

5 DIC. 1978



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria a junta.

11	NUMERO	10	A1
21	463.711		
22	FECHA DE PRESENTACION		
	29-10-1977		

PATENTE DE INVENCION

30	PRIORIDADES:		
31	NUMERO	32	FECHA
	737.248		1-11-76
		33	PAIS
			EE.UU.

47	FECHA DE PUBLICIDAD	51	CLASIFICACION INTERNACIONAL	62	PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
			C13L		

64	TITULO DE LA INVENCION
	"UN PROCEDIMIENTO PARA TRATAR UNA MEZCLA DE GLUTEN DE TRIGO VITAL Y ALMIDON DE TRIGO"

71	SOLICITANTE (S)	
	CPC INTERNATIONAL, INC.	PP/6023

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
International Plaza, Englewood Cliffs, Nueva Jersey 07632, Estados Unidos de América

72	INVENTOR (ES)
	Raoul Guillaume Philippe Walon

73	TITULAR (ES)

74	REPRESENTANTE	
	D. ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ	(P.- 67.248)

MCG.

Esta invención se refiere a un procedimiento para tratar una mezcla de gluten de trigo vital y almidón de trigo, p.ej. harina de trigo, con objeto de obtener el gluten de trigo en forma vital no desnaturalizada y, como producto secundario, un almidón solubilizado que puede utilizarse como tal o tratarse ulteriormente por sacarificación.

Es sabido que el gluten de trigo perderá sus propiedades "vitales" si se somete a altas temperaturas, y es sabido también que el gluten de trigo tiene tendencia a solubilizarse si se pone en contacto con agua moderadamente caliente durante un período de tiempo prolongado. Por estas razones, la aplicación a la harina de trigo de un procedimiento de solubilización enzimática convencional (esto es, gelatinización, licuefacción, y solubilización de la porción de almidón de la harina con ayuda de calor y de una enzima licuadora tal como alfa-amilasa) dará como resultado una desnaturalización, así como una solubilización sustancial, del gluten. Adicionalmente, si el almidón solubilizado se sacarifica con una enzima sacarificadora para producir un hidrolizado de almidón, el hidrolizado resultante contendrá una gran cantidad de gluten solubilizado, y esto hará difícil y poco práctico el refino final (y en particular la decoloración).

Los procedimientos convencionales para solubilizar enzimáticamente el almidón o materiales que contienen almidón tales como harinas finas, harinas ordinarias, "sémolas" o similares implican la gelatinización del almidón, por calentamiento de una suspensión

acuosa del mismo, bien sea antes de la adición de la enzima o, si se utiliza una alfa-amilasa termoestable, en presencia de la enzima. Estos procedimientos emplean temperaturas altas, y si se aplican a un material que contiene gluten de trigo vital, desnaturalizarán el gluten. Se sabe desde hace mucho tiempo que las alfa-amilasas son capaces de solubilizar el almidón en condiciones no gelatinizantes, pero los procedimientos de la técnica anterior precursora nunca se han llevado a la práctica comercialmente. Wallerstein y otros, en la patente de EE.UU. 2.583.451, describen un procedimiento para convertir el almidón puro en dextrosa con alfa-amilasa en condiciones no gelatinizantes; en este procedimiento, la temperatura no excederá de 45°C, los tiempos de tratamiento son 48-72 horas, y los rendimientos son muy bajos; el procedimiento sería inadecuado para uso con un producto de almidón que contenga gluten.

Recientemente se han desarrollado procedimientos para hidrolizar eficazmente el almidón granular sin la etapa convencional de gelatinización, por lo que, durante la hidrólisis, el almidón residual retiene su forma granular. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. 3.922.196 y 3.922.197 concedidas a Leach y otros, 3.922.198 concedida a Kuske y otros, 3.922.199 concedida a Hebeda y otros, y 3.922.200 concedida a Walon y otros. Estos procedimientos son extremadamente efectivos para hidrolizar el almidón y los materiales que contienen almidón, pero las condiciones son tales que, si se aplican a harina de trigo, se producirá una solubilización y desnaturalización excesiva del gluten vital.

Es un objeto de la invención idear un procedimiento para tratar harina de trigo o productos similares con objeto de obtener a partir de aquélla almidón, gluten vital, y un hidrolizado de almidón. Un objeto adicional de la invención es idear un procedimiento para la solubilización enzimática, más sacarificación enzimática si se desea, de la porción de almidón de una fracción de harina de trigo rica en gluten, o de otra mezcla de gluten de trigo vital y almidón, de tal modo que el gluten se puede recuperar en forma vital, no desnaturalizada, y el almidón solubilizado (o sacarificado) no contendrá virtualmente cantidad alguna de gluten solubilizado, y por consiguiente puede refinarse por medios convencionales y económicos.

De acuerdo con el procedimiento de la invención, una mezcla de gluten de trigo vital y almidón se trata, en suspensión acuosa, con una alfa-amilasa bacteriana en condiciones en las que el almidón se solubiliza sin gelatinización. Es decir, que durante la solubilización el almidón residual se mantiene en forma granular, esto es, no gelatinizada. Después de la solubilización del almidón, el gluten, que está todavía en forma vital y no desnaturalizada, puede recuperarse fácilmente por medios convencionales tales como filtración, decantación, centrifugación o utilización de hidrociclones. La solución de almidón solubilizada puede concentrarse y/o secarse después, tratarse posteriormente con enzimas adicionales para formar productos sacarificados, o, como se describirá más adelante, utilizarse como sustrato para la hidrólisis de almidón adicional. A continuación se

describirán las condiciones específicas.

Aunque la invención se puede llevar a la práctica con cualquier mezcla de almidón y gluten de trigo vital, el material de partida más obvio y práctico, es harina de trigo; por esta razón, la invención se describirá de aquí en adelante como aplicada a harina de trigo. El material a someter a la solubilización enzimática debe contener al menos aproximadamente 25% de proteína ( en peso, base seca), siendo adecuado un intervalo comprendido entre 25% y 80% de proteína. Si el material de partida contiene menos que 25% de proteína, siendo el resto principalmente almidón, se producirá una solubilización inaceptable de la proteína debido a las condiciones de la reacción que se emplean, esto es, la relación de agua a proteína y el tiempo y temperatura de la reacción. Por consiguiente, la harina de trigo debe separarse previamente en dos fracciones, siendo una de ellas almidón de trigo sustancialmente puro (que es, por supuesto, un producto valioso), y conteniendo la segunda fracción al menos 25% de gluten (preferiblemente 30%-40%). El procedimiento de la invención se aplica luego a la segunda fracción. El fraccionamiento inicial de la harina puede realizarse de cualquier manera, siendo el único requerimiento que el gluten no se desnaturalice. La decantación centrífuga es un ejemplo del procedimiento que puede utilizarse para el fraccionamiento.

A una suspensión acuosa de la segunda fracción, rica en gluten (cuya concentración de sólidos estará comprendida preferiblemente entre 10% y 35% en peso), se añade una alfa-amilasa bacteriana, la

5 cual está preferiblemente sustancialmente exenta de proteasa, y se deja que la enzima reaccione con el almidón durante un breve período de tiempo (que no excede de aproximadamente 6 horas) a una temperatura no mayor que aproximadamente 60°C (estando comprendida la temperatura preferida dentro del intervalo de 45°C a 60°C) y a un pH que es el óptimo para que la enzima ataque al almidón. Por medio de este procedimiento, sustancialmente la totalidad del almidón (o tanto como se desee) se solubiliza por completo, el gluten no se desnaturaliza, y sustancialmente no se produce solubilización alguna del gluten. For esta razón puede recuperarse fácilmente el gluten todavía vital, más el almidón solubilizado que contiene una cantidad mínima de proteína solubilizada. El almidón solubilizado puede concentrarse y/o secarse y utilizarse "como tal", o someterse a cualquier procedimiento de sacarificación convencional.

20 La alfa-amilasa bacteriana es preferiblemente una que es activa dentro del intervalo de pH comprendido entre aproximadamente 4,0 y aproximadamente 7,0 y que posee actividad apreciable a temperaturas relativamente bajas, esto es 60°C e inferiores. Fuentes preferidas de tales alfa-amilasas incluyen ciertas especies de microorganismos del género Bacillus, a saber, B. Subtilis, B. Licheniformis, B. Coagulans y B. Amyloliquefaciens. Alfa-amilasas adecuadas se describen en la patente de Austria Nº 300.699 y en la de EE.UU. 3.697.378. Amilasas especialmente adecuadas son las derivadas de B. Licheniformis, como se describe en la solicitud de patente austríaca. Es particularmente preferida la alfa-amilasa

sa derivada de las cepas de B. Licheniformis NCIB 8061, NCIB 8059, ATCC 6598, ATCC 6634, ATCC 8480, ATCC 9945A y ATCC 11945. Estas son extraordinariamente efectivas en la licuación del almidón granular. Una tal enzima se identifica por el nombre comercial de "Thermamyl", que puede adquirirse de NOVO Enzyme Corporation, Mamaroneck, Nueva York, El producto Thermamyl se caracteriza por las propiedades siguientes:

- (a) es térmicamente estable;
- (b) es activo a lo largo de un amplio intervalo de pH; y
- (c) su actividad y estabilidad térmica son menos dependientes que las de otras alfa-amilasas de la presencia de ion calcio añadido.

Los análisis típicos de tres preparaciones diferentes de Thermamyl son como sigue:

	Thermamyl 60	Thermamyl 120	Thermamyl
Sustancia seca, %	35,4	98,8	94,6
Actividad de alfa-amilasa U/g (como tal)	1156,0	2105,0	9124,0
Proteína, % base seca	26,5	21,2	21,2
Cenizas, % base seca	60,1	91,2	64,4
Calcio, % base seca	0,04	0,72	4,9
Sodio, % base seca	12,3	12,2	-

Otras alfa-amilasas adicionales adecuadas que son asequibles incluyen las siguientes:

TABLA I

	Preparación de Enzima	Compañía	Forma	Actividad
5	Rhozyme H-39	Rohm & Haas	Polvo	4.874 U/g
	Takamine HT-1000	Miles	Polvo	3.760 U/g
	Tenasa	Miles	Líquido	2.043 U/ml
	Dex-Lo MM	Wallerstein	Líquido	1.213 U/ml
10	Novo SP-96	Novo	Polvo	7.310 U/g
	Novo B. Subtilis	Novo	Líquido	1.599 U/ml
	Kleistasa GM-16	Daiwa Kasai	Polvo	26.593 U/g
15	Kleistasa I-1	Daiwa Kasai	Líquido	1.918 U/ml
	Rapidasa SP-250	Société "Rapidase", Francia	Polvo	11.655 U/g
	Maxamyl LX6000	Gist-Brocades	Líquido	13.300 U/ml

20

La alfa-amilasa debe estar sustancialmente exenta de actividad de proteasa, con objeto de evitar una solubilización excesiva del gluten; dado que prácticamente todas las preparaciones comercialmente asequibles de alfa-amilasa contienen actividad de proteasa, es necesario tratar en primer lugar la preparación para dejarla sustancialmente exenta de proteasa. Esto puede hacerse fácilmente con las preparaciones de Thermamyl por calentamiento de una suspensión acuosa de la preparación de la enzima a 70°C-80°C durante un período de tiempo comprendido entre 30 y 45 minutos.

30

La cantidad de alfa-amilasa empleada tiene que ser suficiente, por supuesto, para solubilizar sustancialmente la totalidad del almidón presente, es decir al menos aproximadamente 0,1 unidades de actividad por gramo de almidón. (La actividad de alfa-amilasa tal como se utiliza en esta memoria se determina por el método indicado en la patente de los EE.UU. 3.922.196, concedida a Leach y otros). Se prefiere, sin embargo, emplear más que la cantidad mínima de alfa-amilasa, por dos razones. En primer lugar, una cantidad en exceso de enzima acelerará el procedimiento de solubilización, minimizando así el tiempo durante el cual el gluten se vé sometido a las condiciones del procedimiento, con la consiguiente solubilización mínima del gluten. Una segunda ventaja, y muy importante, desde el punto de vista económico, es que después de la separación de la fracción de gluten, el almidón solubilizado, que está presente en la forma de una solución diluida que contiene todavía alfa-amilasa activa, puede utilizarse directamente como medio para solubilizar almidón adicional añadiendo simplemente almidón bruto de nueva aportación al mismo y ajustando las condiciones, si es necesario, para una solubilización óptima del almidón nuevo. Después de la solubilización del almidón adicional, el producto puede, por supuesto, someterse a sacarificación con la enzima apropiada, p. ej. gluco-amilasa para producir dextrosa o hidrolizados que contienen dextrosa, beta-amilasa (con o sin una enzima eliminadora de ramificaciones, p.ej., alfa,1-6 glucosidasa) para producir jarabes de maltosa, etc. Si se tiene previsto emplear finalmente una enzima sacarificante en

5

10

15

20

25

30

cualquier etapa del procedimiento, es ventajoso añadir la misma, o al menos una porción de ella, directamente a la fracción de harina inicial junto con la alfa-amilasa bacteriana. La presencia de una enzima sacarificante en conjunción con la alfa-amilasa actúa para acelerar adicionalmente la etapa de solubilización, con todas las ventajas concomitantes de tal aceleración.

Como se verá en los ejemplos, puede desarrollarse un sistema extremadamente práctico, basado en el procedimiento de la invención, para obtener a partir de la harina de trigo al mismo tiempo gluten vital e hidrolizados de almidón de cualquier composición deseada separando primeramente la harina, como por ejemplo por decantación centrífuga, para obtener una fracción de almidón y una fracción rica en gluten, añadiendo después a la fracción rica en gluten alfa-amilasa bacteriana en una cantidad suficiente para solubilizar no sólo la porción de almidón de dicha fracción sino también el almidón obtenido en la etapa de separación, añadiendo también una o más enzimas sacarificadoras si se desea, sometiendo luego la fracción rica en gluten al procedimiento de la invención, recuperando el gluten vital, y añadiendo después el almidón procedente de la etapa de separación al almidón solubilizado, el cual se halla en la forma de una solución acuosa diluida que contiene alfa-amilasa activa, solubilizando el almidón de nueva aportación, sacarificán dolo si se desea, y finalmente refinando el hidrolizado por medios convencionales. Este sistema puede proyectarse de tal modo que resulte completamente "embotellado", eli minándose virtualmente los problemas de evacuación de

aguas residuales.

El pH del procedimiento de solubilización está regido, por supuesto, por el intervalo operable de la alfa-amilasa utilizada, y se prefiere el uso del pH óptimo de la enzima. La mayoría de las alfa-amilasas exhiben su actividad óptima aproximadamente a pH 6 (el óptimo para Thermamyl es pH 5-7, para Rapidase, pH 6, etc.). Las enzimas de sacarificación exhiben usualmente su actividad óptima a valores de pH inferiores (pH 4,0 - 4,5 para las glucoamilasas, p.ej.). Por consiguiente, si se emplea una enzima sacarificadora en conjunción con la alfa-amilasa durante la solubilización, puede ser deseable emplear un "pH de compromiso"; un operario experto puede determinar fácilmente el pH preferido para su operación particular.

El tiempo de la solubilización tiene que ser, por supuesto, suficiente para alcanzar el grado deseado de solubilización del almidón, pero debe ser lo más corto posible con objeto de evitar una excesiva solubilización del gluten. El tiempo necesario dependerá de diversos factores, p.ej. la cantidad de almidón a solubilizar, la cantidad y el tipo de alfa-amilasa empleada, la presencia o ausencia de una enzima sacarificadora, la concentración de sólidos, y la temperatura. Debe evitarse un período de tiempo mayor que 6 horas, debido a que esto da como resultado una cantidad inaceptable de solubilización del gluten, lo que reduce el rendimiento de gluten vital e introduce tanto color en la solución de almidón solubilizado que hace difícil y costoso el refinado final. En la mayoría de las condiciones, la solubi-

lización puede completarse dentro de 1 a 3 horas, y éste es el período de tiempo preferido.

La temperatura preferida de la solubilización es aproximadamente 60°C, pero puede ser tan baja como 45°C. Temperaturas más bajas prolongan el tiempo y deben evitarse; una temperatura muy superior a 60°C causa la desnaturalización del gluten.

La suspensión que contiene alfa-amilasa puede llevarse a la temperatura de solubilización de cualquier manera convencional, pero una subida de demasiado rápida desde 50°C a la temperatura final puede causar alguna desnaturalización del gluten y debe evitarse. Es totalmente satisfactoria una subida de temperatura desde 50°C a 60°C en un período de 10 minutos.

Los ejemplos siguientes servirán para ilustrar la práctica de la invención. En los ejemplos, la preparación de alfa-amilasa Thermamyl 60 se dejó sustancialmente exenta de proteasa por calentamiento de la preparación líquida, tal como se recibió, durante 30 a 45 minutos a 80°C. Este tratamiento dió como resultado la inactivación completa de la proteasa sin una pérdida sustancial de actividad de alfa-amilasa. El producto Maxamyl LX6000 se trató disolviendo en primer lugar la preparación de la enzima líquida, tal como se recibió, en una solución de hidrolizado de almidón de bajo D.E. (30% de sustancia seca) que contenía calcio añadido, y calentando durante 30 minutos a 75°C. Este tratamiento destruyó sustancialmente la totalidad de la proteasa y dejó el 90% de la actividad de la alfa-amilasa.

Todos los porcentajes que se ci-

-tan en los ejemplos y en las reivindicaciones del apéndice son en peso, a no ser que se indique otra cosa.

EJEMPLO I

5

Este ejemplo ilustra la solubilización de una fracción rica en gluten de harina de trigo empleando alfa-amilasa y una enzima sacarificadora (beta-amilasa), y la preparación final de un jarabe rico en maltosa además de la recuperación de un producto de gluten vital.

10

1000 kg de harina de trigo blan-  
da (88,6% de sustancia seca y que contenía 10,2% de pro-  
teína, 76,5% de almidón, 1,8% de grasa y aproximadamente  
0,4% de cenizas y otro 0,4% de fibras) se suspendieron en  
2000 kg de agua y la suspensión se tamizó para eliminar  
parte de las fibras gruesas. Se agitó la suspensión para  
mantener los componentes de proteína y de almidón en un  
estado homogéneo, esto es, para evitar la aglomeración del  
gluten. Se envió después la suspensión a una decantadora  
centrífuga Alfa-Laval, que operaba a 2000 revs. por min.  
de velocidad de rotación, y se recogieron la corriente  
de rebose (fracción rica en proteína) y la corriente de  
fondo (fracción de almidón). La corriente de fondo, que  
contenía aproximadamente 2,5% de proteína y algo de fibras  
y cenizas además del almidón, se purificó y se concentró  
después haciéndola pasar primero a través de una serie  
de decantadoras supercentrífugas (2000 revs.por min.) y  
luego por una centrífuga deshidratadora. La torta de fil-  
tración se secó por método instantáneo ("flash") hasta un  
contenido de humedad de aproximadamente 13%. El producto

15

20

25

30

contenía 98,7% de almidón de trigo, 0,6% de proteína y 0,1% de cenizas.

La fracción de corriente de rebose tenía un contenido de sustancia seca de 12% y contenía 29,7% de proteína (Kjeldahl total), en base seca. El pH se ajustó a 5,5, y se añadieron 0,4% de alfa-amilasa bacteriana exenta de proteasa (Thermamyl 60) y 0,06% de beta-amilasa (Biozyme M., de Amano Chemicals) (porcentajes en peso, en base seca, basados en el peso en seco total). Se añadieron también 200 partes por millón de  $\text{CaCl}_2$ , y la temperatura se elevó a 57°C y se mantuvo durante dos horas. Al cabo de dicho tiempo se había solubilizado el 98,3% del almidón.

Se pasó el producto por una centrífuga Sharples, que operaba a 12000 revs. por min.; y se recogieron la corriente de rebose (fracción de gluten) y la corriente de fondo (fracción de almidón soluble).

La corriente de fondo tenía un contenido de sustancia seca de 35,6% y contenía 68,2% de proteínas en base seca. Dicha fracción se secó por pulverización hasta un contenido de humedad de 5,3% en las condiciones siguientes:

concentración de la alimentación: 35,6%

temperatura de la alimentación: 45°C

temperatura de entrada: 161°C

temperatura de salida: 88°C

La porción de gluten (68%) del producto seco resultante había retenido su insolubilidad original.

La corriente de rebose estaba cons

tituida por una solución de almidón solubilizado diluida (7,6% de sólidos secos) que contenía alfa-amilasa; la alfa-amilasa retenía todavía el 90% de su actividad original. Esta solución se enriqueció con el almidón de trigo previamente recuperado y secado, hasta un contenido de sustancia seca de 30%. El pH se ajustó a 6,0, la temperatura se elevó a 95°C, y la suspensión se mantuvo hasta que se licuó el almidón. Se bajó luego la temperatura a 58°C, se ajustó el pH a 5,0, y se añadió beta-amilasa en una cantidad de 0,05% en peso (basado en sustancia seca). El almidón se sacarificó en dichas condiciones durante 12 horas, después de lo cual se refinó el producto con (a) 0,5% de carbono agotado, (b) una resina cambiadora de catión fuerte, (c) carbón sulfonado ("Dusarit" de Imacti), y (d) una resina cambiadora de anión débil. El producto se concentró y se pasó a través de 0,5% de carbono virgen. El producto claro, incoloro como el agua, tenía un E.D. de 43,7, un contenido de dextrosa de 3%, un contenido de maltosa de 55%, y 42% de trisacáridos y polisacáridos superiores.

#### EJEMPLO II

Se preparó una suspensión acuosa de harina de trigo blanda como en el Ejemplo I, y se envió a una decantadora centrífuga Alfa-Laval. La decantadora centrífuga se hizo funcionar de tal modo que se produjese una corriente de rebose de 12,8% de sustancia seca que contenía 32,6% de proteínas, en base seca.

La corriente de fondo (fracción de almidón) se recogió y se trató como en el Ejemplo I.

La corriente de rebose se recogió

y se dividió en tres porciones, designadas como A, B, y C, las cuales se trataron luego como sigue.

A.

Producción de una Malto-Dextrina.-

Uso de Alfa-Amilasa sola para la Solubilización.

La temperatura se llevó a 60°C, el pH se ajustó a 6,0, y se añadió alfa-amilasa Thermamyl 60 (exenta de proteasa) en una cantidad de 0,3% en peso basada en el peso seco total. Después de un tiempo de reacción de 2 horas, se había solubilizado el 97,6% del almidón.

El producto se centrifugó en una centrífuga Sharples (12000 revs. por min.) y la corriente de fondo, que tenía un contenido de sustancia seca de 36,7% y que contenía 72% de gluten vital (base seca) se secó por pulverización como en el Ejemplo I.

La corriente de rebose, que tenía un contenido de sólidos secos de 7,6% y que contenía todavía el 90% de la alfa-amilasa activa, se enriqueció con almidón de nueva aportación hasta un contenido de sustancia seca de 30%. El pH se ajustó a 6,0, y la temperatura se llevó a 94°C. Después de un tiempo de reacción de 2 horas, la temperatura se elevó a 125°C para inactivar la enzima, después de lo cual el producto, que era una malto-dextrina soluble y exenta de almidón que tenía un E.D. de 18,6, se refinó y se secó por pulverización por medios convencionales.

B.

Producción de Dextrosa.- Uso de Alfa-Amilasa y Glucoamila-

sa para la Solubilización.

Se ajustó el pH a 5,5 y se añadieron las enzimas Thermamyl 60 (0,25%) y glucoamilasa (0,06%) (porcentajes sobre el peso en seco total). La temperatura se llevó a 60°C y se mantuvo durante 90 minutos.

El producto se centrifugó como en A, después de lo cual la corriente de fondo se centrifugó una segunda vez con objeto de eliminar almidón soluble adicional y obtener una fracción más rica en gluten vital. La corriente de fondo procedente de la segunda centrífuga, que contenía 78% de gluten vital, se secó por pulverización como en el Ejemplo I.

Se reunieron las corrientes de rebose procedentes de ambas centrífugas. La actividad de alfa-amilasa en esta fracción era el 90% de la original, pero quedaba muy poca actividad de glucoamilasa. Se añadió almidón de nueva aportación hasta un contenido de sustancia seca de 28,6%, se ajustó el pH a 6,0, y se llevó la temperatura a 95°C, manteniéndose hasta que el almidón se licuó por completo.

Se bajó la temperatura a 55°C, se ajustó el pH a 4,2 y se añadió 0,04% de glucoamilasa. Al cabo de un tiempo de sacarificación de 33 horas, el producto tenía un E.D. de 97,6, y contenía 94,8% de dextrosa. Se refinó, cristalizó y secó de una manera convencional para dar un producto con 99,6% de dextrosa.

C.Producción de Dextrosa.- Uso de Alfa-Amilasa sola para la Solubilización

Esta porción se trató con alfa-

-amilasa al igual que la porción A, incluyendo centrifugación y tratamiento de la corriente de fondo que contenía 72% de gluten vital.

A la corriente de rebose (que retenía todavía el 90% de la alfa-amilasa) se añadió almidón nuevo hasta una sustancia seca de 28,6%, y la temperatura se elevó a 95°C y se mantuvo en dicho valor hasta que se licuó el almidón. Se enfrió luego a 55°C, y se ajustó el pH a 4,8, se añadió glucoamilasa en una cantidad de 0,7%, y se sacarificó el producto a dextrosa como en B.

### EJEMPLO III

En este ejemplo se realizaron tres ensayos separados, designados como A, B y C. En cada ensayo, harina de trigo que contenía 11% de proteína se suspendió en agua y se fraccionó como en los ejemplos anteriores por medio de una decantadora centrífuga Alfa-Laval para obtener (1) una fracción de fondo (almidón) que se recuperó como en los ejemplos anteriores y (2) una fracción de rebose (rica en proteínas) que tenía la composición siguiente:

Peso total	1777,5 Kg
% de sustancia seca	16
Peso de sustancia seca	284,4 kg
% de proteína, base seca	33,65
Peso de proteína	95,7 kg

Cada fracción rica en proteína se trató con una alfa-amilasa bacteriana a pH 6 y 60°C durante 4 horas, residiendo la diferencia entre las opera-

ciones en las preparaciones de enzima empleadas, que fueron las siguientes: A: Se añadió Maxamyl LX 6000, derivada de Bacillus subtilis, tratada para dejarla sustancialmente exenta de proteasa, en una cantidad de 0,25% basada en el peso seco total. B: Se añadió Thermamyl 60 (exenta de proteasa) en una cantidad de 0,5%. C: Se añadió Thermamyl 60, sin tratar para dejarlo sustancialmente exenta de proteasa, en una cantidad de 0,5%.

Después del tratamiento, cada producto se separó por medio de una centrífuga Toniatti que operaba a 25000 revs. por min. Las fracciones respectivas de corriente de fondo (gluten vital) y de rebose (almidón soluble) tenían las composiciones que se indican en la Tabla II.

15

20

25

30

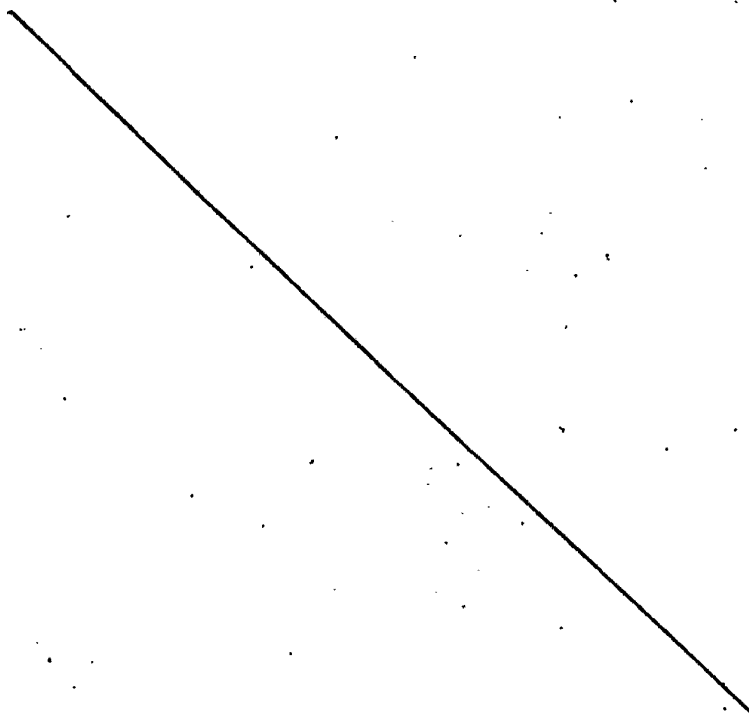


TABLA II

	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>
5	Corriente de fondo (fracción de gluten vital):		
	Peso total	578,3 kg	561,5 kg 467,3 kg
	% sustancia seca	26,8%	23,4% 27,6%
	Peso sustancia seca	155 kg	131 kg 129 kg
10	% proteína, base seca	55%	65% 53,7%
	Peso proteína	85,25 kg	85,15 kg 69,27 kg
	Corriente de rebose (fracción de almidón soluble):		
15	Peso total	1431,7 kg	1448,5 kg 1542,7 kg
	% sustancia seca	8,9%	10,5% 10,1%
	Peso sustancia seca	129,4 kg	152,1 kg 155,8 kg
	% proteína	8,1%	6,8% 16,9%
20	Peso proteína	10,3 kg	10,3 kg 26,3 kg

Los valores anteriores ilustran de qué modo es deseable el empleo de una alfa-amilasa que esté sustancialmente exenta de proteasa, para minimizar la solubilización del gluten.

25

30

REIVINDICACIONES

5 Los puntos de invención propia y nueva, que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

10 1ª.- Un procedimiento para tratar una mezcla de gluten de trigo vital y almidón de trigo, que contiene al menos aproximadamente 25% de proteínas, con objeto de separar el gluten vital y obtener como segundo producto un almidón solubilizado, que comprende  
15 someter la mezcla, en medio acuoso, a la acción de una alfa-amilasa bacteriana en condiciones en las que una cantidad sustancial del almidón se solubiliza sin sufrir gelatinización, estando comprendida la temperatura durante la solubilización dentro del intervalo que va desde  
20 de aproximadamente 45°C a aproximadamente 60°C, el pH dentro del intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 7, y no excediendo el tiempo de tratamiento de aproximadamente 6 horas, y separar después de ello el gluten vital del almidón solubilizado.

25 2ª.- El procedimiento de la reivindicación 1ª en el que la alfa-amilasa está sustancialmente exenta de proteasa.

30 3ª.- El procedimiento de la reivindicación 1ª o la reivindicación 2ª en el que la mezcla de gluten de trigo vital y almidón de trigo compren-

de una fracción rica en proteínas obtenida de harina de trigo.

5 4ª.- El procedimiento de la reivindicación 3ª, en el que la fracción rica en proteína contiene desde aproximadamente 25% a aproximadamente 80% de proteína.

10 5ª.- El procedimiento de la reivindicación 4ª, en el que dicha fracción contiene desde aproximadamente 30% a aproximadamente 40% de proteína.

15 6ª.- El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 3ª a 5ª en el que dicha fracción se ha obtenido sometiendo una suspensión acuosa de harina de trigo a decantación centrífuga y separando de este modo dicha harina en la fracción rica en proteínas y una segunda fracción que comprende almidón de trigo sustancialmente exento de proteínas.

20 7ª.- El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 6ª en el que la alfa-amilasa bacteriana está sustancialmente exenta de proteasa y se ha derivado de un microorganismo del género Bacillus.

8ª.- El procedimiento de la reivindicación 7ª en el que la alfa-amilasa es una derivada de un microorganismo seleccionado del grupo constituido por Bacillus licheniformis y Bacillus subtilis.

25 9ª.- El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 8ª en el que la alfa-amilasa bacteriana se añade en una cantidad que excede de la cantidad mínima necesaria para solubilizar la totalidad del almidón presente, y en el que el tiempo de solubilización no excede de aproximadamente 3 horas.

30

1

10ª.- El procedimiento de la reivindicación 9ª en el que, a continuación de la separación del gluten vital, la solución de almidón solubilizado, que contiene todavía enzimas activas, se combina con almidón bruto de nueva aportación, y la mezcla resultante se somete a un procedimiento de solubilización.

5

10

11ª.- El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 10ª, que incluye la etapa de sacarificar el almidón solubilizado resultante con una enzima sacarificadora.

15

12ª.- El procedimiento de la reivindicación 9ª o la reivindicación 10ª en el que se añade también una enzima sacarificadora a la mezcla inicial, y en el que, después que se ha separado el gluten vital, la solución de almidón solubilizado, que contiene todavía enzima activa, se combina con almidón bruto nuevo, la mezcla resultante se somete a un procedimiento de solubilización, y el almidón así solubilizado se sacarifica subsiguientemente con una enzima sacarificadora.

20

13ª.- El procedimiento de la reivindicación 11ª, o la reivindicación 12ª en el que la enzima sacarificadora es glucoamilasa.

25

14ª.- El procedimiento de la reivindicación 11ª o la reivindicación 12ª en el que la enzima sacarificadora es una enzima maltogénica.

30

15ª.- El procedimiento de la reivindicación 1ª, en el que la mezcla de gluten de trigo vital y almidón de trigo se obtiene como una segunda fracción del fraccionamiento de harina de trigo, comprendiendo la primera fracción de dicho fraccionamiento almidón de trigo sustancial-

1 mente puro, y cuyo procedimiento comprende las etapas de:  
a) solubilizar la porción de almidón de dicha segunda frac-  
ción tratando una suspensión acuosa de la misma con una  
cantidad de alfa-amilasa bacteriana exenta de proteasa, en  
5 una cantidad suficiente para solubilizar no solo el almi-  
dón presente en esa fracción, sino también al menos una por-  
ción sustancial del almidón de trigo obtenido como dicha  
primera fracción, en donde el tratamiento con enzima se lle-  
va a cabo a una temperatura dentro del intervalo de aproxi-  
10 madamente 45°C a aproximadamente 60°C, y un pH dentro del  
intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 7, duran-  
te un período de tiempo que no excede de aproximadamente  
3 horas; y b) separar y recuperar el gluten vital a partir  
de la solución de almidón solubilizado resultante; inclu-  
15 yendo el procedimiento la etapa adicional de: c) añadir a  
la solución solubilizada obtenida a partir de b) al menos  
una porción sustancial del almidón de trigo obtenido como  
primera fracción del fraccionamiento de la harina de tri-  
go inicial a fin de que se solubilice el almidón nuevo.

20 16ª.- El procedimiento de la reivindicación 15ª,  
que incluye la etapa adicional de sacarificar enzimática-  
mente el almidón solubilizado obtenido en la etapa c).

25 17ª.- El procedimiento de la reivindicación 16ª,  
en el que la sacarificación enzimática se efectúa por me-  
dio de glucoamilasa.

18ª.- El procedimiento de la reivindicación 16ª,  
en el que la sacarificación enzimática se efectúa por me-  
dio de una enzima maltogénica.

30 19ª.- El procedimiento de cualquiera de las rei-  
vindicações 15ª a 18ª en el que en la etapa B, se añade

1 una enzima sacarificadora a la suspensión acuosa además  
de la alfa-amilasa bacteriana.

5 20ª.- El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 15ª a 19ª en el que la alfa-amilasa bacteriana se deriva de un microorganismo seleccionado del grupo constituido por Bacillus licheniformis y Bacillus subtilis.

21ª.- El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 15ª a 20ª, en el que la harina de trigo se fracciona por medio de decantación centrífuga.

10 22ª.- El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 15ª a 21ª en el que la harina de trigo se fracciona en una primera fracción que comprende almidón de trigo sustancialmente puro y una segunda fracción rica en proteína que contiene desde aproximadamente 30% a aproximadamente 40% de proteína.

15 23ª.- "UN PROCEDIMIENTO PARA TRATAR UNA MEZCLA DE GLUTEN DE TRIGO VITAL Y ALMIDON DE TRIGO".

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

20 Esta Memoria consta de VEINTICUATRO hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 06. JUL. 1978

P.A.

25 Alberto E. Elorza  
Por Poder

30

300678