового изолята преимущественно в 4 раза ниже, предпочтительно в 5 раз ниже, чем у эквивалентного раствора белкового изолята, полученного стандартным pH-метрическим способом при той же скорости сдвига, например, при скорости сдвига 100 с^{-1} .

Вязкость может быть оценена любым способом, хорошо известным специалисту в данной области техники. Например, вязкость измеряют с помощью DHR-2-реометра (ТА) с пластиной/линейными размерами пластины 40 мм.

Сниженное количество α -галактозидов, которые являются антипитательными факторами, в частности, определяет питательные качества изолята белка.

Уменьшенное количество α -галактозидов, в частности, позволяет повысить комфортность пищеварения.

Альфа-галактозиды фактически являются неперевариваемыми сахарами, которые могут вызывать метеоризм и проблемы с пищеварением. Они присутствуют в семенах, таких как горох, чечевица и фасоль.

Под « α -галактозидом» в настоящей заявке подразумевается гликозид, содержащий галактозу, который характеризуется наличием α -связи. Основными α -галактозидами, содержащимися в семенах бобовых, являются раффиноза, стахиоза и вербаскоза.

Таким образом, под «количеством α -галактозидов» в настоящей заявке подразумевается количество раффинозы, стахиозы и вербаскозы.

Альфа-галактозиды составляют примерно от 5 до 18% от массы сухого вещества зрелых семян бобовых.

Для иллюстрации среднее содержание альфа-галактозидов составляет 5 г/100 г в гороховой муке и 10 г/100 г в гороховом концентрате (по данным IMPROVE).

Белковый изолят по изобретению предпочтительно содержит менее 0,10% α -галактозидов от массы белкового изолята.

Напротив, белковый изолят, полученный стандартным рН-метрическим способом, содержит более 1,7% α -галактозидов от массы белкового изолята.

Белковый изолят, как определено выше, предпочтительно характеризуется тем, что он содержит менее 0,10% α -галактозидов от массы белкового изолята и имеет по меньшей мере один признак, предпочтительно по меньшей мере два признака, более предпочтительно по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть или семь признаков, выбранных из группы, состоящей из:

- менее желтого цвета по сравнению с изолятом белка, полученным способом, включающим первую стадию щелочной экстракции, за которой следует вторая стадия кислотного осаждения;
- улучшенного вкуса по сравнению с изолятом белка, полученным способом, включающим первую стадию щелочной экстракции, за которой следует вторая стадия кислотного осаждения;
- нейтрального запаха без запаха бобовых;
- растворимости выше 50% при рН 8 в 2% растворе белка;
- улучшенной пенообразующей способности по сравнению с изолятом белка, полученным способом, включающим первую стадию щелочной экстракции, за которой следует вторая стадия кислотного осаждения;
- гелеобразующего свойства; и
- низкой вязкости.

Предпочтительный белковый изолят, как определено выше, характеризуется тем, что указанный белковый изолят:

- содержит по меньшей мере 80% белков в пересчете на сухое вещество,
- содержит менее 0,10% α -галактозидов от массы изолята белка,
- имеет (i) менее желтый цвет по сравнению с изолятом белка, полученным способом, включающим первую стадию щелочной экстракции, за которой следует вторая стадия кислотного осаждения, и/или (ii) растворимость выше 50% при рН 8 в 2% растворе белка, и
- при необходимости имеет (i) улучшенный вкус по сравнению с изолятом белка, полученным способом, включающим первую стадию щелочной экстракции, за которой следует вторая стадия кислотного осаждения, и/или (ii) нейтральный аромат без запаха бобовых.

Предпочтительный белковый изолят, как определено выше, более конкретно характеризуется тем, что указанный белковый изолят:

- содержит по меньшей мере 80% белков в пересчете на сухое вещество,

- содержит менее 0,10% α -галактозидов от массы изолята белка,
- имеет (i) значение b ниже 15, предпочтительно ниже 14, более предпочтительно ниже 13 и/или (ii) растворимость выше 50% при pH 8 в 2% растворе белка, и
- при необходимости имеет (i) вкус, характеризующийся ореховыми, злаковыми и/или молочными нотами, и/или (ii) нейтральный запах без запаха бобовых.

Изолят белка бобовых, как определено выше, в частности изолят белка гороха или изолят белка конских бобов по изобретению, в частности, характеризуется улучшенным цветом, улучшенным вкусом, улучшенным ароматом, улучшенной растворимостью, гелеобразующими свойствами, улучшенной пенообразующей способностью, низкой вязкостью и уменьшенным количеством из α -галактозидов, в частности, по сравнению с изолятом белка, полученным способом, включающим стадию щелочной экстракции с последующей стадией кислотного осаждения.

Композиция, содержащая белковый изолят

Настоящее изобретение также относится к композиции, содержащей по меньшей мере один белковый изолят, как определено выше.

Композиция, как определено выше, может содержать от 0,01% до 99% изолята белка, причем процентное содержание выражается от массы композиции.

Композиция, как определено выше, может, например, содержать от 0,01% до 5% изолята белка, предпочтительно от 0,1% до 5% изолята белка, более предпочтительно от 1% до 5% изолята белка, где процентное содержание выражается от массы композиции, в частности, когда используют изолят белка в качестве функционального агента.

Альтернативно, композиция, как определено выше, может содержать от 5% до 90% изолята белка, предпочтительно от 5% до 80% изолята белка, более предпочтительно от 5% до 70% изолята белка, более предпочтительно от 5% до 60% изолята белка, еще более предпочтительно от 5% до 50% изолята белка, например, от 5% до 40% изолята белка или от 5% до 30% изолята белка, причем процентное содержание выражается от массы композиции, в частности, когда изолят белка используют в качестве питательного агента.

Если в композиции используют по меньшей мере два изолята белка, как определено выше, они предпочтительно происходят из разных родов и/или видов бобовых.

Если в композиции используют по меньшей мере два изолята белка, как определено выше, вышеуказанные процентные соотношения соответствуют общей массе изолятов белков по изобретению.

Композиция, как определено выше, предпочтительно является пищевой композицией, кормовой композицией (такой как, без ограничения указанным, корм для

аквакультуры), кормовой композицией для домашних животных, косметической композицией, нутрацевтической композицией или фармацевтической композицией.

Пищевая композиция, в частности, для потребления человеком, может, например, включать или состоять из заменителя или аналога мяса, заменителя или аналога молочных продуктов, закусочного продукта, зернового продукта или функционального продукта, подходящего для спортивного питания. Пищевая композиция может, например, включать или состоять из йогурта на растительной основе, напитка на растительной основе или закусочного продукта с высоким содержанием белка.

Применение изолята белка

Благодаря своим питательным качествам и функциональным свойствам, в частности, гелеобразующим свойствам и пенообразующей способности, изолят белка, как определено выше, может использоваться в качестве питательного ингредиента, в частности, чтобы сделать пищеварение более комфортным и/или в качестве функционального ингредиента, например, в качестве пенообразователя и/или в качестве гелеобразующего агента.

Таким образом, настоящее изобретение также относится к использованию изолята белка, как определено выше, в качестве питательного ингредиента, например, чтобы сделать пищеварение более комфортным, и/или в качестве функционального ингредиента, например, в качестве пенообразователя и/или в качестве гелеобразующего агента, в частности, в композиции, как определено выше.

Способ получения белкового изолята

Таким образом, настоящее изобретение относится к способу получения изолята белка, в частности, как определено выше, где указанный способ включает следующие последовательные стадии:

(а) промывание указанных частей растений в кислых условиях, с получением промытых кислотой частей растений;

(а') при необходимости, промывание указанных промытых кислотой частей растений водным раствором;

(b) обеспечение контакта указанных промытых кислотой частей растений, полученных на стадии (а) или (а'), с щелочным раствором; и

(с) извлечение жидкой фракции, с получением белкового изолята, имеющего чистоту по меньшей мере 80%, предпочтительно равную или превышающую 85%.

Способ, как определено выше, предпочтительно не включает никакого кислотного осаждения, предпочтительно любую стадию осаждения, в частности, для получения изолята белка, имеющего чистоту по меньшей мере 80%, предпочтительно равную или

превышающую 85% на стадии (с).

Способ, как определено выше, предпочтительно не включает никакой стадии осаждения.

Способ, как определено выше, предпочтительно не включает никакой стадии мембранной фильтрации.

Способ, как определено выше, предпочтительно не включает какой-либо стадии удаления жира из частей растения.

Способ, как определено выше, преимущественно обеспечивает процесс фракционирования крахмала и волокон без денатурации крахмала.

Стадия промывания (а), стадия отмывания (а)' и стадия экстракции (включающая стадии (b) и (с)), в частности, определены ниже.

В предпочтительном варианте осуществления белковый изолят представляет собой бобовое растение, причем указанное бобовое растение предпочтительно не является соей, более предпочтительно не является соей культурной.

Стадия промывания

Стадия (а) способа по изобретению заключается в промывании частей растений, как определено в разделе «Растения и части растений» выше, в кислых условиях, с получением в результате частей растений, промытых кислотой.

Части растения предпочтительно обеспечивают в виде лущеных семян или муки.

Мука может характеризоваться тем, что 90% зерен имеют размер частиц менее 300 мкм (также называемая D90-300 мкм) или менее 200 мкм (также называемая D90-200 мкм).

Часть растения предпочтительно не является обезжиренной частью растения.

Под «кислотными условиями» в настоящей заявке подразумевается, что промывающий раствор, которым промывают указанные части растений, имеет рН менее 7. Предпочтительно, рН указанной стадии промывания составляет от 3,5 до 5, более конкретно от 4 до 4,5.

Указанный промывающий раствор обычно может представлять собой подкисленную воду. Указанная подкисленная вода может быть получена с применением слабой кислоты, такой как лимонная кислота, или с применением сильной кислоты, такой как серная кислота.

Указанное промывание может быть осуществлено любым способом, хорошо известным специалисту в данной области техники. Как правило, указанные части растения могут быть смешаны с указанной подкисленной водой и выдержаны в течение от 5 мин до 30 мин, в частности, от 10 мин до 20 мин.

В конкретном варианте осуществления упомянутую стадию промывания выполняют при перемешивании.

В еще одном конкретном варианте осуществления упомянутую стадию промывания выполняют при температуре, составляющей от 10°C до 60°C, более предпочтительно от 12°C до 55°C, еще более предпочтительно от 20°C до 50°C. В конкретном варианте осуществления упомянутую стадию промывания выполняют при температуре, составляющей от 10°C до 20°C, более конкретно, от 12°C до 15°C. В альтернативном варианте осуществления упомянутую стадию промывания выполняют при температуре, составляющей от 50°C до 60°C, более конкретно, от 50°C до 55°C.

В предпочтительном варианте осуществления стадию промывания выполняют при температуре, составляющей от 52°C до 58°C, например, около 55°C.

В конкретном варианте осуществления указанные промытые кислотой части растений извлекают в конце указанной стадии промывания путем разделения твердого вещества и жидкости.

Методики разделения твердого вещества и жидкости хорошо известны специалисту в данной области техники и включают флотацию, осаждение, центрифугирование, фильтрацию осадка, просеивание и связывание. В конкретном варианте осуществления указанное разделение твердого вещества и жидкости осуществляют центрифугированием.

Как будет понятно специалисту в данной области техники, представляющие интерес белки, включенные в части растений, промытые на стадии (а) способа по изобретению, не растворимы при кислотном pH. Напротив, молекулы, ответственные за потенциальные неприятные запахи, а также альбуминовая фракция указанных частей растения, обычно растворимы в таких условиях.

Неожиданно альфа-глюкозиды также растворяются во время стадии (а).

Соответственно, представляющие интерес белки обычно извлекают в твердой фазе после разделения твердого вещества и жидкости, тогда как молекулы, ответственные за потенциальные неприятные запахи, α -галактозиды, желтую окраску и альбумин, обычно удаляют в виде жидкой фазы после разделения твердого вещества и жидкости.

В конкретном варианте осуществления указанные промытые кислотой части растений, извлеченные в конце указанной стадии промывания, имеют pH, составляющий от 3,5 до 5, более конкретно от 4 до 4,5.

В конкретном варианте осуществления указанная стадия промывания может быть повторена. Однако предпочтительно указанную стадию промывания выполняют только один раз.

Стадия отмыwania

В конкретном варианте осуществления способ по изобретению дополнительно включает между стадией промывания (а) и стадией обеспечения контакта (b) стадию отмыwania указанных частей растений, промытых кислотой, водным раствором.

Стадия отмыwania позволяет повысить чистоту белкового изолята.

Указанный водный раствор предпочтительно представляет собой воду, в частности ультрачистую воду.

Указанное отмыwanie может быть осуществлено любым способом, хорошо известным специалисту в данной области техники. Как правило, указанные промытые кислотой части растений могут быть смешаны с указанным водным раствором и выдержаны в течение от 5 мин до 30 мин, в частности, от 10 мин до 20 мин.

В конкретном варианте осуществления упомянутую стадию отмыwania выполняют при перемешивании.

В еще одном конкретном варианте осуществления упомянутую стадию отмыwania выполняют при температуре, составляющей от 10°C до 60°C, более предпочтительно от 12°C до 55°C, еще более предпочтительно от 20°C до 50°C. В конкретном варианте осуществления упомянутую стадию отмыwania выполняют при температуре, составляющей от 10°C до 20°C, более конкретно, от 12°C до 15°C. В альтернативном варианте осуществления упомянутую стадию промывания выполняют при температуре, составляющей от 50°C до 60°C, более конкретно, от 50°C до 55°C.

В предпочтительном варианте осуществления стадию отмыwania выполняют при температуре, составляющей от 52°C до 58°C, например, около 55°C.

В конкретном варианте осуществления указанные отмытые после промывания кислотой части растений извлекают в конце указанной стадии отмыwania путем разделения твердого вещества и жидкости.

Методики разделения твердого вещества и жидкости хорошо известны специалисту в данной области техники и включают флотацию, осаждение, центрифугирование, фильтрацию осадка, просеивание и присоединение. В конкретном варианте осуществления указанное разделение твердого вещества и жидкости осуществляют центрифугированием.

В конкретном варианте осуществления указанные отмытые после промывания кислотой части растений, извлеченные в конце указанной стадии отмыwania, имеют рН, составляющий от 3,5 до 5, более конкретно, от 3,5 до 4.

В конкретном варианте осуществления указанная стадия отмыwania может быть повторена. Предпочтительно указанную стадию отмыwania выполняют дважды.

Стадия экстракции

Стадия (b) способа по изобретению заключается в обеспечении контакта промытых кислотой частей растений (или отмытых после промывания кислотой частей растений, когда выполняют стадию отмывания) с щелочным раствором.

Под «щелочным раствором» в настоящей заявке подразумевается раствор с рН выше 7, предпочтительно рН выше 8, более предпочтительно рН 9.

В конкретном варианте осуществления указанные промытые кислотой части растений смешивают с водным раствором, таким как вода, и затем рН указанной смеси доводят до щелочного рН, в частности до рН выше 7, предпочтительно рН выше 8, более предпочтительно рН 9.

В альтернативном варианте осуществления указанные промытые кислотой части растений смешивают с щелочным раствором, который имеет рН от 7 до 9, в частности рН 7, 8 или 9.

Указанная стадия обеспечения контакта может быть осуществлена любым способом, хорошо известным специалисту в данной области техники. Как правило, указанные промытые кислотой части растений могут быть смешаны с указанным раствором и выдержаны в течение от 5 мин до 30 мин, в частности, от 10 мин до 20 мин.

В конкретном варианте осуществления упомянутую стадию обеспечения контакта выполняют при перемешивании.

Предпочтительно, указанные промытые кислотой части растений не находятся в форме суспензии во время указанной стадии обеспечения контакта.

В еще одном конкретном варианте осуществления упомянутую стадию обеспечения контакта выполняют при температуре, составляющей от 10°C до 60°C, более предпочтительно от 12°C до 55°C, еще более предпочтительно от 20°C до 50°C. В конкретном варианте осуществления указанную стадию обеспечения контакта выполняют при температуре, составляющей от 10°C до 20°C, более конкретно, от 12°C до 15°C. В альтернативном варианте осуществления указанную стадию обеспечения контакта выполняют при температуре, составляющей от 50°C до 60°C, более конкретно, от 50°C до 55°C.

Стадия (c) способа по изобретению заключается в выделении жидкой фракции, которая соответствует изоляту белка, полученному способом по изобретению.

Действительно, представляющие интерес белки обычно растворимы при щелочном рН, что позволяет отделить их от других компонентов частей растений, обычно нерастворимых при таком рН, таких как фракции проламина и глютелина.

В конкретном варианте осуществления упомянутую стадию извлечения выполняют

при температуре, составляющей от 10°C до 60°C, более конкретно, от 12°C до 55°C, и в частности, от 20°C до 50°C. В конкретном варианте осуществления указанную стадию извлечения выполняют при температуре, составляющей от 10°C до 30°C, предпочтительно от 10°C до 20°C, более предпочтительно от 12°C до 15°C. В альтернативном варианте осуществления упомянутую стадию извлечения выполняют при температуре, составляющей от 50°C до 60°C, более конкретно, от 50°C до 55°C.

Стадию экстракции, т.е. обе стадии (b) и (c), предпочтительно выполняют при температуре 30°C или ниже. Температура выше 30°C действительно может привести к разложению крахмала, а также к изменению качества белкового изолята.

В конкретном варианте осуществления указанную жидкую фракцию извлекают в конце указанной стадии извлечения путем разделения твердого вещества и жидкости.

Методики разделения твердого вещества и жидкости хорошо известны специалисту в данной области техники и включают флотацию, осаждение, центрифугирование, фильтрацию осадка, просеивание и присоединение. В конкретном варианте осуществления указанное разделение твердого вещества и жидкости осуществляют центрифугированием.

Авторы настоящего изобретения продемонстрировали, что примерно 65% белков, присутствующих в частях растений, были экстрагированы с применением способа по изобретению, выход которого аналогичен выходу известных способов экстракции. Кроме того, способ по изобретению позволяет получать белковые изоляты с чистотой выше 80%, предпочтительно выше 85%, как в лабораторном масштабе, так и в полупромышленном масштабе.

Однако способ по изобретению не требует какой-либо стадии осаждения, в частности, какой-либо стадии кислотного осаждения и какой-либо стадии мембранной фильтрации для получения изолята белка, демонстрирующего такой уровень чистоты. Соответственно, в контексте изобретения белковые изоляты обычно получают непосредственно на упомянутой стадии извлечения (c). Как будет понятно специалисту в данной области техники, факт отсутствия какой-либо стадии осаждения позволяет избежать денатурации экстрагированных белков, присутствующих в изолятах, что, таким образом, улучшает качество изолятов белка.

Под «стадией осаждения» в настоящей заявке подразумевается стадия, направленная на осаждение белков, присутствующих в образце. Такая стадия осаждения хорошо известна специалисту в данной области техники и обычно включает кислотное осаждение, осаждение органическим растворителем, термическое осаждение, осаждение ионной силой и их комбинации, такие как кислотное и термическое осаждение. Стадию

кислотного осаждения обычно проводят при изоэлектрическом значении рН глобулинов, например, при рН 6 или ниже, таком как рН 5 или 4 или ниже, предпочтительно с применением соляной кислоты (HCl).

Под «стадией мембранной фильтрации» в настоящей заявке подразумевается стадия, направленная на отделение белков от жидкого образца. Такая стадия мембранной фильтрации хорошо известна специалисту в данной области техники и включает микрофильтрацию, нанофильтрацию, ультрафильтрацию, обратный осмос, мембранную хроматографию, высокоэффективную фильтрацию тангенциальным потоком и электрофоретический мембранный контактор.

Как будет понятно специалисту в данной области техники, стадия осаждения (в частности, стадия кислотного осаждения) или стадия мембранной фильтрации не применяются для получения изолята белка, имеющего чистоту выше 80%, предпочтительно выше 85% по способу согласно изобретению. Однако, если специалист в данной области техники желает дополнительно очистить белки указанного изолята или дополнительно экстрагировать специфические белки указанного изолята, такая стадия осаждения и/или стадия мембранной фильтрации может быть применена к белковому изоляту, полученному способом по изобретению.

Способ по изобретению может быть дополнительно использован для последовательной экстракции белков, обычно при различных значениях рН.

В этом конкретном варианте осуществления указанные стадии экстракции (b) и (c) повторяют по меньшей мере один раз при более высоком рН.

Такое повторение позволяет последовательно экстрагировать различные белки, растворимые при разном щелочном рН.

Например, упомянутая стадия экстракции (b) может быть дополнительно выполнена при рН 7, а затем повторена, после упомянутой стадии извлечения (c), при рН 8 и, например, повторена еще раз при рН 9.

Способ, определенный выше для получения изолята белка, может, например, включать следующие последовательные стадии:

(a) промывание указанных частей растений в кислых условиях с получением промытых кислотой частей растений;

(a') при необходимости, отмывание указанных промытых кислотой частей растений водным раствором, например, один или два раза;

(b) обеспечение контакта указанных промытых кислотой частей растений, полученных на стадии (a) или (a'), с щелочным раствором при первом значении рН;

(c) извлечение жидкой фракции;

(b') обеспечение контакта указанной жидкой фракции, полученной на стадии (с), с щелочным раствором при втором значении рН;

(с') извлечение жидкой фракции;

(b'') обеспечение контакта указанной жидкой фракции, полученной на стадии (с'), с щелочным раствором при третьем значении рН; и

(с'') извлечение жидкой фракции;

тем самым получая белковый изолят, демонстрирующий чистоту выше 80%,

в котором первое значение рН ниже или равно второму значению рН, а второе значение рН ниже или равно третьему значению рН, и

при этом способ предпочтительно не включает никакой стадии кислотного осаждения, предпочтительно любой стадии осаждения и, при необходимости, не включает никакой стадии мембранной фильтрации.

Например, в способе, как определено выше, первое значение рН равно 7, второе значение рН равно 8, а третье значение рН равно 9.

Дополнительные стадии

Способ по изобретению может дополнительно включать после упомянутой стадии извлечения (с) необязательные дополнительные стадии, обычно дополнительные стадии, полезные для стабилизации, консервирования, концентрирования или упаковки указанных изолятов белка.

В конкретном варианте осуществления способ по изобретению дополнительно включает после упомянутой стадии извлечения (с) стадию нейтрализации, стадию термической обработки, стадию концентрирования и/или стадию сушки.

Стадии нейтрализации хорошо известны специалисту в данной области техники и обычно включают регуляцию рН белковых изолятов до значения примерно 7.

Стадии термической обработки хорошо известны специалисту в данной области техники и направлены на стабилизацию белковых изолятов. Например, термическую обработку можно выполнять в трубчатом теплообменнике, например, при температуре выше 70°C, например, при 90°C, в течение небольшого периода, например, от 30 с до 2 мин, обычно в течение 90 с.

Стадия концентрирования может быть выполнена любым способом, хорошо известным специалисту в данной области техники, таким как выпаривание.

Стадия сушки может быть выполнена любым способом, хорошо известным специалисту в данной области техники, например, распылительной сушкой.

Настоящее изобретение будет дополнительно проиллюстрировано приведенными ниже чертежами и примерами.

Краткое описание чертежей

Фигура 1: Описание способа в пилотном масштабе.

Фигура 2: Оценка пенообразующей способности.

Фигура 3: Растворимость белков.

Фигура 4: Гелеобразующие свойства белков, полученных стандартным рН-метрическим способом.

Фигура 5: Гелеобразующие свойства белков, полученных способом по изобретению.

Фигура 6: Вязкость раствора белков (10% DS).

Фигура 7: Изменение вязкости в зависимости от содержания на основе сухого вещества (DS).

Примеры

Пример 1: Разработка способа на конских бобах

Целью этих предварительных серий тестов было определение основных стадий процесса экстракции и очистки белков. Они были выполнены с применением муки из лущеных конских бобов в лабораторном масштабе.

Материалы и методы описаны в Таблице 2.

Таблица 2: Материалы и методы

Стадия	Принцип	Материалы и методы
Кислотное промывание 1	Смешивание муки и подкисленной воды с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Мука: лущеные конские бобы, измельченные в штифтовой дробилке. Ультрачистая вода, подкисленная лимонной кислотой. Количество порошка лимонной кислоты = 3% от количества муки. Отношение муки к подкисленной воде: 1/6 Q лимонной кислоты + Q воды + Q муки = Q_{AW1} Температура: 50°C Целевое значение рН после добавления муки: 4,5 Время перед разделением твердого вещества и жидкости: 10 минут Перемешивание: магнитная мешалка
Кислотное промывание 2	Смешивание осадка от кислотного промывания 1 и подкисленной воды, с последующим разделением твердого вещества и жидкости.	Вода, очищенная обратным осмосом, подкисленная лимонной кислотой. Отношение лимонной кислоты к воде: эквивалентно кислотному промыванию 1. Добавление подкисленной воды: достаточное количество для Q_{AW1} Температура: 50°C рН после добавления осадков: 3,6

		Время до разделения твердого вещества и жидкости: 10 минут Перемешивание: магнитная мешалка
Стадия отмывания	Смешивание осадков от кислотного промывания и воды, с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Добавление ультрачистой воды: достаточное количество для Q_{AW1} Температура: 50°C pH после добавления осадков: 3,5 Время до разделения твердого вещества и жидкости: 10 минут Перемешивание: магнитная мешалка
Экстракция	Смешивание осадков от стадии отмывания и воды при щелочном pH, с последующим разделением твердого вещества и жидкости.	Ультрачистая вода: достаточное количество для Q_{AW1} Температура: 50°C Корректировка pH после добавления осадков: 9 Время до разделения твердого вещества и жидкости: 10 минут Перемешивание: магнитная мешалка
Повторное промывание осадков	Смешивание осадков от экстракции и воды, с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Ультрачистая вода: достаточное количество для Q_{AW1} Температура: 50°C pH после добавления осадков: 9 Время до разделения твердого вещества и жидкости: 10 минут Перемешивание: магнитная мешалка
Разделение твердого вещества и жидкости		Лабораторная центрифуга: Jouan KR 41 4000 g в течение 10 минут
Анализ белка		Анализ азота по Кьельдалю (Foss®) в соответствии с методикой ISO 5983-2. Содержание белка (Pt) представляет собой содержание азота, умноженное на 6,25.
Анализы твердых веществ и минерального остатка		Система Prepash (Precisa®)

Результаты и обсуждение

Как показано в таблице 3, комбинация кислотного промывания с последующей щелочной экстракцией позволила получить белковый концентрат. Чистота экстракта выше, чем 80% белка на основе сухого вещества, без осаждения.

Был проведен второй тест, чтобы уменьшить потери белков на стадии промывания и повысить чистоту конечного экстракта.

Результаты анализа и массовый баланс представлены в таблице 3. Конечная чистота экстракта составила более 85%, без осаждения. Кроме того, выход экстракции белка был сопоставим со стандартным pH-метрическим способом:

- 17% кормовых белков было извлечено из надосадочной жидкости от промывания и отмывания. Эта фракция соответствует фракции альбумина, которую извлекают из

надосадочной жидкости от осадка в стандартном рН-метрическом способе;

- 11% кормовых белков оставались нерастворимыми после экстракции. Это соответствует фракциям проламина и глютелина, которые также не извлекают с помощью стандартного рН-метрического способа;

- 65% белков были экстрагированы в щелочных условиях. Этот выход сопоставим со стандартным рН-метрическим способом.

Вывод

Способ по изобретению позволяет получать неосажденный белковый изолят. На выход экстракции это не влияет по сравнению с рН-метрическими способами из предшествующего уровня техники.

Таблица 3: Массовый баланс и результаты анализа

Пример	Чистота белка из щелочного экстракта	Выход глобулинов (щелочной экстракт)	Выход альбуминов (кислый экстракт)	Выход нерастворимых белков
1	81%	46%	36%	12%
2	85%	65%	17%	11%

Пример 2: Усовершенствование способа для конских бобов

Целью этой серии тестов была оптимизация способа за счет уменьшения количества вводимых веществ (кислоты). Она была выполнена с применением муки из лущеных конских бобов в лабораторном масштабе.

Материалы и методы описаны в таблице 4.

Таблица 4: Материалы и методы

Стадия	Принцип	Материалы и методы
Кислотное промывание Вариант 1: комбинация слабой кислоты и основания	Смешивание муки и подкисленной воды с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Мука: лущеные конские бобы, дробленые до $D_{90}=300$ мкм и $D_{50}=100$ мкм. Ультрачистая вода, подкисленная лимонной кислотой + цитратом натрия Количество порошка лимонной кислоты = 3% от количества муки Отношение муки к подкисленной воде: 1/6 Q лимонной кислоты + Q воды + Q муки = Q_{AW1} Температура: 50°C Целевое значение рН после добавления муки: 4,5 Время до разделения твердого вещества и жидкости: 10 минут Перемешивание: магнитная мешалка
Кислотное промывание Вариант 2: сильная кислота	Смешивание муки и подкисленной воды с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Мука: дробленые лущеные конские бобы Подкисленная RO вода с серной кислотой Количество серной кислоты на основе сухого вещества = 1% от количества муки Отношение муки к подкисленной воде: 1/6 Q лимонной кислоты + Q воды + Q муки = Q_{AW1}

		Температура: 50°C Целевое значение pH после добавления муки: 4,5 Время до разделения твердого вещества и жидкости: 10 минут Перемешивание: магнитная мешалка
Стадия отмывания 1	Смешивание осадков от кислотного промывания и воды, с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Ультрачистая вода: достаточное количества для Q _{AW1} Температура: 50°C pH после добавления осадков: 3,5 Время до разделения твердого вещества и жидкости: 10 минут Перемешивание: магнитная мешалка
Стадия отмывания 2	Смешивание осадков от кислотного промывания с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Ультрачистая вода: достаточное количество для Q _{AW1} Температура: 50°C pH после добавления осадков: 3,5 Время до разделения твердого вещества и жидкости: 10 минут Перемешивание: магнитная мешалка
Экстракция	Смешивание осадков от стадии отмывания и воды при щелочном pH, с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Ультрачистая вода: достаточное количество до Q _{AW1} Температура: 50°C Коррекция pH после добавления осадков: 7 Время до разделения твердого вещества и жидкости: 10 минут Перемешивание: магнитная мешалка
Повторное промывание осадков	Смешивание осадков от стадии отмывания с водой при щелочном pH с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Ультрачистая вода: достаточное количество для Q _{AW1} Температура: 50°C Корректировка pH после добавления осадков: 9 Время до разделения твердого вещества и жидкости: 10 минут Перемешивание: магнитная мешалка
Разделение твердого вещества и жидкости		Лабораторная центрифуга: Jouan KR 41 4000 g в течение 10 минут
Анализ белка		Анализ азота по Кьельдалю (Foss®) в соответствии с методикой ISO 5983-2. Содержание белка (Pt) представляет собой содержание азота, умноженное на 6,25.
Анализ содержания твердых веществ и минерального остатка		Система Prepash (Precisa®)

Результаты и обсуждение

Как показано в таблице 5, не было никакой существенной разницы в выходе экстракции белков и в чистоте, независимо от соотношения лимонной кислоты и цитрата натрия. Кроме того, буферный эффект не был улучшен добавлением цитрата натрия.

Таблица 5: Влияние pH, слабых кислот и оснований на чистоту и выход извлеченных белков

Анализ	А	В	С
Содержание лимонной кислоты/ муки	3,0%	3,6%	5,5%
Содержание цитрата натрия/ муки	0,0%	2,0%	6,0%
pH промывания	4,45	4,57	4,57
pH отмывания 1	4,52	4,75	4,73
pH отмывания 2	4,6	4,86	4,83
Выход альбуминовой фракции	16%	16%	18%
Выход глютелиновой фракции	16%	18%	16%
Выход глобулиновой фракции	68%	65%	66%
Чистота белка, pH 7	97%	98%	97%
Расчетная чистота белка, pH 9	91%	93%	92%

Согласно этим результатам, нужная чистота и выход экстракции могли быть достигнуты при условии поддержания pH между 4,45 и 4,86.

Однако количество кислоты, относящееся к кормовой муке, было довольно высоким.

Второй набор тестов был проведен с применением сильной кислоты, чтобы уменьшить расход исходных материалов.

Как представлено в таблице 6, применение серной кислоты не повлияло на чистоту экстракта. С другой стороны, потребление ресурсов было значительно сокращено.

Применение сильной кислоты не повлияло на буферный эффект. На стадиях отмывания pH можно поддерживать в диапазоне от 4,6 до 4,7.

Таблица 6: Оценка процесса с применением сильной кислоты

Тест	Д	Е
Содержание серной кислоты/муки	1,1%	1,0%
pH промывания	4,58	4,55
pH отмывания 1	4,63	4,6
pH отмывания 2	4,67	4,59
Выход альбуминовой фракции	20%	16%
Выход глютелиновой фракции	17%	18%
Выход глобулиновой фракции	63%	63%
Чистота белка, pH 7	99%	96%
Расчетная чистота белка, pH 9	94%	94%

Вывод

Способ, включающий кислотное предварительное промывание с последующей щелочной экстракцией, может быть применен с применением сильной кислоты, такой как серная кислота, без ущерба для чистоты белкового экстракта.

Буферный эффект подкисленных осадков был достаточно высоким, чтобы

поддерживать низкий уровень pH на стадиях отмывания. Применение сильной кислоты позволило значительно сократить расход исходных материалов.

Пример 3: Последовательная экстракция

Способ по изобретению может быть использован в качестве основы для разработки ассортимента белков. Кислотное промывание может сопровождаться последовательной экстракцией при различных значениях pH для осуществления разделения белков.

Материалы и методы для предварительного промывания и разделения твердого вещества и жидкости представлены в таблице 4.

Стадии экстракции и анализ жира проводили, как описано в таблице 7.

Таблица 7: Материалы и методы

Стадия	Принцип	Материалы и методы
Экстракция 1	Смешивание осадков от стадии отмывания с водой при нейтральном pH, с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Ультрачистая вода: достаточное количество для Q _{AW1} Температура: 50°C Корректировка pH после добавления осадков: 7 Время до разделения твердого вещества и жидкости: 10 минут Перемешивание: магнитная мешалка
Экстракция 2	Смешивание осадков от стадии отмывания с водой при щелочном pH, с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Ультрачистая вода: достаточное количество для Q _{AW1} Температура: 50°C Корректировка pH после добавления осадков: 8 Время до разделения твердого вещества/жидкости: 10 мин Перемешивание: магнитная мешалка
Экстракция 3	Смешивание осадков от стадии отмывания с водой при щелочном pH, с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Ультрачистая вода: достаточное количество для Q _{AW1} Температура: 50°C Корректировка pH после добавления осадков: 9 Время до разделения твердого вещества/жидкости: 10 мин Перемешивание: магнитная мешалка
Содержание жира		NF ISO 11085, Способ В. Анализ содержания жиров после кислотного гидролиза.

Результаты

Как показано в таблице 8, экстракции при pH 7 и pH 9 позволили получить белковый изолят. При pH 8 чистота белков была ниже 85%. Более 68% глобулиновой фракции было экстрагировано при pH 7.

Таблица 8: Массовый баланс, последовательная экстракция

рН экстракции	Чистота белка от щелочной экстракции	Выход глобулинов (щелочной экстракт)	Выход альбуминов (кислотный экстракт)	Выход нерастворимых белков
7	96%	66%	16%	19%
8	82%			
9	100%			

Был проведен второй тест, в котором за экстракцией при рН 7 непосредственно следовала экстракция при рН 9.

Результаты обобщены в таблице 9. Опять же, основную фракцию глобулинов экстрагировали при рН 7. Чистота белков также была выше при этом рН. Кроме того, содержание жира было значительно выше после экстракции при рН 9.

Таблица 9: Чистота белков и содержание жира в белковой фракции в зависимости от рН экстракции

Условия экстракции	рН 7	рН 9
Чистота белка	98%	80%
Общий выход белка	50%	15%
Выход глобулинов	77%	23%
Содержание жиров	1,2%	11,2%

Вывод:

Способ, включающий кислотное предварительное промывание с последующей щелочной экстракцией, позволил проводить последовательную экстракцию при различных щелочных значениях рН.

Фракционный состав белков менялся в зависимости от рН экстракции.

Кроме того, казалось, что жир может быть выделен в одной конкретной фракции белков. Можно также предположить различные функциональные возможности, поскольку белковые фракции не являются растворимыми при одинаковом рН. Например, фракция, экстрагированная при рН 7, может быть использована в качестве растворимых или быстрорастворимых белков в напитках.

Пример 4: Применение для гороховых белков

Способ по изобретению был применен на семенах желтого гороха. Материалы и методы описаны в таблице 5. Таким образом, семена готовили в виде муки D90=300 мкм и D50=100 мкм.

Чистота щелочного экстракта была выше 85% белков в пересчете на сухое вещество, а выход глобулинов составил 68%, что соответствует результатам для конских бобов.

Таким образом, способ по изобретению подходит для производства гороховых белков.

Пример 5: Сравнение качества гороховых белков

Были проведены два испытания в пилотном масштабе для сравнения обычного рН-метрического способа со способом по изобретению.

Обе технологические схемы представлены на фигуре 1.

Применяемые параметры и аналитические методы обобщены в таблицах 10, 11 и 12.

Таблица 10: Материалы и методы для стандартного рН-метрического способа

Стадия	Принцип	Материалы и методы
Экстракция	Щелочная экстракция белков муки в резервуаре с двойной рубашкой	Вода, очищенная обратным осмосом Температура: 55°C Коррекция рН после добавления осадков: 9, с NaOH Время разделения твердого вещества и жидкости: 30 минут Перемешивание: 3-лопастная мешалка, 150 об./мин
Разделение твердого вещества и жидкости 1	Стадия разделения после экстракции, осаждения и повторного промывания осадка	Декантер Z23, Flottweg Температура: 55°C Центрифужная сила: 3500 - 4000 g Дифференциальная скорость: 5-20 % Импеллер: 135 - 140 мм Скорость входного потока: 400 кг/ч
Разделение твердого вещества и жидкости 2	Используют только для осветления надосадочной жидкости от декантера после экстракции	Тарельчатый сепаратор, Easy-Scale GEA Температура: 55°C Центрифужная сила: 12 000 g Общее удаление шлама/ Частичное удаление шлама: 1/5 Скорость входного потока: 250 кг/час
Осаждение	Кислотное осаждение белков из надосадочной жидкости экстракта	Температура: 55°C рН: 4,5 с серной кислотой Время: 15 минут
Повторное промывание осадка	Повторное промывание осадка в RO воде при рН 4,5, с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Вода, очищенная обратным осмосом Отношение осадка к воде: 1/2
Нейтрализация	Нейтрализация и разведение осадка	рН: 6,8 – 7 с добавлением NaOH Добавление RO воды для снижения вязкости

Тепловая обработка	Стабилизация продукта	Трубчатый теплообменник, Actini Температура: 90°C Время выдерживания: 90 с
Сушка	Стабилизация продукта	Распылительная сушилка Температура воздуха на входе: 185°C Температура воздуха на выходе: 85°C

Таблица 11: Материалы и методы для способа по изобретению

Стадия	Принцип	Материалы и методы
Кислотное промывание	Смешивание муки с подкисленной водой с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Вода, очищенная обратным осмосом Температура: 55°C Целевое значение pH: 4-4,5 с серной кислотой Время до разделения твердого вещества и жидкости: 20 минут Перемешивание: 3-лопастная мешалка, 150 об./мин
Разделение твердого вещества и жидкости 1	Стадия разделения после кислотного промывания, отмывания и экстракции	Декантер Z23, Flottweg Температура: 55°C Центрифужная сила: 3500 - 4000 g Дифференциальная скорость: 5-20% Импеллер: 135 - 140 мм Скорость входного потока: 400 кг/ч
Отмывание 1	Смешивание осадков от кислотного промывания с водой, с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Вода, очищенная обратным осмосом: достаточное количество до Q_{AW} Температура: 55°C 3-лопастная мешалка, 150 об./мин Время: 10 мин
Отмывание 2	Смешивание осадков от отмывания 1 с водой, с последующим разделением твердого вещества и жидкости	Вода, очищенная обратным осмосом: достаточное количество до Q_{AW} Температура: 55°C 3-лопастная мешалка, 150 об./мин Время: 10 минут
Экстракция	Щелочная экстракция белков из отмытых осадков в резервуаре с двойной рубашкой	Вода, очищенная обратным осмосом Температура: 55°C Коррекция pH после добавления осадков: 9, с NaOH Время до разделения твердого вещества и жидкости: 30 минут Перемешивание: 3-лопастная мешалка, 150 об./мин
Разделение твердого вещества и жидкости 2	Используют только для осветления надосадочной жидкости из декантера после экстракции	Тарельчатый сепаратор, Easy-Scale GEA Температура: 55°C Центрифужная сила: 12 000 g Общее удаление шлама/ Частичное удаление шлама: 1/5

		Скорость входного потока: 250 кг/ч
Нейтрализация	Нейтрализация экстракта	pH: 6,8 – 7 с добавлением NaOH
Тепловая обработка	Стабилизация продукта	Трубчатый теплообменник, Actini Температура: 90°C Время выдерживания: 90 с
Концентрирование	Увеличение содержания сухого вещества после распылительной сушки	Испаритель с падающей пленкой, GEA Температура кипения: <50°C Целевая концентрация для вязкости <100 сП
Сушка	Стабилизация продукта	Распылительная сушилка Температура воздуха на входе: 185°C Температура воздуха на выходе: 85°C

Таблица 12: Аналитические методы определения характеристик белков

Анализ	Принцип
Окраска	Оценка цвета с помощью колориметра. Результаты выражают с помощью 3 параметров L*, a* и b*: • L* (яркость), который находится в диапазоне от 0 (черный) до 100 (белый) • a*, который находится в диапазоне от -300 (зеленый) до 299 (красный). • b*, который находится в диапазоне от -300 (синий) до 299 (желтый).
Свойства пенообразования	Свойства пенообразования оценивали с помощью Foamscan (Teclis Scientific) с применением 0,1% раствора белка. Пену формировали путем барботирования воздуха в растворе со скоростью потока 200 мл/мин в течение 30 секунд. Затем в течение 600 секунд регистрировали объем пены и ее стабильность. В качестве эталона для этого испытания использовали яичный белок.
Растворимость	Растворимость белка проверяли на белковых суспензиях с содержанием белка 2% при различных значениях pH. Растворимость белка оценивали по методу Кьельдаля на надосадочной жидкости после центрифугирования (15000 г, 10 мин).
Гелеобразующие свойства	Гелеобразующую способность измеряли на реометре DHR-2 (TA) с пластиной/линейными размерами пластины 40 мм. Использовали 10% белковый раствор с pH 7. К образцу применяли температурный режим: нагревание от 25 до 90°C с градиентом 2°C/мин, стабилизация без колебаний при 90°C в течение 10 минут, охлаждение от 90 до 25°C с градиентом 2,5°C/мин. Во время испытания применяли напряжение 0,1%. Были измерены G' (модуль накопления) и G'' (модуль потерь).
Вязкость	Реологический анализ вязкости проводили при 25°C на реометре DHR-2 (TA) с формой в виде чашки с лопастями. Были использованы различные концентрации продукта. Профиль вязкости измеряли в диапазоне скоростей сдвига от 0,1 с ⁻¹ до 1000 с ⁻¹ .

Результаты:

Как показано в таблице 13, существует значительная разница в цвете между обоими порошками.

Таблица 13: Результаты лабораторных измерений

Данные	L	a	b
Стандарт	89,74	-0,78	20,51
Изобретение	89,79	1,09	12,81

Каждый продукт был оценен как таковой и в виде 4%-го раствора 6 разными людьми (контрольная группа). Интенсивность окрашивания белков, полученных способом по изобретению, была оценена как значительно более низкая, чем у белков, полученных стандартным рН-метрическим способом.

Как показано на фигуре 2, белки, полученные способом по изобретению, обладают более высокой пенообразующей способностью, чем осажденные белки, и пена остается стабильной с течением времени.

Растворимость белков также была значительно улучшена с помощью способа по изобретению, как показано на фигуре 3 и в таблице 14 ниже.

В таблице 14 показана растворимость изолята белка по изобретению по сравнению с продуктами коммерческого типа.

Растворимость белка оценивали путем солюбилизации образца в воде при различном рН и измерения доли белков в надосадочной жидкости после центрифугирования. Образцы белкового изолята по изобретению (далее определяемые как серия 1 и серия 2) демонстрируют гораздо более высокую растворимость при рН 3, 7 и 8, чем образцы коммерческого изолята (далее определяемые как Коммерческий 1 и Коммерческий 2).

Таблица 14. Растворимость образцов при различном рН

Продукты	рН 3	рН 4	рН 5	рН 6	рН 7	рН 8
Серия 1	31	7	7	41	65	79
Серия 2	58	7	8	11	70	80
Коммерческий 1	12	6	6	11	18	22
Коммерческий 2	16	5	6	14	23	29

На фигурах 4 и 5 сравниваются гелеобразующие свойства при термической обработке белков, полученных обоими способами.

Раствор, содержащий 10% белков, полученных способом по изобретению, может формировать гель, в отличие от белков, полученных стандартным рН-метрическим

способом. В этом случае реологические свойства объясняются только вязкостью раствора.

На фигуре 6 показано изменение вязкости 10% раствора сухого вещества в зависимости от напряжения сдвига. Вязкость белков из раствора по изобретению ниже, чем у осажденных, независимо от напряжения сдвига.

Эта вязкость была измерена при различной концентрации для скорости сдвига 100 с^{-1} . Результаты представлены в таблице 15 и на фигуре 7. При эквивалентной скорости сдвига раствор, полученный способом по изобретению, имеет более низкую вязкость, чем осажденный раствор, при любой концентрации.

Таблица 15: Изменение вязкости в зависимости от содержания сухого вещества

Продукт	Концентрация	Вязкость 100 с^{-1} (Па/с)
Стандартный pH-метрический способ	5%	0,01
Изобретение	5%	0,006
Стандартный pH-метрический способ	10%	0,2
Изобретение	10%	0,04
Стандартный pH-метрический способ	15%	0,8
Изобретение	15%	0,6

Вывод

Функциональность и вкус белков бобовых значительно улучшаются благодаря способу, включающему кислотное промывание с последующей щелочной экстракцией, как определено выше.

Эти новые функциональные возможности позволяют расширить область применения изолятов белков, а также снизить производственные затраты. Например, более низкая вязкость позволяет получить более высокую концентрацию перед сушкой, что может значительно снизить потребление энергии.

Пример 6: Другие источники белка

Разработанный выше способ был применен к различным источникам белков. Результаты обобщены в таблице 16.

Таблица 16: Результаты при других растительных источниках

Растительный источник	Выход экстракции	Чистота
Красная чечевица	53%	88%
Фасоль Моджетт	325	82%
Фасоль адзуки	60%	84%

Пример 7: Удаление антипитательных факторов: α -галактозидов

Содержание α -галактозидов измеряли в двух образцах белкового изолята по

изобретению (серия 1 и серия 2), в двух коммерческих образцах белкового изолята (коммерческий 1 и коммерческий 2) и в образце белкового изолята, полученного стандартным рН-метрическим способом.

Таблица 17: Содержание альфа-галактозидов в образцах

Анализ	Серия 1	Серия 2	Коммерческий 1	Коммерческий 2	рН-метрический способ
Раффиноза (г/100 г)	ND	ND	ND	0,22	0,26
Стахиоза (г/100 г)	ND	ND	0,17	0,91	0,9
Вербаскоза (г/100 г)	ND	ND	0,12	0,52	0,64
Общие альфа-галактозиды (г/100 г)	ND	ND	0,29	1,65	1,80

ND: не обнаружено – порог детекции = 0,10%

Как показано в таблице 17, не было обнаружено альфа-галактозидов в двух образцах, серии 1 и серии 2 (порог детекции метода измерения составляет 0,1%). Напротив, коммерческие образцы 1 и 2 содержат соответственно 0,3 и 1,7 г/100 г альфа-галактозидов, а образец изолята белка, полученный стандартным рН-метрическим способом, содержит 1,80 г/100 г.

Для сравнения, среднее содержание альфа-галактозидов составляет 5 г/100 г в гороховой муке и 10 г/100 г в гороховом концентрате (данные IMPROVE).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Изолят белка бобовых из частей растений, который содержит по меньшей мере 80% белков в пересчете на сухое вещество и содержит менее 0,10% альфа-галактозидов от массы этого изолята белка.

2. Изолят белка бобовых по п.1, который имеет по меньшей мере один признак, выбранный из группы, состоящей из:

- менее желтого цвета по сравнению с изолятом белка, полученным способом, включающим первую стадию щелочной экстракции, за которой следует вторая стадия кислотного осаждения;

- улучшенного вкуса по сравнению с изолятом белка, полученным способом, включающим первую стадию щелочной экстракции, за которой следует вторая стадия кислотного осаждения;

- нейтрального аромата без запаха бобовых;

- растворимости выше 50% при pH 8 в 2%-ом растворе белка;

- улучшенной пенообразующей способности по сравнению с изолятом белка, полученным способом, включающим первую стадию щелочной экстракции, за которой следует вторая стадия кислотного осаждения;

- гелеобразующего свойства; и

- низкой вязкости.

3. Композиция, содержащая по меньшей мере один изолят белка бобовых по п.1 или 2.

4. Композиция по п.3, которая представляет собой пищевую композицию, кормовую композицию, кормовую композицию для домашних животных, косметическую композицию, нутрацевтическую композицию или фармацевтическую композицию.

5. Способ получения изолята белка бобовых из частей растений по п.1 или п.2, включающий следующие последовательные стадии:

(а) промывание указанных частей растений в кислых условиях, в результате чего получают промытые кислотой части растений;

(b) обеспечение контакта указанных промытых кислотой частей растений с щелочным раствором; и

(с) извлечение жидкой фракции, обеспечивающее тем самым получение белкового изолята, показывающего чистоту выше 80%,

при этом указанный способ не включает никакой стадии кислотного осаждения.

6. Способ по п.5, в котором pH указанной стадии промывания составляет от 3,5 до

5.

7. Способ по п.5 или п.6, в котором указанные промытые кислотой части растений извлекают в конце указанной стадии промывания путем разделения твердого вещества и жидкости.

8. Способ по любому из пп.5-7, в котором указанные части растений, промытые кислотой, имеют рН, составляющий от 3,5 до 5.

9. Способ по любому из пп.5-8, который дополнительно включает между стадией промывания (а) и стадией обеспечения контакта (b) стадию отмывания указанных частей растений, промытых кислотой, водным раствором.

10. Способ по п.9, в котором указанные промытые кислотой части растений имеют рН, составляющий от 3,5 до 5 после указанной стадии отмывания.

11. Способ по любому из пп.5-10, в котором указанный щелочной раствор, используемый на стадии (b), имеет рН от 7 до 9.

12. Способ по любому из пп.5-11, в котором указанную жидкую фракцию извлекают на стадии (с) путем разделения твердого вещества и жидкости.

13. Способ по любому из пп.5-12, в котором указанные стадии (b) и (с) повторяют при более высоком рН.

14. Способ по любому из пп.5-13, в котором указанный белковый изолят получают непосредственно на указанной стадии извлечения (с).

15. Способ по любому из пп.5-14, дополнительно включающий после указанной стадии извлечения (с) стадию нейтрализации, стадию тепловой обработки, стадию концентрирования и/или стадию сушки.

16. Способ по любому из пп.5-15, в котором указанные части растения являются семенами.

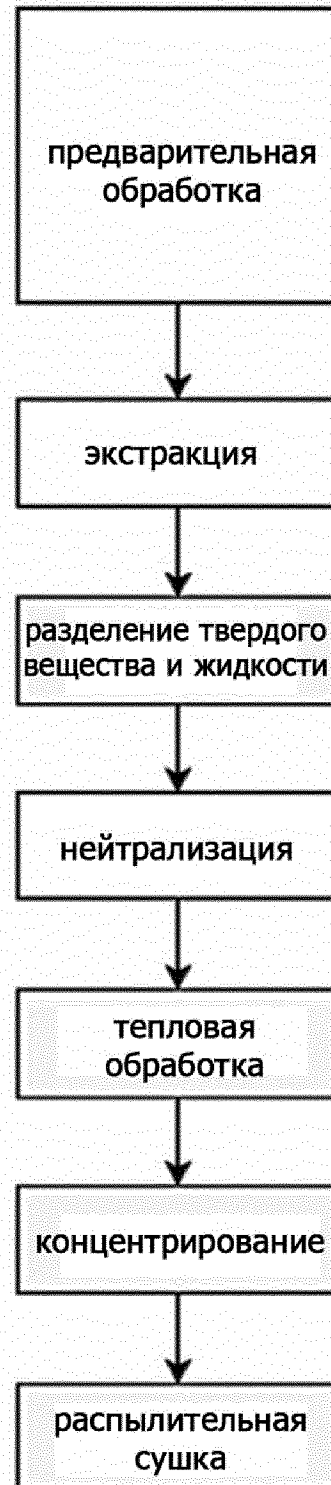
17. Способ по п.16, в котором указанные семена обеспечивают в форме муки на упомянутой стадии промывания (а).

18. Применение изолята белка по п.1 или п.2, или полученного способом по любому из пп.5-17 в качестве пищевого ингредиента, в частности, чтобы сделать пищеварение более комфортным, и/или в качестве функционального агента, в частности, в качестве пенообразующего агента и/или в качестве гелеобразующего агента.

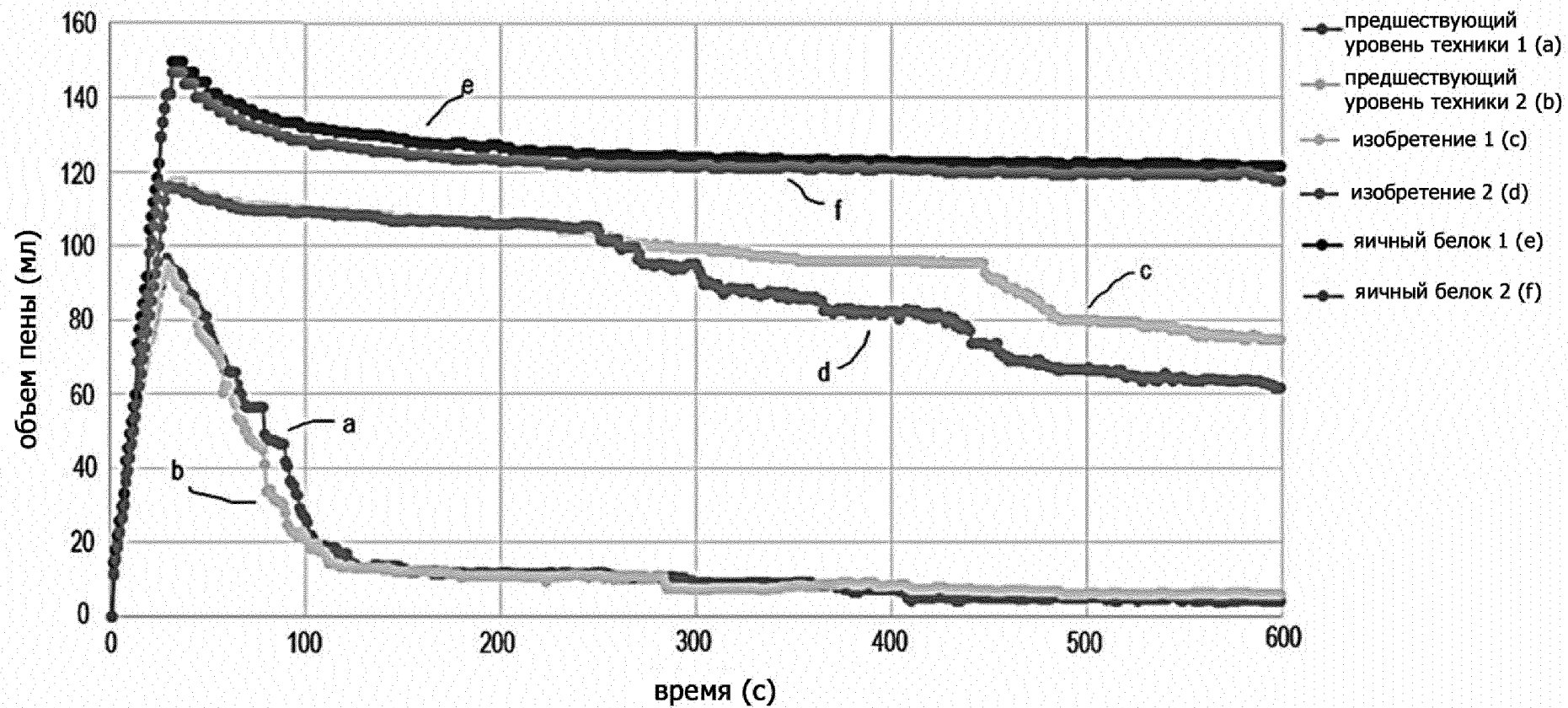
рН-метрический способ
из предшествующего
уровня техники



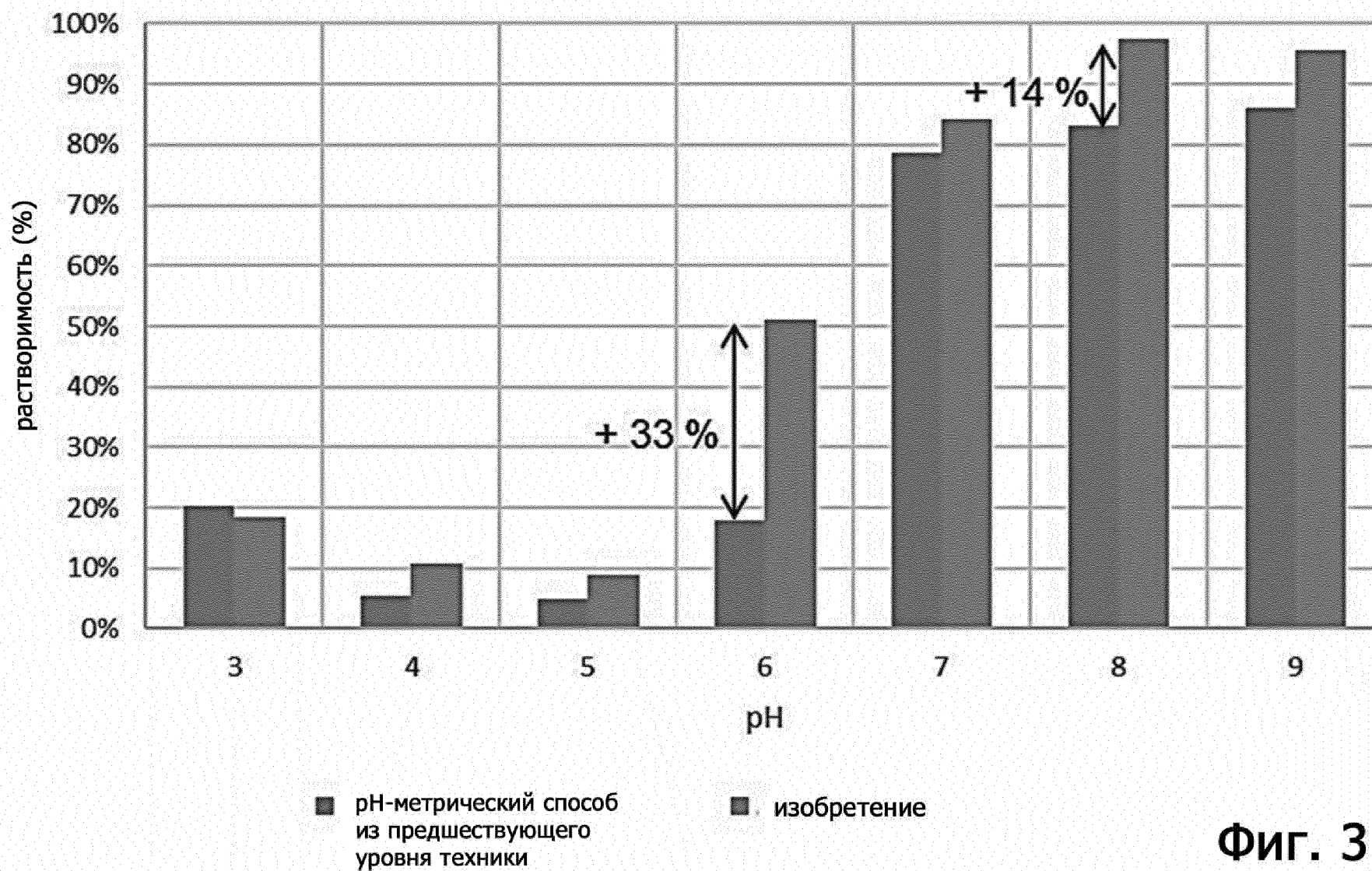
способ
по изобретению



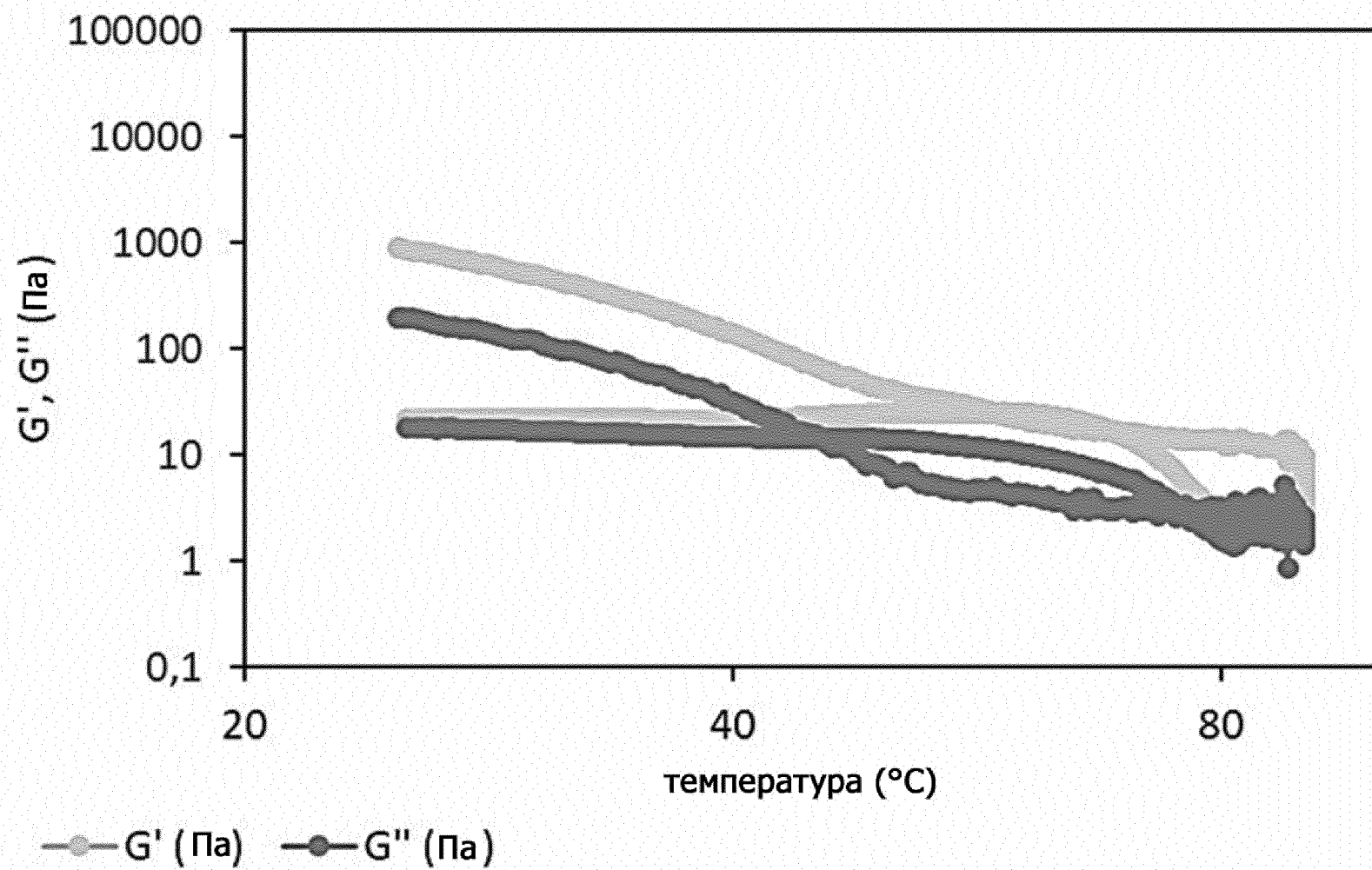
Фиг. 1



Фиг. 2

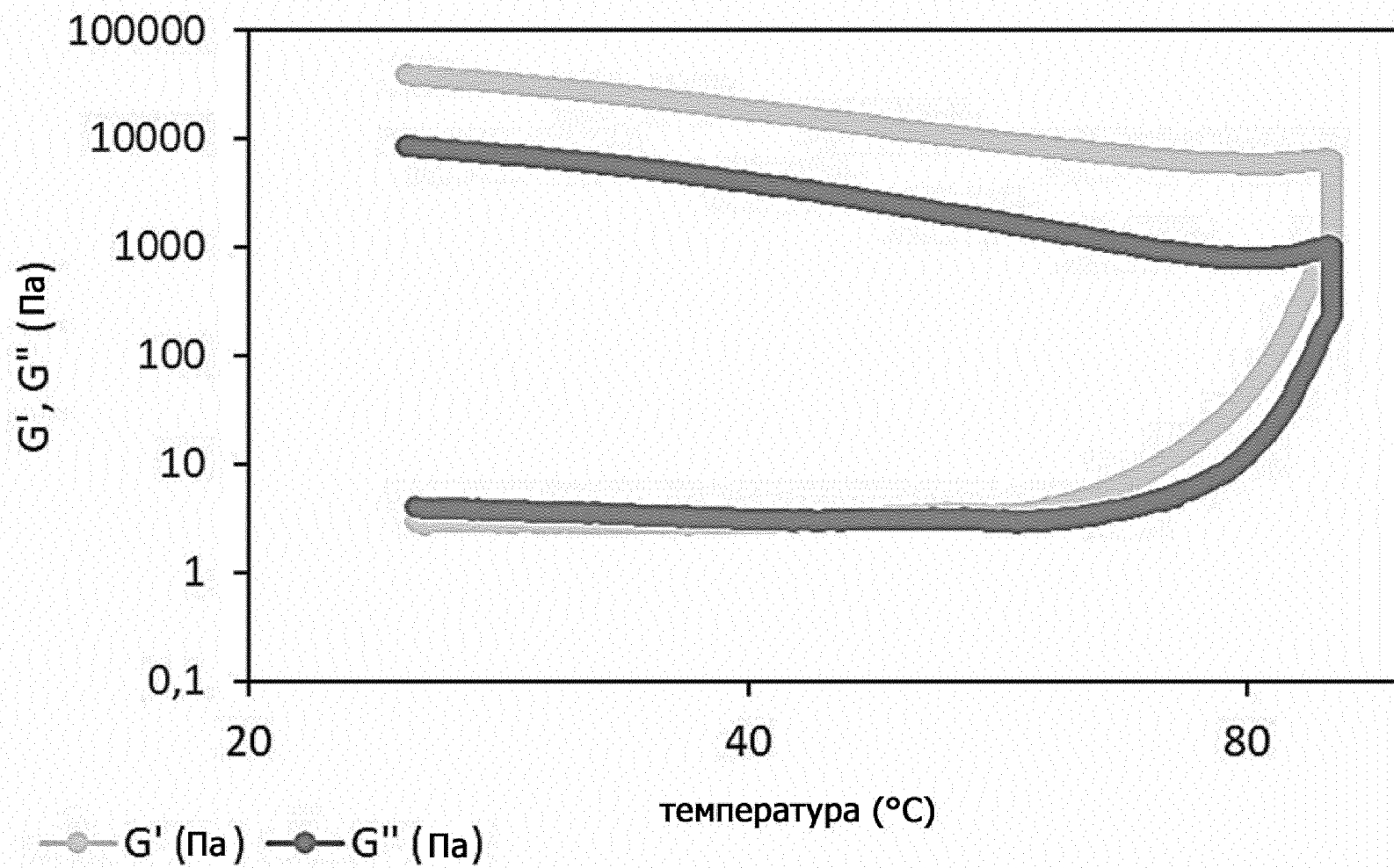


Фиг. 3



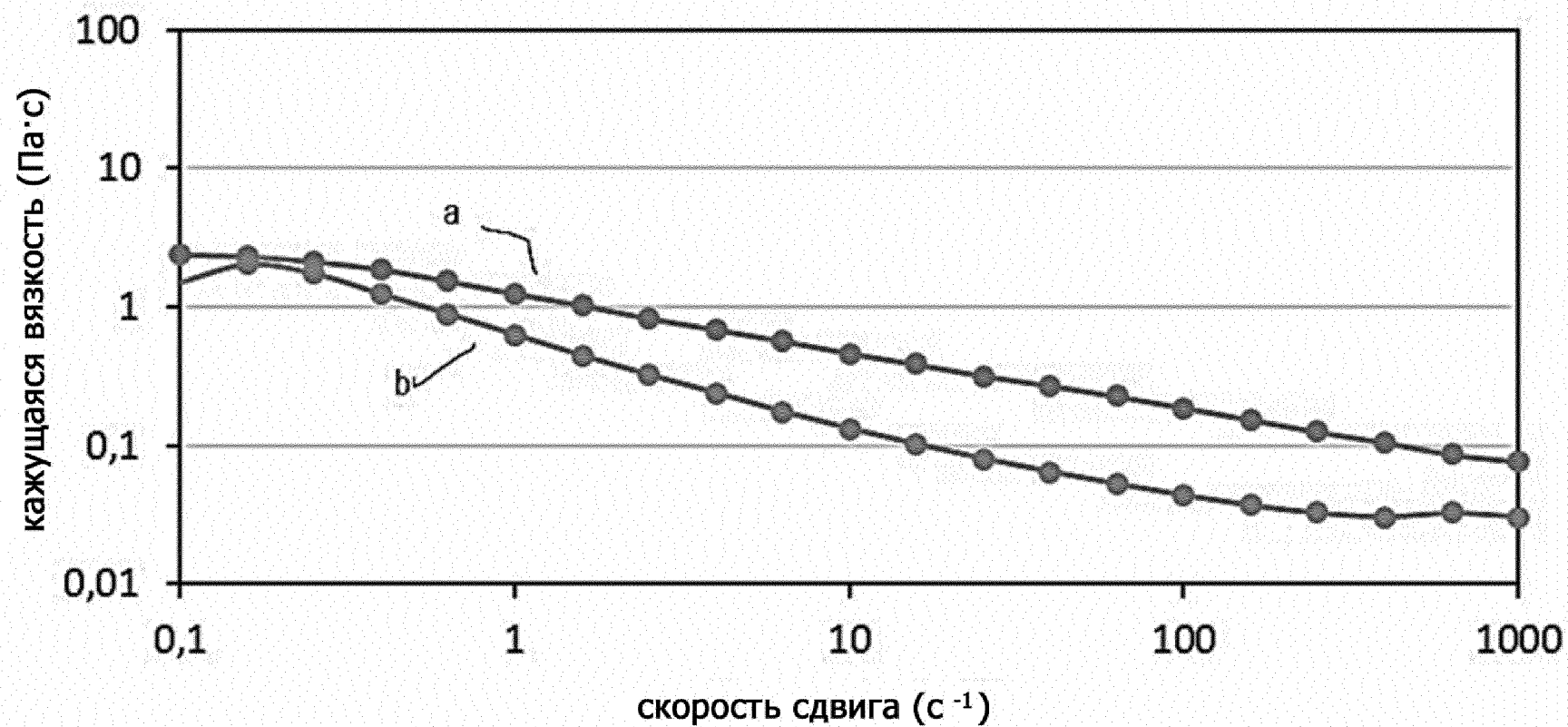
47

Фиг. 4



517

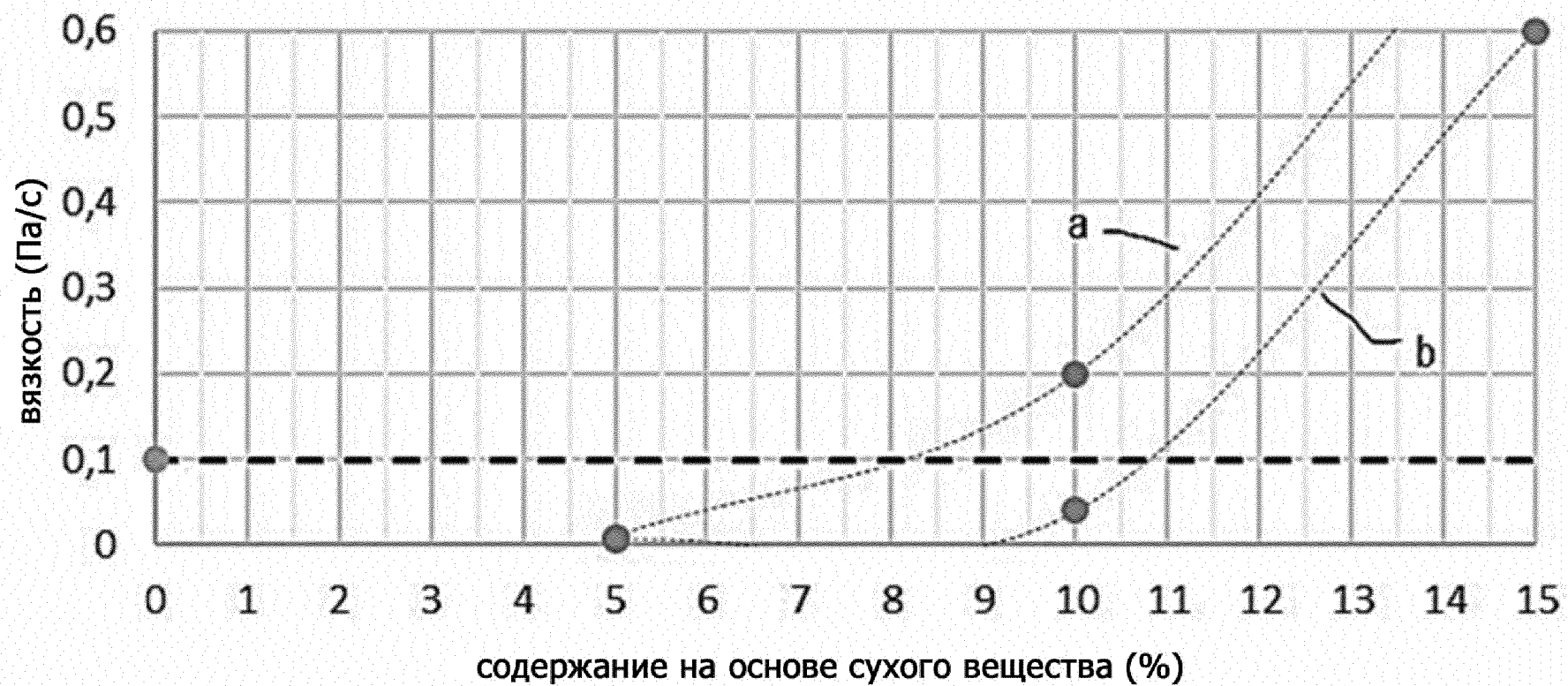
Фиг. 5



—●— рН-метрический способ
из предшествующего
уровня техники (a)

—●— изобретение (b)

ФИГ. 6



—●— pH-метрический способ
из предшествующего
уровня техники (a)

—●— изобретение (b)

Фиг. 7