



PATENTE DE INVENCION

por 20 años

28 04 50

por "Procedimiento para producir una composición proteínica monocelular fluida" - - - - -

a favor de: THE BRITISH PETROLEUM COMPANY LIMITED, de nacionalidad británica, domiciliada en Britannic House, Moor Lane, LONDRES, EC2Y 9BU (Inglaterra).

Clasificación: A 23 J

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a una proteína monocelular enriquecida con lípido fluido y particularmente a un procedimiento para enriquecer proteína monocelular mediante la adición de lípidos.

5 Los procedimientos conocidos para mejorar el valor nutritivo, y en particular incrementar el contenido de energía, de alimentos animales mediante la adición de lípidos, comportan el mezclar el alimento con el lípido, que constituye una fuente de energía relativamente elevada. Cuando se emplean grandes cantidades de lípidos, es decir, del orden de un 5% en peso en adelante, el producto
10 de dichos procedimientos conocidos es una masa pegajosa que es difícil de mezclar y manejar.

Un acontecimiento comparativamente reciente en materias alimenticias animales es la introducción de proteína procedente de microorganismos monocelulares, denominada comúnmente proteína monocelular. Este tipo de proteína puede ser en forma de células microbiana o bien en forma de proteína aislada de dichas células. En
15



- 2 -

particular se ha obtenido una nueva fuente de proteína monocelular, cultivando para ello microorganismos monocelulares, tal como, por ejemplo, una levadura, en fermentación sumergida aireada en un medio nutritivo acuoso en presencia de un hidrocarburo como fuente de carbono.

Se ha descubierto que la proteína monocelular cuando se mezcla con lípidos, de acuerdo con los procedimientos conocidos, reacciona de una manera similar a la de las materias alimenticias animales conocidas y da una composición pegajosa no fluida.

Ahora se ha descubierto un método para preparar proteína monocelular enriquecida con lípido que no es pegajosa y es fluida.

De acuerdo con la presente invención se provee una composición proteína monocelular enriquecida con lípido fluida, cuya composición comprende una proteína monocelular y 15 a un 80% en peso de un lípido, basado en el peso total de lípido y proteína monocelular.

La presente invención consiste en un procedimiento para preparar pues una composición proteína monocelular fluida, el cual comprende la formación de una emulsión de un lípido en agua que contiene una proteína monocelular, siendo la cantidad de lípido en la emulsión de un 15 a un 80% en peso basado en el peso seco de lípido y proteína monocelular y, después de ello, secar la emulsión.

La presencia del lípido en la composición hace que la composición sea un alimento de energía más elevada, de manera que, cuanto más lípido hay, más alto es el valor energético del alimento.

La proteína monocelular puede ser en forma de células enteras de un microorganismo monocelular, células rotas de un microor-



ganismo monocelular o proteína aislada de las células de un microorganismo monocelular.

La proteína aislada de las células de un microorganismo monocelular se puede obtener, por rotura de células de un microorganismo monocelular en agua, preferiblemente a un pH de por lo menos 8. (El agua se puede hacer alcalina mediante la adición de un álcali tal como hidróxido sódico). El líquido sobrenadante es separado y acidificado a un pH inferior a 5, por ejemplo, mediante la adición de ácido clorhídrico, para formar una suspensión aislada de proteína, de la cual está separable.

La composición de la presente invención comprende, preferiblemente, un 15 a un 70% en peso del lípido, basado en el peso seco de la composición, más preferiblemente, un 15 a un 65% y, lo más preferiblemente, un 20 a un 50% en peso. Las composiciones que contienen las cantidades más elevadas de lípido tienden a tener un tacto más aceitoso que las de contenido lípido inferior lo cual podría ser desventajoso en algunas circunstancias.

Los microorganismos preferidos son levaduras crecidas sobre hidrocarburos, por ejemplo, un hidrocarburo que utiliza levadura del género *Candida*, por ejemplo, *Candida lipolytica* o *Candida tropicalis*.

Lípidos adecuados comprenden aceite de maíz, aceite de palma, sebo y aceite de nueces.

La composición enriquecida con lípido puede también contener cantidades menores de elementos nutritivos, tales como aminoácidos y agua y vitaminas liposolubles, por ejemplo metionina y carbohidratos.

La composición enriquecida con lípido es particularmente apro-



piada para empleo en composiciones "sucedáneas lácteas" sólidas, donde tiene un efecto beneficioso sobre las propiedades de suspensión de los alimentos animales acuosos que se hacen de las composiciones.

5 En el procedimiento de la presente invención las células o la proteína aislada de ellas están presentes preferiblemente como una suspensión en agua. La suspensión acuosa de células puede ser una fracción de caldo fermentador que ha sido aislada del caldo mediante técnicas convencionales, tales como decantación, filtra-
10 ción, centrifugación o evaporación. Las células rotas pueden ser obtenidas sometiendo una fracción de caldo a fuerzas de cizallamiento inducidas mecánicamente y/o presiones elevadas del orden 351,53 Kg/cm². Un aparato adecuado es un homogeneizador, por ejemplo, un "French Pressure cell".

15 Se puede obtener elemento aislado de la proteína contenida en las células, obteniendo para ello una suspensión de células rotas como se ha explicado y añadiendo un álcali, por ejemplo, hidróxido sódico, hasta conseguir un pH de por lo menos 8. Luego el líquido sobrehadante se retira y acidifica a un pH inferior a 5 y se forma
20 una suspensión de aislado de proteína.

 La proporción de células en la fracción de caldo es usualmente de aproximadamente un 20% en peso, como máximo. El límite inferior es determinado por el coste de extracción de agua. La concentración de células o aislado de proteína en el agua antes de
25 formar la emulsión no es crítica, siendo extraída el agua en la etapa de secado.

 La emulsión de lípido en agua que contiene una suspensión de proteína monocelular se forma preferiblemente, añadiendo el lípido



- 5 -

do a una suspensión acuosa monocelular y sometiendo a la mezcla a una técnica emulsionante en un emulsionador. Con el fin de asegurar la formación de una emulsión se emplea preferiblemente una técnica de emulsiónamiento de gran potencia, por ejemplo, mediante el paso a través de un homogenizador.

Con objeto de reducir el tamaño del emulsionador utilizado para formar la emulsión, una parte del agua que contiene proteína monocelular se mezcla con todo el lípido y se forma una emulsión. Luego esta emulsión se puede añadir el resto del agua que contiene proteína monocelular, por ejemplo, agitándola, no siendo necesario posterior emulsiónamiento. Preferiblemente de 1/20 a una mitad por volumen del total de agua que contiene proteína monocelular tiene líquido añadida antes del emulsiónamiento.

La cantidad total de lípido añadido al agua que contiene proteína monocelular es preferiblemente de desde 10 a 1000, más preferentemente de 50 a 500 gramos de lípido por litro de agua que contiene proteína monocelular.

La cantidad total en peso de lípido añadido a la proteína monocelular en la emulsión que se deshidrata por aspersión es preferiblemente de un 20 a 50% en peso basado en el peso seco de lípido más proteína monocelular.

La composición formada mediante el procedimiento de la invención comprende preferiblemente de un 15 a un 70% en peso de lípido, más preferiblemente de un 15 a un 65% en peso y lo más preferiblemente de un 20 a un 50% en peso, estando basados los porcentajes en el peso de lípido y proteína monocelular secada.

En la suspensión acuosa de proteína monocelular puede estar presente un antioxidante para reducir la probabilidad de auto-



oxidación durante el tratamiento de emulsionamiento.

A la suspensión acuosa de proteína monocelular o a la emulsión que contiene el lípido se pueden agregar elementos nutritivos, tales como aminoácidos y hidrosolubles y liposolubles. En particular, antes del emulsionamiento se pueden añadir preferiblemente aminoácidos, tales como, por ejemplo, metionina y carbohidratos hidrosolubles para asegurar así una mezcla total.

Los siguientes ejemplos 1 a 11 ilustran, de manera no limitativa, el procedimiento y producto de la presente invención. El Ejemplo 12 es comparativo.

Ejemplo 1

Se recuperó una fracción de caldo acuoso que contenía 150 gramos por litro en peso de sólidos de levadura (peso seco), centrifugado para ello un caldo fermentador, obtenido mediante el cultivo de un hidrocarburo con utilización como fuente de carbono de inicio de la levadura *Candida lipolytica* en parafinas-n de kerosina. 1 litro de la fracción de caldo fué mezclado con 100 grs. de aceite de maiz y se sometió a la mezcla a un tratamiento de emulsionamiento en un homogenizador "Manton-Gaulin" a una presión de 351,53 kg/cm² y a un régimen de caudal de 40 litros por hora. La emulsión así obtenida fué agitada y reciclada a través del homogenizador. Luego la emulsión de aceite de maiz en la suspensión acuosa de célula se hizo pasar a través de un deshidratador por aspersión "Niro Minor" ("Niro Minor" es la marca registrada) con una temperatura de entrada de 300°C y una temperatura de salida de 90°C.

La composición de levadura enriquecida con aceite de maiz así formada era fluida y tenía un contenido total de lípido de un 46% en peso (peso seco). Este incremento aparente en el contenido total de lípido se estima se estima para el peso de lípidos presentes inicialmente en la muestra de levadura.



Ejemplo 2

100 mililitros de la fracción de caldo descrita en el Ejemplo 1 fueron mezclados con 100 gr. de aceite de maiz y se emulsionaron, haciéndolos pasar dos veces a través de un homogenizador "Manton-Gaulin" en las condiciones descritas en el Ejemplo 1. La emulsión fué mezclada con otro litro de la fracción de caldo y deshidratada por aspersion, empleando las condiciones descritas en el Ejemplo 1, lo que dió una composición fluida con un contenido lípido total de aproximadamente un 46% en peso.

Ejemplo 3

Se obtuvo un caldo fermentador que contenía levadura, cultivando para ello un hidrocarburo con utilización de muestra de *Candida lipolytica* en parafinas-n de kerosina como fuente de carbono y fué deshidratado por aspersion después de concentración a un contenido sólido de aproximadamente un 15% (peso seco), 150 grs. de la levadura deshidratada por aspersion fueron suspendidos en 1 litro de agua. A la suspensión se añadieron 100 gr. de aceite de maiz y la mezcla se hizo pasar a través de un homogenizador "Manton-Gaulin", empleando las condiciones descritas en el Ejemplo 1. Luego la emulsión así formada fué agitada y se hizo pasar nuevamente a través del homogenizador. Después la emulsión fué deshidratada por aspersion, empleando las mismas condiciones que las descritas en el Ejemplo 1. La composición proteínica monocelular enriquecida con aceite de maiz secada fluida así formada tenía un contenido de lípido de un 46% en peso.

Ejemplo 4

Se repitió el procedimiento del Ejemplo 1, empleando diferentes proporciones del caldo fermentador y aceite de maiz. Se analizó el contenido de lípido de algunos de los productos, mostrándose los resultados en la Tabla 1 siguiente.



TABLA 1

Volumen de caldo	Grs. añadidos de aceite de maíz	Contenido lípido de polvo seco	Naturaleza del producto
2 litros	20	16%	
	30		
	40		
	50		
	60		
	70	31%	
	80		
	90		
	100		
	110		
	120		
	130	43%	
	140		
	150		
	160		
	170		
	180		
	190		
	200		
	210		
	220		
	260		Progresivamente más aceitoso pero libre fluido
	300		
	340		
	420	68%	



Ejemplo 5

Se repitió el Ejemplo 3, empleando 300 gr. de la levadura
seca por aspersión mezclados en 2 litros de agua. A la
mezcla se agregaron 200 gr. de aceite de maíz y el producto
5 fué tratado como en el Ejemplo 3. El producto resultante fué
una composición fluida seca con un contenido lípido de 45% en
peso.

Ejemplo 6

2 litros de la fracción de caldo descrita en el Ejemplo 1
fueron mezclados con 200 gr. de sebo fundido y se emulsionaron
10 haciéndolos pasar a través de un homogenizador "Manton-Gaulin"
en las condiciones descritas en el Ejemplo 1. La emulsión for-
mada se hizo pasar a través de un deshidratador de aspersión
"Nino Minor" con una temperatura de entrada de 300°C y una tem-
peratura de salida de 90°C.

15 La composición de levadura enriquecida con sebo seco así
formada era fluida y tenía un contenido de lípido total de un
46%.

Ejemplo 7

Se fundieron 100 gr. de sebo y fueron mezclados con 200
ml de la fracción de caldo del Ejemplo 1, haciéndolos pasar a
través de un mezclador "Solverson" durante 1 minuto. Luego se hi-
20 zo pasar la mezcla a través de un homogenizador "Manton-Gaulin"
para formar una emulsión como en el Ejemplo 3. A esta emulsión
se agregaron 1800 ml. más del caldo de levadura y la mezcla
fué agitada lentamente.

25 La emulsión formada fué deshidrada por aspersión en un
deshidratador de aspersión "Niro Minor" a una temperatura de en-
trada de 300°C y una temperatura de salida de 100°C. El produc-
to seco fué un polvo fluido de un 33% de contenido lípido.



Ejemplo 8

Se repitió el Ejemplo 6, utilizando diferentes cantidades de sebo. Los resultados se indican en la Tabla 2 siguiente.

Tabla 2

Cantidad de sebo por litros total de caldo en gr.	Contenido lípido de producto % en peso	Naturaleza
240	50	} Polvos fluidos
480	65	

Ejemplo 9

Una fracción de caldo acuoso como la descrita en la reivindicación 1 fué mezclada con aceite de maiz en una proporción de 5 litros de fracción de caldo y 250 gr. de aceite y la mezcla se hizo circular a través de un molino de discos giratorio "Dynamill Modelo KDL". El caudal fué de 6 litros/hora y la cámara de trituración tenía una capacidad de 0,6 litros.

La emulsión obtenida después de la molturación fué deshidratada por aspersion en las condiciones del Ejemplo 1 y el producto obtenido fué un polvo fluido seco de un contenido lípido del 36% en peso.

Ejemplo 10

2 litros de la fracción del caldo del Ejemplo 1 fueron mezclados con 200 gr. de aceite de maiz. La mezcla obtenida fué emulsionada, haciéndola pasar a través de un homogenizador "Manton-Gaulin" en las condiciones del Ejemplo 1. Después del emulsiónamiento, la emulsión fué secada en un secador de tambor laminar de pequeño tamaño "Mitchell" calentado por vapor y se obtuvo un polvo



- 11 -

fluido seco. El polvo tenía un contenido lípido de un 46%.

Ejemplo 11

5 litros de la fracción de caldo del Ejemplo 1 se hicieron pasar dos veces a través de un homogenizador "Manton-Gaulin" a una presión de $351,53 \text{ Kg/cm}^2$ y un caudal de 40 litros/hora. Al líquido obtenido, que contenía células de levadura rotas, fue añadido hidróxido sódico hasta que el pH fue de 9. El líquido supernatante fue separado y acidificado con ácido clorhídrico hasta un pH de 4. El aislado precipitado fue retirado y deshidratado por aspersión en un deshidratador de aspersión "Niro Minor" con una temperatura de entrada de 300°C y una temperatura de salida de 90°C . El polvo seco obtenido fue un aislado proteínico.

300 gr. de aislado proteínico seco obtenido fue mezclado con 2 litros de agua para formar una suspensión. 2 litros de la suspensión fueron mezclados con 100 gr. de aceite de maíz y la mezcla se hizo pasar a través de un homogenizador "Manton-Gaulin" a una presión de $351,53 \text{ Kg/cm}^2$ y con un caudal de 40 litros/hora. La emulsión de aceite de maíz obtenida se hizo pasar a través de un deshidratador de aspersión "Niro Minor" a una temperatura de entrada de 300° y una temperatura de salida de 90° .

El producto seco fue un polvo fluido y tenía un contenido lípido total de un 33%.

Ejemplo 12

2 litros de la fracción de caldo del Ejemplo 1 fueron mezclados con 200 gr. de aceite de maíz y la mezcla fue agitada para formar una suspensión. Al dejar la suspensión separada en dos capas se observó que no se formó una verdadera emulsión.

La suspensión fue nuevamente agitada y se hizo pasar a través de un deshidratador de aspersión "Niro Minor" en las con-



- 12 -

diciones del Ejemplo 2. No se obtuvo producto del deshidratador, siendo el producto a la salida demasiado pegajoso para ser separado de las paredes del deshidratador.

N O T A

Por la patente de invención a que se refiere la presente memoria descriptiva se REIVINDICA la propiedad y la explotación exclusiva de:

- 5 1.- Procedimiento para producir una composición proteínica monocelular fluida, caracterizado por el hecho de que consiste en formar una emulsión de un lípido en agua que contiene proteína monocelular, siendo la cantidad de lípido de un 15 a un 80% en peso basado en el peso seco de lípido y proteína monocelular, y después de ello secar la emulsión.
- 10 2.- Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que la cantidad de lípido es de un 15 a 65% en peso basado en el peso total de lípido más el peso seco de proteína monocelular.
- 15 3.- Procedimiento, según la reivindicación 2, en el que la cantidad de lípido es de un 20 a un 50% en peso basado en el peso total de lípido más el peso seco de proteína monocelular.
- 20 4.- Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la proteína monocelular es en forma de células enteras de un microorganismo monocelular.
- 5.- Procedimiento, según la reivindicación 4, en el que las células están presentes como una suspensión en agua.
- 25 6.- Procedimiento, según la reivindicación 5, en el que la suspensión de células en agua es una fracción de caldo fermentador aislada de un caldo fermentador.
- 7.- Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la proteína monocelular es en forma de células rotas de un microorganismo monocelular.



- 13 -

8.- Procedimiento, según la reivindicación 7, en el que las células rotas están presentes como una suspensión en agua.

5 9.- Procedimiento, según la reivindicación 9, en el que la suspensión de células rotas en agua se obtiene sometiendo una fracción de caldo fermentador aislada de un caldo fermentador a fuerzas de cizallamiento inducidas mecánicamente y/o presión elevada.

10 10.- Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la proteína monocelular es en forma de proteína aislada de células de un microorganismo monocelular.

11.- Procedimiento, según la reivindicación 10, en el que la proteína aislada de células de un microorganismo monocelular está presente como una suspensión en agua.

15 12.- Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 11, en el que el microorganismo monocelular es un hidrocarburo que comporta levadura.

20 13.- Procedimiento, según la reivindicación 12, en el que la levadura es un hidrocarburo que comporta levadura del género "Candida".

14.- Procedimiento, según la reivindicación 13, en el que la levadura es "Candida lipolytica" o "Candida tropicalis".

25 15.- Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que la emulsión de lípido en agua se forma añadiendo el lípido a una suspensión acuosa de la proteína monocelular y sometiendo a la mezcla a una técnica de homogenización.

16.- Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que la cantidad de lípido añadida al agua que contiene proteína monocelular es de 10 a 1000 gr. de lípido por litro de agua que contiene proteína monocelular.



17.- Procedimiento, según la reivindicación 16, en el que la cantidad de lípido añadida al agua que contiene proteína monocelular es de 50 a 500 gr. por litro.

5 18.- Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que la cantidad de lípido añadida al agua que contiene proteína monocelular es de un 20 a un 50% en peso basado en el peso de lípido y el peso seco de proteína monocelular.

10 19.- Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en el que la emulsión es secada mediante deshidratación por aspersión en un deshidratador de aspersión o secado en un secador de tambor.

15 20.- Procedimiento, según la reivindicación 19, en el que la temperatura de entrada del deshidratador de aspersión es de desde 250 a 400°C, en tanto que la temperatura de salida desde 70 a 110°C.

21.- Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, en el que el lípido es aceite de maíz, sebo, aceite de palma o aceite de nueces.

20 22.- Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21, en el que en el agua que contiene proteína monocelular está presente un antioxidante.

25 23.- Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22, en el que se añaden aminoácidos, vitaminas hidrosolubles y vitaminas liposolubles al agua que contiene proteína monocelular o a la emulsión.

24.- Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, en el que se añade carbohidrato soluble en agua al agua que contiene proteína monocelular o a la emulsión.



27 A

- 15 -

25.-Procedimiento, según la reivindicación 1, tal como se ha descrito con referencia a los Ejemplos 1 a 3.

26.- Procedimiento, según la reivindicación 1, tal como se ha descrito con referencia a los Ejemplos 4 a 11.

5 27.- "Procedimiento para producir una composición proteínica monocelular fluida".

Consta la presente memoria descriptiva de quince hojas foliadas, escritas por una sola cara.

Barcelona, 27 de Agosto de 1973.