



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 N.º de publicación: ES 2 046 135

21 Número de solicitud: 9201382

51 Int. Cl.⁵: C11B 1/04

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación: **03.07.92**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **16.01.94**

Fecha de concesión: **21.06.94**

45 Fecha de anuncio de la concesión: **01.09.94**

45 Fecha de publicación del folleto de patente:
01.09.94

73 Titular/es:
**Universidad de Santiago de Compostela
Plaza de Obradoiro/Pazo de San Xerome
15706 Santiago de Compostela, Coruña, ES**

72 Inventor/es: **Lema Rodicio, Juan M.;
Nuñez García, M. José y
Domínguez González, Herminia**

74 Agente: **No consta**

54 Título: **Tratamiento enzimático de semillas oleaginosas para mejorar la extracción de aceite y simultáneamente aumentar la calidad nutricional de la harina.**

57 Resumen:

Tratamiento enzimático de semillas oleaginosas para mejorar la extracción de aceite y simultáneamente aumentar la calidad nutricional de la harina. El método mejora los procesos convencionales de obtención de aceites vegetales a partir de semillas de bajo contenido graso (por ejemplo haba de soja) y de elevado contenido graso (almendra de girasol), por aplicación de un tratamiento enzimático al haba de soja previa y simultáneamente al proceso de extracción con disolventes, y previamente al prensado de la almendra de girasol. Dicho tratamiento se efectúa mediante complejos enzimáticos de actividad múltiple: celulasa, hemicelulasa, glucanasa y pectinasa y permite que el aceite se libere más fácilmente, mejorando la rapidez del proceso y aumentando la capacidad de producción. La harina residual obtenida tiene una mayor digestibilidad cuando se emplea en alimentación animal. La modificación propuesta puede implementarse sobre la instalación existente sin provocar cambios sustanciales en el curso de la operación convencional.

Aviso: Se puede realizar la consulta prevista por el artº 37.3.8 LP.

DESCRIPCION

Tratamiento enzimático de semillas oleaginosas para mejorar la extracción de aceite y simultáneamente aumentar la calidad nutricional de la harina.

5 Dependiendo del contenido graso de las semillas, se emplean diferentes procesos de extracción, cuyo objeto, además de la extracción de aceite, es mantener la calidad de la torta o la harina de elevado contenido proteico. El proceso de extracción utilizado depende del tipo de semillas que se va a extraer. Los procesos convencionales más comunes son la extracción por disolventes de semillas de bajo contenido graso, y por presión y disolventes de las de elevado contenido graso.

10 A continuación se indican los procesos convencionales generales de extracción, por disolventes y por presión y disolventes.

15 a) *Extracción de semillas de bajo contenido graso*

La extracción por disolventes del aceite de semillas oleaginosas es el método de más amplia aplicación en la actualidad, ya que precisa menor energía, elimina más aceite y los rendimientos de extracción son mayores que por prensado. El proceso convencional de obtención de aceite y harina de soja (la semilla más representativa de este grupo) consta de etapas de acondicionamiento térmico y mecánico (laminado y/o troceado), y extracción con un disolvente orgánico (hexano generalmente), que se separa por destilación en una etapa posterior. La extracción por disolventes se realiza por percolación e inmersión del disolvente en un equipo de extracción sólido-líquido de operación continua. El haba de soja laminada se deposita en forma de manta de espesor variable sobre una cinta sin fin; el disolvente percola a través del lecho, recogiénose en la zona inferior. El disolvente fresco se emplea en las últimas fases de la extracción y el que presenta ya un mayor contenido en aceite percola a través del haba fresca. La operación, por tanto, transcurre según una estrategia de contracorriente. El proceso se desarrolla hasta que se haya recuperado la práctica totalidad del aceite. La capacidad del proceso, por tanto, depende de la velocidad de extracción.

30 b) *Semillas de elevado contenido graso.*

La extracción combinada por presión y disolventes consiste en la eliminación de parte del aceite por prensado hasta un contenido residual inferior al 20%, que se elimina por extracción con disolventes una vez se rompe la torta; se reduce así el contenido graso residual hasta un 1%. Aunque se alcanza menor desnaturalización de la proteína, porque la temperatura del proceso de prensado puede ser menor que en el prensado completo, todavía esta temperatura causa cierta degradación del aceite. Como ejemplo se ha seleccionado por su importancia comercial la almendra de girasol.

40 La incorporación del tratamiento enzimático en un proceso convencional permite aprovechar las ventajas que su aplicación implica sin modificar apreciablemente las instalaciones ni el curso de la operación convencional Sosulki, K. y Sosulski. F.W. 1990 (Proceedings of ICEF5,3:656) aplicaron un tratamiento enzimático previo a la extracción de aceite de canola (variedad de canola canadiense) durante el proceso de extracción por prensado.

45 Entre los procesos alternativos de extracción basados en el empleo de otros disolventes, cabe destacar el que emplea agua como agente de separación de aceite. Frente a la menor peligrosidad, toxicidad, menores costes de inversión y operación, mayor flexibilidad de operación, seguridad operacional y ambiental, presenta el inconveniente de que la extracción no es tan eficaz, surgen problemas de desmulsificación y los costes de evaporación son considerables.

50 Existen diversos trabajos que proponen la aplicación del tratamiento enzimático en procesos acuosos, con el fin de aumentar la eficacia de recuperación del aceite vegetal por desintegración del material celular (Marek, E. et al., 1990. Prog. Biotechnol, 6:471-474), cabe asimismo destacar la patente de Fullbrook, P.D. 1984 (UK 2 127 425 A), para extracción de aceite de soja, colza y semillas de melón, o la de Gresch, W. 1989 (WO 8 909 255 A), que propone el empleo de enzimas durante el procesado acuoso de semillas vegetales, con separación del aceite y la proteína por un sistema de filtración.

60 La presente invención se refiere a un procedimiento que permite mejorar el proceso de obtención de aceite a partir de semillas oleaginosas de bajo (soja, semilla de algodón) y alto contenido graso (girasol, colza, cacahuete, sésamo) y simultáneamente aumentar la calidad nutricional de la harina obtenida, mediante la aplicación de un tratamiento enzimático previo o simultáneo a la extracción.

El aumento de eficacia en la etapa de extracción, conseguido mediante la modificación propuesta, permitiría reducir el tiempo de operación y podría aumentar la capacidad de la planta extractora. Por otra parte, durante la extracción de semillas de elevado contenido graso, las temperaturas alcanzadas durante el proceso de prensado perjudican la calidad de los productos. La incorporación de la etapa propuesta reduce el tiempo de prensado y aumenta el rendimiento de la operación, lo cual permite reducir esta exposición a condiciones adversas.

El procedimiento a seguir en cada caso se define en función de las características del propio proceso:

10 a) *Extracción por disolventes*

Durante el proceso de incubación-extracción se pretende mantener un contenido en humedad inferior al 14-16% en peso para evitar el efecto negativo que ello supone sobre la velocidad de extracción; se hace necesario un secado de las semillas antes de adicionar el disolvente.

15 i) Preparación de las semillas los copos.

Se pueden emplear habas laminadas en copos comerciales, o bien habas troceadas en un rango de tamaños suficientemente reducido para que permita una buena accesibilidad del enzima y del disolvente, pero que no produzca excesivos finos que causen problemas de operación durante la extracción. Se propone el empleo de habas laminadas en copos según el proceso industrial convencional.

ii) Preparación del complejo enzimático.

Se emplea el preparado comercial crudo, sin purificación previa, puesto que por resultados previos se comprueba que no se ve afectada la efectividad del tratamiento, y al no eliminar los antibactericidas es más estable una vez diluído. Se prepara una disolución del enzima en agua destilada, puesto que no se pretende modificar el pH del sistema, sino trabajar al valor natural de las semillas (6.4-6.6). La concentración final de la disolución enzimática ha de ser la que permita alcanzar un contenido en humedad inferior al 14-16 %, para evitar modificaciones en la estructura que dificultarían la extractabilidad.

iii) Aplicación del complejo enzimático.

Esta etapa se realiza mediante aplicación de la solución enzimática sobre los copos del haba por pulverización sobre la superficie; el enzima queda, por tanto, retenido sobre los copos. La relación concentración enzima/copo óptima se encuentra entre el 1 y 3 % (p/p). Se deja alcanzar la temperatura de operación (entre 4-55°C), se deja transcurrir la reacción enzimática y el secado simultáneo a 50°C durante 1/2 h antes de añadir el disolvente extractor, lo que permite reducir el porcentaje de humedad a un valor entre 10-11 %.

iv) Proceso de extracción.

Se realiza en idénticas condiciones que el proceso comercial actual, aunque a una mayor velocidad.

45 b) *Extracción por pre-prensado y disolventes.*

El tratamiento enzimático se aplica en una etapa previa a la extracción por presión, la secuencia seguida es la que se indica a continuación:

50 i) Se añade una solución enzimática diluída que permita mantener un porcentaje de humedad entre el 20 y el 40%, preferiblemente entre 25 y 35 %. No se modifica el pH del medio, por que la reacción enzimática se mantiene en el valor de pH natural de las almendras.

ii) La relación enzima/almendra ha de estar entre 2-4 g enzima /100 g almendra en base seca.

55 iii) La incubación con los enzimas se realiza a temperaturas entre 45-55°C, durante periodos comprendidos entre 2.5-7.5 h.

iv) Proceso de extracción, que se realiza por presión una vez secadas las almendras, y la torta obtenida se extrae por disolventes orgánicos.

Ejemplo 1

Tratamiento previo y simultáneo con la extracción de habas de soja laminadas

5 Se aplicó el tratamiento previamente a la extracción por disolventes de habas de soja con un contenido
 graso del 21 % (p/p) en base seca, que se mantiene también durante el curso de la misma. Se procedió a
 realizar el tratamiento en un equipo que permitiese el seguimiento de la evolución del proceso por medidas
 de concentración de la miscela por absorbancia a 225 nm ó 300 nm, así como la realización de ambos
 10 procesos, el enzimático y el extractivo en un extractor vertical, funcionando con flujo ascendente con el
 lecho inmerso en el disolvente. El extractor consta de un cuerpo extractor (volumen total de 100 ml) con
 un volumen hueco en la parte superior (85 ml) para permitir la existencia de vapores de disolvente; el
 conjunto está calentado por un baño exterior de agua termostataizado y la temperatura óptima de ope-
 ración está en el rango 45-55°C. Debido a que el sistema no es de cierre hermético para evitar pérdidas
 de disolvente, en la zona superior se adapta un refrigerante para condensar los vapores de hexano. El
 15 hexano se recircula continuamente, por lo que la primera parte de la extracción se debe al disolvente y
 la última a la miscela. Sin embargo la no utilización de disolvente puro en las últimas etapas de proceso
 no permite agota el contenido graso de la semilla. Se adiciona el enzima diluido en agua a las habas
 troceadas y una vez se ha alcanzado la temperatura de operación (45-55°C) se deja reaccionar durante
 un período de 0.5-1 h en que la humedad se reduce hasta 10-11 % durante 1/2 h (antes de añadir el
 20 disolvente extractor) lo que permite reducir el porcentaje de humedad al valor final entre 10-11 %.

La Figura 1 muestra el comportamiento a lo largo de un período de 100 minutos de habas de soja
 laminadas no tratadas y tratadas con diferentes relaciones enzima/semillas en las condiciones de humedad
 y temperatura seleccionadas previamente. Las relaciones enzima/sustrato empleadas son 1,2 y 3 g/100
 25 g de semilla seca. El rendimiento en cada punto se calcula a partir de la concentración de la miscela,
 teniendo en cuenta el volumen de muestra y de disolvente eliminando en las tomas de muestra previas, y
 las pérdidas de disolvente por evaporación estimadas en 3 ml de disolvente/h.

En la Figura 1 se representa el efecto del tratamiento enzimático sobre la cinética de extracción de
 30 habas de soja laminadas sin tratar (-) y tratadas con 1(●), 2(■) y 3(▲) g enzima/100 g copos, durante la
 extracción en un sistema de inmersión. Representando en abscisas el Tiempo (minutos) y en ordenadas
 el Rendimiento (% aceite total).

Se alcanzan mejoras máximas de hasta 5 % del aceite total, durante los primeros momentos del pro-
 35 ceso. La mejoría apreciada en el rendimiento de extracción se hace más patente en los primeros momentos
 del proceso, alcanzándose mejoras de hasta un 5 % más del aceite total, aunque se mantiene a lo largo
 del mismo. Este comportamiento revela una clara ventaja de la incorporación de este tratamiento: la
 reducción del tiempo de operación necesario para lograr el mismo contenido graso residual. Durante
 las primeras etapas del proceso se aprecia que en un período de tiempo aproximadamente de la mitad
 40 que para muestras sin tratar se logra un rendimiento de extracción comparable. Así para la relación
 enzima/semilla mayor se logra en los primeros 10 minutos, casi al mismo rendimiento de extracción que
 en las muestras sin tratar a los 20 minutos.

Una vez se da por finalizado el proceso de extracción se elimina el disolvente de la miscela y se toma
 45 muestra de las semillas, pero puesto que estas retienen en su superficie porosa cierta cantidad de aceite, es
 preciso eliminar por centrifugación esta fracción para evitar errores en la determinación de aceite residual.

Las cualidades del aceite (Tabla I) no se ven negativamente afectadas, a pesar del aumento en el
 grado de acidez. El índice de peróxidos no es significativamente diferente para las diferentes muestras, y
 50 se mantiene en valores inferiores a 10 meq/kg, límite superior que no han de sobrepasar estos aceites para
 mantener unas características mínimas de calidad. El color de las muestras, medido en una dilución 1:1
 aceite/hexano a 420 y 453 nm frente a hexano como referencia, no difiere significativamente por aplicación
 del tratamiento enzimático durante la extracción.

Otra ventaja, aunque no ha sido analizada, podría ser la facilidad de refinado de estos aceites, puesto
 que los procesos propuestos para favorecer este efecto consisten en una serie de etapas análogas: aumento
 de la humedad del material antes de la extracción y posterior tratamiento térmico, según propone Frank,
 G. 1989. (Fat Sci. and Technol, 4:129-134).

60

Tabla I.

Características del aceite de soja obtenido por extracción con hexano, procedente de habas tratadas y no tratadas.

Características	Sin tratar	Tratadas
Acidez total (% oleico)	0.59	0.82
Peróxidos (meq/kg aceit)	3.89	3.43
N° Saponificación (mg KOH/g)	190	187
Absorbancia		
420 nm	0.43	0.40
453 nm	0.53	0.47

La harina, obtenida una vez desolvatados los copos en condiciones de temperatura suave (25-30°C), se somete a los análisis indicados en la Tabla II realizados según los métodos analíticos del Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Ed. Kenneth Helrich, 15th, Ed. 1990. Las muestras se desgrasan a temperatura ambiente con éter de petróleo o hexano y se muelen hasta el tamaño requerido para los análisis de digestibilidad enzimática in vitro medidas como coeficiente de digestibilidad aparente (C.D.A.), (Hsu, H.W. et al., 1977. J. Food Sci, 42; 1269-1273) y para lisina disponibles (James, N.A. y Ryley, J. 1986. J. Sci. Food Agric, 37:151-156).

Se comprueba que el tratamiento enzimático afecta sensiblemente a las cualidades de las respectivas harinas. La utilización de enzimas no proteolíticos, que permite obtener proteína no degradada, resulta en una liberación de las proteínas de la matriz de polisacáridos que justifica el aumento de la digestibilidad, por la liberación de los nutrientes de los tejidos vegetales (Schwimmer, 1980. Source book, of food enzymology. The Avi Publishing Company, Inc., Wesport, Connecticut, USA).

(Ver Tabla en la página siguiente)

Tabla II.

Comparación de algunas características de la harina de habas laminadas no tratadas con enzimas a distintas relaciones enzima/semilla extraídas por inmersión (% base seca desgrasada, salvo aceite residual, expresado en % base seca).

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

Composición	Sin tratar	Tratadas enzimáticamente		
		1 g/100g	2 g/100g	3 g/100 g
Fibra Neutro Detergente	10.37	10.36	9.95	9.93
Fibra Acido Detergente	6.12	6.15	5.45	5.41
Azúcares reductores	0.22	0.31	0.33	-
Azúcares totales	9.26	9.73	11.16	10.21
Cenizas	6.73	6.66	6.63	6.84
Características	Sin tratar	Tratadas enzimáticamente		
		1 g/100g	2 g/100g	3 g/100g
Proteína soluble (%)	87.62	84.67	86.24	88.13
Coficiente de Digestibilidad Aparente (%)	75.06	75.98	77.21	77.37
Lisina disponible (mg/16 mg N)	5.04	4.83	4.90	5.09

Ejemplo 2

Pretratamiento enzimático de almendras de girasol previo a la extracción del aceite por presión.

60

Se evaluó la efectividad de un tratamiento enzimático previo a la extracción de semillas de elevado contenido graso, comprobándose el efecto favorable del pretratamiento sobre la extractabilidad del aceite de almendras de girasol. Las muestras al prensado en una prensa discontinua a más de 250 kg/cm²

durante 1/2 h, a temperatura ambiente sin acondicionamiento mecánico o térmico previo.

Se estudió el efecto de las variables de operación que influyen más directamente sobre la efectividad del proceso: la relación enzima /almendra y el tiempo de tratamiento. Para ello se realizó el tratamiento en condiciones de pH natural de las almendras, en un rango de temperaturas entre 40°C y 55°C, preferiblemente siguiendo una secuencia creciente de temperaturas. El tratamiento se aplica en presencia de un 25-35 % de humedad, con valores de la relación enzima/almendra entre 2-4 g de enzima/100 g almendra, y durante períodos de tratamiento entre 2.5 y 7.5 h. Una vez finalizado el tratamiento se secan las almendras hasta que alcancen un 4-6 % de humedad, procurando que el secado sea a temperaturas moderadamente elevadas, de modo que no resequen la zona externa de la almendra y dificulten el prensado; contenidos en humedad superiores permiten extraer eficazmente el aceite de la torta.

Se empleó la relación enzima/almendras más favorables (3 g enzima/100 g almendra) para aumentar la extractabilidad del aceite. El aumento del tiempo de tratamiento ejerce un efecto favorable sobre la extractabilidad del aceite, mientras que para lograr los mejores coeficientes de digestibilidad aparente (C.D.A.), son preferibles los tiempos menores, así se fija el valor de esta variable en 6 h.

En las condiciones encontradas como óptimas se llevaron a cabo experiencias con el fin de poder determinar el efecto del tratamiento enzimático previo a la extracción por presión de semillas de elevado contenido graso sobre la calidad de los productos: aceite y torta obtenidas de muestras extraídas directamente, y de muestras tratadas con una mezcla de enzimas y con un complejo de actividad múltiple. Las características del aceite crudo de presión se presentan en la Tabla III. El contenido en ácidos grasos libres (como porcentaje de ácido oleico) es ligeramente superior en las muestras tratadas frente a las no tratadas, la causa radica en las condiciones del tratamiento, mantenimiento de condiciones desfavorables de elevada temperatura y humedad durante la hidrólisis enzimática. Se elimina mayor cantidad de fósforo cuando se aplica el tratamiento y el contenido en peróxidos se mantiene dentro del mismo orden que en muestras sin tratar e inferior al valor máximo permitido de 10. El color de los aceites crudos obtenidos a partir de muestras tratadas con enzimas antes de la extracción por presión no es significativamente diferente de los extraídos de muestras no tratadas.

Tabla III.

Comparación de algunas de las principales características del aceite de prensa de almendras tratadas y no tratadas con enzimas previamente a la extracción por presión en un sistema discontinuo.

Características	Sin tratar	Tratamiento enzimático		
		Mezcla	Actividad múltiple	
Acidez total (% oleico)	1.2	1.4	1.3	
Fósforo (μ /g)	13.8	16.8	14.3	
Peróxidos (meq/kg)	4.5	4.3	4.1	
N° Saponificación (mg KOH/g)	186	187	185	
Absorbancia	420 nm	0.215	0.280	0.266
	453 nm	0.266	0.309	0.290

Las características de la torta desgrasada se resumen en la Tabla IV para las muestras procedentes de almendras tratadas en las condiciones más favorables y extraídas por presión.

5

Tabla IV.

Comparación de algunas de las principales características de la torta de almendras tratadas y no tratadas con enzimas previamente a la extracción por presión en un sistema discontinuo; expresada en % base seca desgrasada, salvo el aceite residual en % del total).

10

15

20

25

30

35

40

45

50

Composición	Sin tratar	Tratadas enzimáticamente	
		Mezcla	Actividad múltiple
Aceite residual	36.03	22.92	24.21
Fibra Neutro Detergente	16.21	14.70	14.03
Fibra Acido Detergente	9.82	7.93	7.75
Cenizas	6.29	6.81	6.72
Azúcares reductores	1.03	1.87	2.01
Azúcares totales	5.18	6.64	6.21
Características	Sin tratar	Mezcla	Actividad múltiple
Coefficiente de Digestibilidad Aparente (%)	80.36	84.32	83.95
Lisina disponible (mg/16 mg N)	3.25	3.28	3.19

55

60

El aceite residual en la harina disminuye entre un 11 y un 13% del contenido graso total de las almendras cuando se realiza un proceso enzimático previo a la extracción por presión. El aumento de un 1.1-1.5 en el porcentaje de azúcares totales -extraídos con alcohol al 70%- se justifica por la acción enzimática de degradación de la pared celular. El valor nutritivo de la harina se ha analizado midiendo la digestibilidad y disponibilidad del aminoácido esencial más deficitario, y el más fácilmente afectado por las condiciones desfavorables del proceso, la lisina. Las propiedades nutricionales de la harina se ven significativamente mejoradas, pues aumenta el coeficiente de digestibilidad aparente en un 5% y la lisina disponible no se ve afectada por el tratamiento. El contenido en fibra total de la harina procedente del tratamiento enzimático se reduce en un 13.6 %, en las condiciones más favorables, lo que indica la eficaz acción hidrolítica de los enzimas sobre las paredes celulares, alcanzándose las reducciones máximas

a medida que se aumenta la relación enzima/semilla y el tiempo de tratamiento.

Un factor cuyo estudio se siguió de modo cualitativo durante esta serie de experimentos fue el color de las muestras sometidas al tratamiento. Este parámetro, determinado visualmente una vez finalizado el período de hidrólisis, se considera como indicativo de las reacciones de oxidación de los compuestos polifenólicos presentes en estas semillas, favorecidas por las condiciones de operación durante el tratamiento. Se confirmó con el estudio de la digestibilidad, pues el oscurecimiento se produce de forma paralela a la disminución de digestibilidad.

Una vez eliminada la primera fracción de aceite por presión se analizó la extractibilidad con disolventes de las tortas tratadas enzimáticamente tras el proceso de prensado. En la Figura 2 se presenta la cinética de extracción en Soxhlet de las tortas obtenidas cuando se someten a extracción almendras enteras sin tratar y almendras tratadas con una mezcla de enzimas o tratadas con un preparado de actividad múltiple al pH natural de las semillas, con una secuencia creciente de temperaturas durante 6 horas de tratamiento en una relación enzima/almendras de 3 g/100 g de muestra seca. Se representa el rendimiento de extracción como el porcentaje de aceite extraído respecto al residual total contenido en la torta. Se aprecia una mejoría máxima a las 4 h de extracción de un 10 % superior al que presenta la torta de muestras sin tratar, y la tendencia asintótica a valores superiores en las muestras tratadas que en las sin tratar, indicando asimismo una mejor extractabilidad por disolventes.

En la Figura 2 se representa la extractabilidad con disolvente del aceite de las tortas de girasol de almendras sin tratar (-), y tratadas con una mezcla de enzimas (■) y con una enzima de actividad múltiple (▲). Representando en abscisas el Tiempo (horas) y en ordenadas el Rendimiento (%), aceite extraído/aceite total torta).

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de extracción de aceite de semillas oleaginosas **caracterizado** por la aplicación de una solución enzimática previamente al proceso de extracción convencional, con un tiempo de incubación de los enzimas sobre la semilla pretratada (preparación mecánica y térmica), y mantenimiento de la actividad enzimática durante la extracción.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** por que la aplicación de la solución multienzimática se realiza por pulverización sobre la semilla pretratada.

3. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** por que la solución multienzimática tiene actividad celulosa, hemicelulosa, glucanasa y pectinasa.

4. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** por que la incubación con el complejo multienzimático sobre la semilla se realiza a una temperatura de 45 a 55°C durante un tiempo de 0.5 a 1.5 horas.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

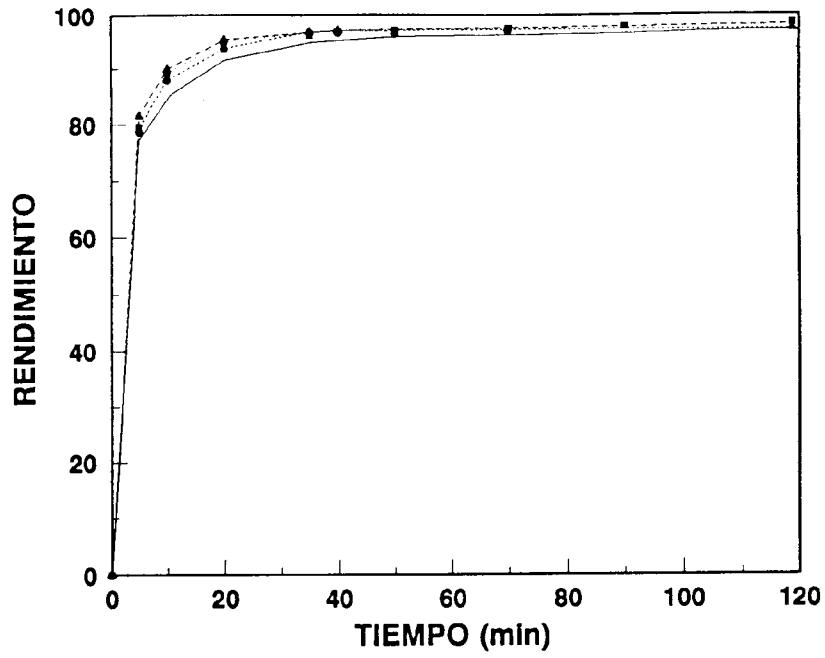


Figura 1

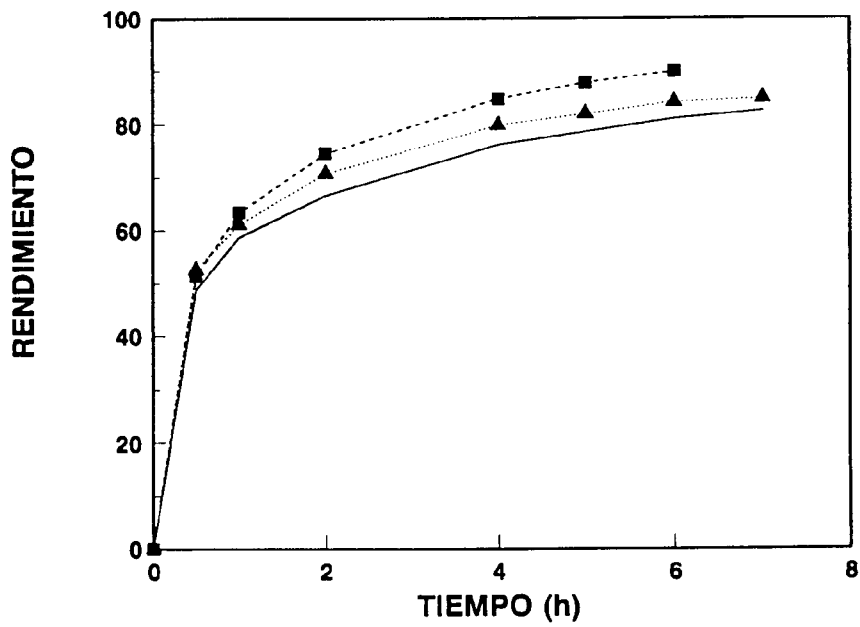


Figura 2



INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤ Int. Cl.⁵: C11B1/04

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	GB-A-2127425 (IMPERIAL BIOTECHNOLOGY LTD.) * pág. 2, líneas 27-129; pág. 3, ejemplo 1; reivindicación 1 *	1, 3 y 4
A	GB-A-1402769 (CPC INTERNATIONAL INC.)	1-4
A	GB-A-2215980 (NOVO INDUSTRI A/S)	1-4
A	WO-A-91/13956 (ÖLJYNPURISTAMO OY)	1-4
A	GB-A-2115820 (NOVO INDUSTRI A/S)	1-4
A	WO-A-89/09255 (BUCHER-GUYER AG)	1-4

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe

29.10.93

Examinador

A. Maquedano Herrero

Página

1/1