

CONCENTRADOS DE PROTEÍNA A PARTIR DE SEMILLAS OLEAGINOSAS Y MÉTODOS PARA PRODUCIRLOS

5 REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional estadounidense n.º 62/292,533, presentada el 08 de febrero de 2016 y la solicitud de patente provisional estadounidense n.º 62/303, 609, presentada el 04 de marzo de 2016, cuyo contenido se incorpora a la presente en su totalidad mediante esta referencia.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] La necesidad de concentrados de proteína de alta calidad a partir de fuentes vegetales sostenibles para su uso en alimentos para animales, especialmente alimentos para acuicultura densos en nutrientes, tales como alimentos para salmón y otras especies marinas, continúa creciendo. Se espera que la producción de salmón a nivel mundial crezca 8 % año tras año durante los próximos diez a quince años, donde la producción de otras especies marinas posiblemente crezca incluso más rápidamente. Se espera que la necesidad de concentrados de proteína para sustentar dicha acuicultura crezca en más de 250,000 toneladas anualmente.

15

20

COMPENDIO DE LA INVENCION

[0003] En la presente se describen concentrados de proteína y métodos para preparar concentrados de proteína. Los aspectos de la descripción se refieren particularmente a concentrados de proteína preparados al combinar corrientes de proceso de molienda de granos, tal como agua liviana de maceración de maíz, con un material de semilla oleaginosa, tal como harina de soja. En un aspecto, los concentrados de proteína se pueden usar para producir un producto de proteína vegetal o una dieta alimenticia para animales.

25

30

[0004] En un aspecto, se describe un método para preparar un concentrado de proteína, que comprende: combinar un medio de maceración y un material de semillas oleaginosas para proporcionar una suspensión; ajustar opcionalmente el pH de la suspensión; agregar opcionalmente una o más enzimas al medio de maceración o la suspensión; macerar la suspensión; y aislar un concentrado de proteína de la suspensión. En algunas modalidades, el concentrado de proteína aislado se lava con un medio de lavado una o más veces. En algunas

35

modalidades, el método comprende, además, una etapa de secado para secar el concentrado de proteína aislado. En algunas modalidades, el material de semillas oleaginosas deriva de una semilla oleaginosa que se selecciona del grupo que consiste en soja, una semilla de canola, maní, una semilla de girasol, una semilla de lino, una semilla de algodón, una semilla de colza, y combinaciones de estos. En algunas modalidades, el material de semillas oleaginosas es una semilla oleaginosa sin cáscara. En algunas modalidades, el material de semilla oleaginosa se selecciona del grupo que consiste en copos de soja, harina de soja, soja molida, y combinaciones de estos. En algunas modalidades, el copo de soja, la harina de soja y la soja molida están reducidos en grasa. En algunas modalidades, el material de semillas oleaginosas es un concentrado de semilla oleaginosa parcialmente procesado.

[0005] El medio de maceración se puede seleccionar de varios materiales. En algunas modalidades, el medio de maceración es agua. En algunas modalidades, el medio de maceración comprende una proteína soluble. En algunas modalidades, el medio de maceración es una corriente acuosa de molienda en humedo, una corriente acuosa de molienda en seco o una combinación de estas. En algunas modalidades, el medio de maceración se selecciona del grupo que consiste en una corriente de agua de maceración de maíz, una corriente de agua de maceración de soja, una corriente de agua de maceración de trigo, una corriente de agua de maceración de legumbre, y combinaciones de estos. En algunas modalidades, el medio de maceración tiene un contenido de sólidos inferior a alrededor de 20 % de sólidos secos en peso, inferior a alrededor de 15 % de sólidos secos en peso, inferior a alrededor de 10 % de sólidos secos en peso, o inferior a alrededor de 5 % de sólidos secos en peso. En algunas modalidades, el medio de maceración es un medio de lavado reciclado a partir de un proceso de preparación de concentrado de proteína.

[0006] El medio de lavado se puede seleccionar de varios materiales, que incluyen los materiales también utilizados como medio de maceración. En algunas modalidades, el medio de lavado es agua. En algunas modalidades, el medio de lavado es una corriente acuosa de molienda en humedo, una corriente acuosa de molienda en seco o una combinación de estas. En algunas modalidades, el medio de lavado se selecciona del grupo que consiste en una corriente de agua de maceración de maíz, una corriente de agua de maceración de soja, una corriente de agua de maceración de trigo, una corriente de agua de maceración de legumbre, y combinaciones de estos. En algunas modalidades, el medio de lavado tiene un contenido de sólidos inferior a alrededor de 20 % de sólidos secos en peso, inferior a alrededor de 15 % de sólidos secos en peso, inferior a alrededor de 10 % de sólidos secos en peso, o inferior a alrededor de 5 % de sólidos secos en peso. En algunas

modalidades, el volumen de uno o más de los lavados es de alrededor de 1:1 con respecto al volumen de los sólidos macerados. El pH de uno o más materiales de proceso se puede ajustar y/o mantener dentro de un intervalo deseado. En algunas modalidades, el pH del medio de lavado se ajusta antes de al menos uno o más lavados del concentrado de proteína aislado. En algunas modalidades, el pH del medio de maceración se ajusta antes de combinarlo con el material de semillas oleaginosas para formar una suspensión. En algunas modalidades, el pH de la suspensión o medio de maceración se ajusta al intervalo de alrededor de 3.8 a 4.2. En algunas modalidades, el pH del medio de lavado se ajusta al intervalo de alrededor de 3.8 a 4.2. En algunas modalidades, el pH de la suspensión durante la etapa de maceración se mantiene en el intervalo de alrededor de 3.8 a 4.2. En algunas modalidades, el pH de la suspensión, medio de maceración o medio de lavado se ajusta con un ácido. En algunas modalidades, el ácido se selecciona del grupo que consiste en ácido láctico, ácido cítrico, ácido fórmico, ácido acético, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y combinaciones de estos. En algunas modalidades, el pH de la suspensión, medio de maceración o medio de lavado se ajusta con una base. En algunas modalidades, la base se selecciona del grupo que consiste en hidróxido de sodio, hidróxido de calcio, hidróxido de potasio y combinaciones de estos.

[0007] Como se describe en la presente, se pueden agregar opcionalmente una o más enzimas para reducir o eliminar un factor antinutricional. En algunas modalidades, una o más enzimas se seleccionan del grupo que consiste en una glucanasa, una xilanas, una celulasa, una hemicelulasa, una amilasa, una alfa-galactosidasa, una hemicelulasa, una pectinasa, una poligalacturonasa, una fitasa y una proteasa, y combinaciones de estos. En algunas modalidades, el método puede incluir una etapa de calentamiento para reducir un factor antinutricional.

[0008] En algunas modalidades, el método comprende, además, moler la semilla oleaginosa antes o durante la combinación del material de semilla oleaginosa y el medio de maceración. En algunas modalidades, la semilla oleaginosa molida tiene un tamaño de partícula promedio de alrededor de 50 micrones. En algunas modalidades, la etapa de aislamiento comprende al menos una de filtración, filtración de membrana y centrifugación. En algunas modalidades, el método comprende, además, tratar el concentrado de proteína o el producto de proteína vegetal con un carbohidrato reductor en condiciones adecuadas para formar un producto alimenticio para rumiantes. En algunas modalidades, el método comprende, además, preparar un producto alimenticio para animales al combinar el medio de lavado y/o el medio de maceración con uno o más ingredientes alimenticios. En una modalidad tal, uno o más ingredientes alimenticios comprenden fibra. En una modalidad tal, el método comprende, además, concentrar el medio de lavado y/o el medio de maceración.

[0009] En algunas modalidades, el concentrado de proteína comprende al menos alrededor de 60 % de proteína en peso seco, al menos alrededor de 61 % de proteína en peso seco, al menos alrededor de 62 % de proteína en peso seco, al menos alrededor de 63 % de proteína en peso seco, al menos alrededor de 64 % de proteína en peso seco, al menos
5 alrededor de 65 % de proteína en peso seco, al menos alrededor de 70 % de proteína en peso seco, al menos alrededor de 75 % de proteína en peso seco o al menos alrededor de 80 % de proteína en peso seco. En algunas modalidades, el concentrado de proteína tiene un contenido de humedad inferior a 15 %, un contenido de humedad inferior a 10 % o un contenido de humedad inferior a 5 %.

[00010] El concentrado de proteína puede tener un nivel inferior de factores antinutricionales que los niveles que se encuentran en la semilla oleaginosa antes del procesamiento de acuerdo con el método de la presente invención. En algunas modalidades, el concentrado de proteína tiene un contenido de inhibidor de tripsina inferior a 6 TIU/mg, inferior a 3
10 TIU/mg de inhibidor de tripsina, o inferior a 1 TIU/mg. En algunas modalidades, el concentrado de proteína tiene menos de 0.2 % de estaquiosa. En algunas modalidades, el concentrado de proteína tiene menos de 0.2 % de rafinosa. En algunas modalidades, el concentrado de proteína tiene menos de 2 % de ácido fítico, menos de 1.5 % de ácido fítico o menos de 1 % de ácido fítico.

[00011] En un aspecto, el concentrado de proteína comprende: una proteína derivada de una semilla oleaginosa y proteína de maíz con menos de 0.2 % de estaquiosa, menos de 0.2 %
20 de rafinosa y menos de 2 % de ácido fítico. En algunas modalidades, el concentrado de proteína tiene más de 65 % de proteína de soja, o más de 67 % de proteína de soja, en seco.

[00012] En un aspecto, el concentrado de proteína puede incorporarse a productos alimenticios para animales o dietas alimenticias para animales. En algunas modalidades, el
25 producto alimenticio para animales es un producto de proteína vegetal que comprende un concentrado de proteína como se describe en la presente y uno o más ingredientes alimenticios. En algunas modalidades, uno o más ingredientes alimenticios comprenden concentrado de proteína de maíz. En algunas modalidades, la dieta alimenticia para animales comprende un concentrado de proteína como se describe en la presente, o un
30 producto de proteína vegetal como se describe en la presente. En algunas modalidades, la dieta o el producto alimenticio para animales es adecuado para alimentar a peces u otros animales acuáticos.

[00013] Los elementos o aspectos de cualquiera de las modalidades de los métodos o
35 composiciones descritos anteriormente pueden aplicarse a cualquier otra modalidad, como lo entenderá un experto en la técnica.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[00014] La siguiente descripción detallada de la invención se entenderá mejor cuando se lea junto con los dibujos adjuntos. Sin embargo, debe entenderse que la invención no se limita a las disposiciones e instrumentaciones precisas de las modalidades que se muestran en los dibujos.

[00015] La Figura 1 es un diagrama de un ejemplo de modalidad de un proceso de producción de concentrado de proteína o proceso de producción de concentrado de proteína vegetal.

[00016] La Figura 2 es una gráfica que muestra datos del análisis del contenido de aminoácidos de harina de pescado Menhaden, Select (MFM, barras a la izquierda) y un concentrado de proteína de acuerdo con una modalidad de la presente invención (concentrado de proteína de soja Cargill (C-SPC), barras a la derecha) en materia seca.

[00017] La Figura 3 es una gráfica que muestra comparaciones de contenido de aminoácidos de ingredientes para varios tipos de alimentos, barras de izquierda a derecha: harina de soja (barras más hacia la izquierda) concentrado de proteína de maíz, producto derivado de aves de corral (barras centrales), C-SPC y MFM (barras más hacia la derecha).

[00018] La Figura 4 es una gráfica que muestra la capacidad de digestión de aminoácidos promedio en 3 tanques replicados para harina de pescado Menhaden (MFM, barras a la izquierda) y un concentrado de proteína de acuerdo con una modalidad de la presente invención (C-SPC, barras a la derecha).

[00019] La Figura 5 es una gráfica que muestra datos a color para ingredientes de alimento seleccionados. De izquierda a derecha para cada barra: SPC (concentrado de proteína de soja de acuerdo con una modalidad de la presente invención); SBM (harina de soja); PPC (concentrado de proteína vegetal de acuerdo con una modalidad de la presente invención); E75 (concentrado de proteína de maíz Empyreal™).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[00020] Se entiende que las figuras y descripciones de la presente invención proporcionadas en la presente se han simplificado para ilustrar elementos que son pertinentes para un claro entendimiento de la presente invención, mientras se eliminan otros elementos encontrados en los campos de la técnica relacionados. Los expertos en la técnica pueden darse cuenta que otros elementos o etapas pueden ser deseables o requeridas para implementar la presente invención. Sin embargo, dado que esos elementos o etapas se conocen en la técnica o no facilitan una mejor comprensión de la presente invención, no se proporciona en la presente una descripción de esos elementos o etapas.

[00021] A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto en la técnica a la cual pertenece la presente invención. Tal como se usa en la presente, cada uno de los términos que sigue tiene el significado que se le atribuye tal como se define en esta sección.

[00022] A lo largo de la presente descripción, diversos aspectos de la invención se pueden presentar en un formato de intervalos. Debe entenderse que la descripción en formato de intervalos se proporciona meramente a los efectos de la conveniencia y brevedad y no debe considerarse como una limitación inflexible del alcance de la invención. Por consiguiente, se debe considerar que la descripción de un intervalo describe específicamente todos los subintervalos posibles, así como los valores numéricos individuales dentro de ese intervalo. Por ejemplo, la descripción de un intervalo tal como de 1 a 7 debe considerarse que ha descrito subintervalos de forma específica tal como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 6, de 2 a 5, de 3 a 5, etc., así como números individuales dentro de ese intervalo, por ejemplo, 1, 2, 3, 3.6, 4, 5, 5.8, 6, 7, y cualquier incremento entero y parcial intermedio. Esto aplica sin importar la amplitud del intervalo.

Método de producción del concentrado de proteína

[00023] Existe la necesidad de concentrados de proteína derivados de fuentes vegetales sostenibles para su uso en alimentos para animales, por ejemplo, alimentos de acuicultura densos en nutrientes. Por consiguiente, la presente descripción se refiere a composiciones de concentrado de proteína y métodos para preparar dichas composiciones, preferentemente para su uso en acuicultura. El método descrito se puede utilizar para elaborar un concentrado de proteína al combinar una corriente de proceso acuoso generada a partir de la molienda (en húmedo o seco) de un grano (por ejemplo, maíz, trigo, cebada, malta, sorgo) o legumbres (por ejemplo, frijol pinto, alubias rojas, porotos blancos, chícharo, lenteja) con una semilla oleaginosa (por ejemplo, soja, semilla de canola, maní, semilla de girasol, semilla de lino, semilla de algodón, semilla de colza) y/o harina de semillas oleaginosas. El proceso aumenta el contenido de proteína del material de partida de la semilla oleaginosa, mientras que reduce el nivel de carbohidrato en el concentrado de proteína resultante. El concentrado de proteína resultante puede presentar una mayor capacidad de digestión en comparación con otros materiales. El concentrado de proteína se puede usar como ingrediente alimenticio para alimentar a peces u otros animales.

[00024] En un aspecto, el concentrado de proteína se prepara al combinar una corriente de proceso acuoso que incluye una proteína soluble con una semilla oleaginosa y/o harina de semilla

oleaginosas para proporcionar una suspensión, aislar un concentrado de proteína de la suspensión, y lavar el concentrado de proteína con una corriente de proceso acuoso. El agua puede sustituir a las corrientes del proceso acuoso en cualquier momento del proceso. En un aspecto, el proceso también puede incluir el tratamiento enzimático. El concentrado de proteína se puede secar o utilizar como torta húmeda. En algunas modalidades, el concentrado de proteína se seca conjuntamente con uno o más ingredientes de alimento alternativos para elaborar un producto alimenticio. Se puede utilizar un concentrado de proteína o un producto alimenticio que incluye el concentrado de proteína en una dieta alimenticia para animales.

[00025] En una modalidad, el concentrado de proteína se prepara mediante el uso de harina de soja como el material de partida de semillas oleaginosas. La harina de soja procesada conserva la mayoría, si no la totalidad, del contenido de azúcar soluble original de la soja en bruto, que es comúnmente superior a 90 por ciento en peso del contenido de azúcar soluble de la soja en bruto. Los azúcares solubles no metabolizados pueden tener un efecto negativo en el crecimiento y la salud de los peces de criaderos u otros animales. La densidad de baja energía de la harina de soja completamente desgrasada, debido a un contenido elevado de azúcares solubles no metabolizados y un nivel bajo de grasa, ha limitado sus niveles de inclusión en dietas de acuicultura. Un perjuicio adicional en la acuicultura es que, dado que los azúcares presentes en la soja son solubles en agua, algunos de estos azúcares se disolverán en el agua antes de ser consumidos por los peces y, por lo tanto, contribuirán a la contaminación del agua.

[00026] El concentrado de proteína producido de acuerdo con el método de la presente invención presenta un mejor contenido nutricional en comparación con los concentrados de proteína de semillas oleaginosas actualmente disponibles, específicamente al contener niveles inferiores de azúcar o almidón y niveles superiores de proteína que dichos concentrados de proteína actualmente disponibles. El método de la presente invención puede aumentar los niveles de proteína del concentrado de proteína de semillas oleaginosas al macerar un material de semillas oleaginosas con una corriente de molienda de granos con proteína soluble. Sin intención de limitarse a la teoría, la proteína soluble en la corriente de molienda de granos puede evitar o reducir la disolución de la proteína de semillas oleaginosas durante la maceración y el lavado, mientras se permite la disolución de una parte del contenido de azúcar o carbohidrato en el medio de maceración o lavado acuoso. Por consiguiente, una parte de la proteína del grano de la corriente de molienda se incorpora en el material de semillas oleaginosas, mientras que al mismo tiempo se retira el carbohidrato mediante el medio de maceración y/o lavado acuoso.

[00027] En algunas modalidades, el concentrado de proteína de la presente invención puede incluir un perfil de aminoácidos diferente que un perfil de aminoácidos de semillas oleaginosas típico o un perfil de aminoácidos de concentrado de proteína de semillas oleaginosas típico. Por ejemplo, un concentrado de proteína de acuerdo con la presente invención producido a partir de un material de soja puede presentar un perfil de aminoácidos diferente que el material de soja no procesado, o incluso un concentrado de proteína de soja producido de acuerdo con otros procesos, como resultado de la incorporación de proteínas a partir de una corriente de molienda que tienen un perfil de aminoácidos diferente. En algunas modalidades, un complemento de aminoácidos puede agregarse al concentrado de proteína para cambiar el perfil de aminoácidos, por ejemplo, para satisfacer las necesidades alimenticias específicas de un animal determinado. En algunas modalidades, la fuente de la corriente de molienda y/o el material de partida de semillas oleaginosas se pueden seleccionar o modificar para proporcionar un concentrado de proteína con el perfil de aminoácidos deseado.

[00028] En un aspecto, el proceso de la presente invención presenta un mayor rendimiento de sólidos y recuperación de proteína que los procesos conocidos, lo que puede generar que el proceso proporcione un valor considerablemente mayor que los procesos que se utilizan comúnmente para elaborar concentrados de proteína vegetal. En algunas modalidades, el proceso puede presentar una mejora significativa de retención de proteína en comparación con dichos procesos conocidos en la técnica, por ejemplo, una mejora de retención de proteína de hasta 30 % o más.

[00029] A continuación, con referencia a la Figura 1, se muestra un diagrama de un ejemplo de proceso (100) para preparar un concentrado de proteína, o un producto de proteína vegetal que incluye un concentrado de proteína. Se combinan un material de semillas oleaginosas, por ejemplo, harina de soja (SBM, 102) y un medio de maceración (104) para formar una suspensión de maceración y se realiza una etapa de maceración (110). El medio de maceración es preferentemente una corriente de proceso acuoso con un perfil de proteína y aminoácidos diferente de la harina de semillas oleaginosas. En algunas modalidades, el medio de maceración incluye una o más corrientes acuosas de proceso de productos derivados de un proceso de molienda de maíz, por ejemplo, agua de maceración liviana (LSW, por sus siglas en inglés), agua de molienda de glúten (GMW, por sus siglas en inglés) y/o filtrado de glúten de maíz, pero el medio de maceración puede ser cualquier medio vegetal acuoso adecuado. El medio de maceración tiene un contenido de proteína, preferentemente principalmente proteínas solubles en agua, por ejemplo, en el intervalo de alrededor de 30-50 %. En una modalidad, el medio de maceración puede ser agua. El pH del medio de maceración (104) se ajusta preferentemente antes de la etapa de maceración

110. En algunas modalidades, el pH de la suspensión de maceración se ajusta después de que se forma la suspensión de maceración. En algunas modalidades, el pH del medio de maceración y/o la suspensión de maceración se ajusta dentro de un intervalo de alrededor de 3.8 a 4.2. En algunas modalidades, el pH se ajusta dentro de alrededor de ± 0.2 de 3.8, 4.5, 5.2, 7.5, 8.6 o 10.0. Sin embargo, el pH se puede ajustar a cualquier valor, como lo entenderá un experto en la técnica, y no se limita a ningún valor específico mencionado en la presente. En algunas modalidades, el pH también se mantiene en el intervalo especificado después del ajuste. Se puede realizar una adición opcional (106) antes o durante la etapa de maceración 110.

[00030] La etapa de maceración 110 se realiza durante una cantidad de tiempo predeterminada dentro de un intervalo de temperatura predeterminado. Los intervalos de temperatura adecuados incluyen alrededor de 20 a 30 °C, 25 a 35 °C, 30 a 40 °C, 35 a 45 °C, 40 a 50 °C, 55 a 65 °C, 60 a 70 °C, 65 a 75 °C, 70 a 80 °C o 75 a 85 °C. Sin embargo, la temperatura de maceración puede ser cualquier temperatura, como lo entenderá un experto en la técnica. De manera similar, se puede utilizar cualquier período de maceración adecuado. Los ejemplos no taxativos de períodos de maceración incluyen 0.5 h, 1 h, 8 h, 12 h o 24 h. En algunas modalidades, la suspensión en la etapa de maceración 110 puede tener menos de alrededor de 30 % de sólidos secos (total). En algunas modalidades, la suspensión puede comprender alrededor de 1 % a alrededor de 30 % de sólidos secos, alrededor de 5 % a alrededor de 25 % de sólidos secos, alrededor de 10 % a alrededor de 20 % de sólidos secos, alrededor de 10 a 15 % de sólidos secos, o alrededor de 15 a 20 % de sólidos secos.

[00031] Luego de un período de maceración adecuado, los sólidos se aíslan del medio de maceración (120), lo que dio como resultado una torta húmeda concentrada de proteína. En algunas modalidades, los sólidos de la suspensión de maceración se aíslan mediante filtración, por ejemplo, usando una centrífuga, filtro de membrana o cualquier otro equipo adecuado. Luego, los sólidos aislados se lavan una o más veces (130) con un medio de lavado (132). En la presente se contempla que la etapa de lavado aumenta aun más el contenido de proteína y/o disminuye el contenido de carbohidratos de los sólidos aislados.

[00032] La(s) etapa(s) de lavado (130) se puede(n) realizar mediante cualquier técnica. En una modalidad, el medio de lavado se combina con los sólidos aislados, luego, la suspensión resultante se mezcla, y luego los sólidos lavados se vuelven a aislar, por ejemplo, mediante filtración por centrífuga. En otra modalidad, el medio de lavado se puede aplicar a los sólidos aislados dentro del equipo de aislamiento. En una modalidad tal, el medio de lavado se puede aplicar mediante un flujo de contracorriente. Por consiguiente, en algunas modalidades, los sólidos aislados no necesitan volver a suspenderse en el medio

de lavado. En una modalidad, el pH del medio de lavado se puede ajustar antes de utilizarse en la(s) etapa(s) de lavado (130). En una modalidad, se puede realizar más de una etapa de lavado. En una modalidad, no se realiza ninguna etapa de lavado y los sólidos aislados húmedos de la etapa 120 se secan o se secan conjuntamente con otros ingredientes, sin lavarse. Se puede utilizar cualquier volumen de lavado adecuado. Ejemplos no taxativos de relaciones de volumen de lavado incluyen 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, o 1:4 de volumen de lavado a volumen de sólidos. Además, se puede realizar cualquier cantidad de etapas de lavado, por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5 o más etapas de lavado.

[00033] El medio de lavado 132 puede ser el mismo tipo de corriente de proceso y/o de la misma fuente que el medio de maceración 104. En algunas modalidades, el medio de lavado 132 puede ser un tipo distinto de corriente de proceso y/o de una fuente distinta que el medio de maceración 104. En algunas modalidades, el medio de lavado puede ser agua. En modalidades con múltiples etapas de lavado, la composición del medio de lavado puede ser distinta en las etapas de lavado, por ejemplo, el medio de maceración se puede usar para lavar en el primer lavado, seguido de agua en las etapas de lavado posteriores. El pH del medio de lavado 132 se ajusta preferentemente antes de lavar los sólidos. Las enzimas también se pueden agregar opcionalmente al medio de lavado antes del lavado (134).

[00034] El medio de lavado y/o medio de maceración utilizados, es decir, el medio líquido recuperado después de aislar los sólidos en las etapas 120, 130 y/o 140, se pueden reciclar para utilizarlos en el proceso. En algunas modalidades, el medio de lavado utilizado se puede utilizar para el medio de maceración de otro lote para producir el concentrado de proteína descrito en la presente. En dicha modalidad, la reutilización del medio de lavado como medio de maceración puede generar ahorros de costos significativos, por ejemplo, al reducir el uso de agua asociado con la producción del concentrado de proteína. En algunas modalidades, el medio de lavado y/o el medio de maceración utilizados recuperados se pueden utilizar con fines distintos del proceso de producción del concentrado de proteína. Por ejemplo, el medio de lavado y/o medio de maceración utilizados recuperados se pueden utilizar como medio de fermentación, por ejemplo, en la producción de etanol u otros productos de fermentación. En algunas modalidades, el medio de lavado y/o medio de maceración utilizados se pueden usar como material en bruto para producir un ingrediente alimenticio para animales o producto alimenticio para animales. Por ejemplo, el medio de lavado o de maceración pueden combinarse con fibra, una proteína vegetal y/u otros ingredientes para generar un ingrediente alimenticio. En algunas modalidades, el medio de lavado y/o medio de maceración utilizados se concentran para su uso en el ingrediente o producto alimenticio.

[00035] Luego de una o más etapas de lavado (130), los sólidos se aíslan nuevamente y/o se

deshidratán (140). Los sólidos aislados pueden tratarse opcionalmente con una enzima (142). En una modalidad, los sólidos aislados se secan (150) para formar un concentrado de proteína (160), que se puede usar como ingrediente alimenticio en una dieta alimenticia para animales. En otra modalidad, los sólidos aislados se pueden combinar con uno o más ingredientes alternativos (145), luego se pueden secar conjuntamente (155), para formar un producto de proteína vegetal (165), que también se denominan concentrado de proteína vegetal (PPC, por sus siglas en inglés). Los ingredientes adecuados para el secado conjunto en la etapa 145 pueden incluir concentrados de proteína de maíz, tales como concentrado de proteína de maíz Emphyreal® 75, harina de gluten de maíz (CGM, por sus siglas en inglés), una harina elaborada a partir de legumbres, o cualquier otro concentrado de proteína vegetal adecuado u otro tipo de ingrediente alimenticio. El producto de proteína vegetal 165 se puede incluir en una dieta alimenticia para animales con otros componentes, tales como grasas o vitaminas. En algunas modalidades, el PPC se forma a partir de una combinación de un concentrado de proteína de maíz (CPC, por sus siglas en inglés) y un concentrado de proteína de soja (SPC, por sus siglas en inglés), que proporciona ventajosamente un material con lisina y metionina superiores que otros materiales de concentrado de proteína. En algunas modalidades, la relación de SPC a CPC en el PPC es de alrededor de 1:2, es decir, un tercio de SPC y dos tercios de CPC en peso. En otras modalidades, el PPC puede ser, en peso seco, alrededor de 10 % de SPC, 20 % de SPC, 30 % de SPC, 40 % de SPC, 50 % de SPC, 60 % de SPC, 70 % de SPC, 75 % de SPC, 80 % de SPC o 90 % de SPC y el resto CPC.

[00036] Se puede usar cualquier método o equipo de secado adecuado en las etapas de secado 150 o 155, como lo entenderá un experto en la técnica. En algunas modalidades, el concentrado de proteína es de al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 % o al menos 80 % de proteína en peso seco. En algunas modalidades, el concentrado de proteína se seca hasta menos de 15 %, menos de 10 % o menos de 5 % de humedad. En una modalidad, el concentrado de proteína es al menos 65 % de proteína y 90-95 % de sólidos secos. En algunas modalidades, el concentrado de proteína puede adoptar una forma deseada, tal como, por ejemplo, un disco, un cubo o una bola.

[00037] En algunas modalidades, el proceso 100 también puede incluir una o más etapas para reducir o eliminar uno o más factores antinutricionales. Por ejemplo, el proceso 100 puede incluir una o más etapas de tratamiento con enzimas, por ejemplo, etapas 106, 134 y/o 142 en la Figura 1. En una modalidad preferida, el proceso 100 incluye un tratamiento con fitasa del medio de maceración 104 cuando el medio de maceración 104 deriva de maíz. Como lo entenderá un experto en la técnica, los tratamientos con fitasa a menudo se usan en el procesamiento de corrientes de molienda de maíz. Por lo tanto, un tratamiento

con fitasa puede evitarse en el proceso 100 si un tratamiento con fitasa ya se ha realizado en el medio de maceración 104 como parte de otro proceso que produjo el medio de maceración 104.

[00038] Se puede realizar una etapa de tratamiento con enzimas en cualquier momento adecuado del proceso 100, y los tratamientos con enzimas no se limitan a ninguna modalidad específica mencionada en la presente. La adición de una enzima puede generar la reducción enzimática de fibras, carbohidratos o factores antinutricionales en la suspensión para facilitar su retiro o eliminación. Los factores antinutricionales que se pueden reducir o eliminar en el proceso 100 pueden incluir, de modo no taxativo, inhibidor de tripsina, ácido fítico, antígeno de glicinina y oligosacáridos (por ejemplo, estaquiosa, rafinosa, mananos). En una modalidad, el tratamiento con enzimas puede incluir agregar una o más de las siguientes enzimas: una fitasa, una proteasa, una glucanasa, una alfa-galactosidasa, una poligalacturonasa, una amilasa (por ejemplo, alfa-amilasas y gluco-amilasas), una manasa, una xilanas, una pectinasa, una celulasa, o una hemicelulasa, sin embargo, una o más enzimas utilizadas no se limitan a las enzimas mencionadas en la presente, y puede ser cualquier enzima adecuada, como lo entenderá un experto en la técnica.

[00039] En algunas modalidades, el proceso 100 también puede incluir una o más etapas de calentamiento para reducir o eliminar uno o más factores antinutricionales. Por ejemplo, se sabe en la técnica que el calentamiento puede ser útil para reducir el nivel de inhibidor de tripsina. Dicha etapa de calentamiento puede incluir calentar una corriente de proceso en cualquier momento del proceso hasta una temperatura adecuada, por ejemplo, de modo no taxativo: más de 60 °C, 70 °C, 80 °C, 90 °C, 100 °C, 110 °C, 120 °C, 130 °C o 140 °C. La corriente de proceso puede mantenerse a una temperatura tal durante un período predeterminado adecuado para reducir el contenido del factor antinutricional hasta el nivel deseado.

[00040] En algunas modalidades, el proceso puede incluir otras etapas. En una modalidad, el proceso puede incluir una o más etapas relacionadas con el procesamiento adicional del concentrado de proteína para su uso como un alimento para rumiantes. Por ejemplo, el proceso de la presente invención puede incluir las etapas para tratar el concentrado de proteína con un carbohidrato reductor para proteger el concentrado de proteína de degradación microbiana en el rumen de un animal. Se describen ejemplos de etapas y condiciones para dicho proceso en Klopfenstein et ál. en la patente estadounidense n.º 5,064,665, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante esta referencia.

Medio de maceración

[00041] Las corrientes de procesos acuosos para su uso como medio de maceración o medio de lavado se pueden obtener como producto de procesos de molienda en húmedo y/o molienda en seco, por ejemplo, procesos de fermentación. En una modalidad, la corriente del proceso acuoso útil para la presente invención es cualquier corriente, que incluye una corriente de producto derivado, de un proceso de molienda en húmedo o seco, tal como, de modo no taxativo, las corrientes de molienda en húmedo o seco que se describen en la presente. Los procesos de molienda en húmedo y fermentación de molienda en seco son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Watson & Ramstad, ed. (1987, Corn: Chemistry and Technology, cap. 12 y 19, American Association of Cereal Chemist, Inc., St. Paul, Minn., cuya descripción se incorpora a la presente en su totalidad mediante esta referencia). En algunas modalidades, la corriente del proceso acuoso puede generarse a partir de la molienda de un grano, tal como, por ejemplo, maíz, trigo, cebada, malta, sorgo o una combinación de estos. En algunas modalidades, la corriente del proceso acuoso puede generarse a partir de la molienda de una legumbre, tal como, por ejemplo, un frijol pinto, una alubia roja, un poroto blanco, un chícharo, una lenteja, o una combinación de estos. En algunas modalidades, la corriente del proceso acuoso puede ser una combinación de una corriente generada a partir de la molienda de granos y legumbres. Como se describió anteriormente, en algunas modalidades, la corriente del proceso acuoso puede ser una corriente recuperada de cualquier corriente acuosa en el proceso descrito en la presente, por ejemplo, el proceso que se muestra en la Figura 1.

Molienda en húmedo

[00042] La molienda en húmedo de un grano o legumbre implica comúnmente remojar o «macerar» el grano o la legumbre en agua, usando procesos conocidos por los expertos en la técnica pertinente. Comúnmente, los períodos de maceración oscilan entre alrededor de 24 y alrededor de 48 horas a temperaturas de alrededor de 45 °C a alrededor de 60 °C. En algunos procesos de molienda en húmedo, por ejemplo, los procesos de molienda en húmedo que involucran maíz, puede ser deseable que el agua de maceración incluya aditivos, tales como, por ejemplo, dióxido de azufre (por ejemplo, de alrededor de 0.05 % a alrededor de 0.3 % (p/v)) y ácido láctico (por ejemplo, 0 a alrededor de 0.5 % (v/v)).

[00043] Después de la maceración, los sólidos de granos o legumbres macerados comúnmente son molidos y las fracciones sólidas se separan de la fase líquida mediante métodos conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, mediante separación con tamiz, separación de membrana, centrifugación, filtración, flotación y similares, para proporcionar una corriente de proceso acuoso, que también se denomina en la presente «corriente de agua de maceración». La corriente de agua de maceración se puede usar como medio de

maceración en el proceso de la presente invención. La corriente de agua de maceración incluye comúnmente componentes solubles, tales como, por ejemplo, proteínas, carbohidratos y productos inorgánicos. En algunas modalidades, la corriente de agua de maceración puede tener un contenido de sólidos inferior a alrededor de 20 % de sólidos secos en peso. En algunas modalidades, la corriente de agua de maceración puede tener un contenido de sólidos de alrededor de 1.5 % a 15 % de sólidos secos en peso, alrededor de 2 % a 15 % de sólidos secos en peso, alrededor de 8 a 15 % de sólidos secos en peso, alrededor de 10 a 15 % de sólidos secos en peso o alrededor de 1 a 4 % de sólidos secos en peso. En algunas modalidades, la corriente de agua de maceración puede ser una corriente de agua de maceración de maíz, una corriente de agua de maceración de trigo, una corriente de agua de maceración de legumbres y combinaciones de estos. En algunas modalidades, los sólidos de la corriente de agua de maceración de una molienda en húmedo de maíz comúnmente tienen 35-45 % de proteína, donde el resto son principalmente carbohidratos, ácidos orgánicos e inorgánicos. En algunas modalidades, la corriente de agua de maceración puede incluir dióxido de azufre, que puede afectar la solubilización de proteína.

Molienda en seco

[00044] La molienda en seco de granos o legumbres comúnmente implica moler todo el grano o legumbre usando un molino, por ejemplo, un molino de martillo o rodillo, para formar una mezcla seca de partículas, que comúnmente se denomina «harina». La harina se suspende con agua y se agregan enzimas a la mezcla para desintegrar el almidón en fragmentos más pequeños y luego someter los fragmentos más pequeños a un proceso de sacarificación, donde el almidón se convierte en azúcar.

[00045] Después de la etapa de sacarificación, los azúcares resultantes se fermentan comúnmente con levadura para facilitar su conversión a etanol. Luego, la mezcla se transfiere a columnas de destilación, donde se retira el etanol de la destilación y los granos de destilación adicionales se separan para proporcionar una corriente soluble de destilación. Esta corriente soluble de destilación incluye comúnmente componentes solubles, tales como, por ejemplo, proteínas, carbohidratos y productos inorgánicos. En algunas modalidades, se obtienen granos secos con solubles de destilación (DDGS, por sus siglas en inglés).

[00046] En algunas modalidades, la corriente de solubles de destilación puede tener un contenido de sólidos inferior a alrededor de 20 % de sólidos secos en peso. En algunas modalidades, la corriente de solubles de destilación puede tener un contenido de sólidos de alrededor de 1.5 % a 15 % de sólidos secos en peso, alrededor de 2 % a 15 % de sólidos

secos en peso, alrededor de 10 % a 15 % de sólidos secos en peso o alrededor de 1 a 4 % de sólidos secos en peso. En algunas modalidades, la corriente de solubles de destilación puede ser una corriente de solubles de destilación de maíz, y combinaciones de estos. Las corrientes de solubles de destilación de procesos de fermentación de molienda en seco de maíz comúnmente tienen 30 % de proteína, y el resto está compuesto comúnmente por carbohidratos, fibra, grasas y productos inorgánicos.

Materiales de semillas oleaginosas

[00047] El material de semillas oleaginosas útil para el proceso 100 puede encontrarse en cualquier forma adecuada. Ejemplos no taxativos incluyen sémola, copos o harina. En algunas modalidades, la semilla oleaginosa utilizada para el material de semillas oleaginosas puede ser, por ejemplo, soja, una semilla de canola, maní, una semilla de girasol, una semilla de lino, una semilla de algodón, una semilla de colza, o combinaciones de estos. En algunas modalidades, la preparación del material de semillas oleaginosas a partir de la semilla oleaginosa puede incluir descascarar o retirar las cáscaras o copos, la remoción de al menos una parte de la grasa o contenido oleoso, y/o molienda o trituración. En una modalidad preferida, los materiales de semillas oleaginosas son copos de soja, harina de soja y soja molida, especialmente copos de soja desgrasados, harina de soja desgrasada y soja molida desgrasada. En una modalidad, la harina de soja desgrasada contiene alrededor de 50 % de proteína y menos de 1.2 % de grasa, en peso seco. En algunas modalidades, el material de semillas oleaginosas puede ser un material de semillas oleaginosas parcialmente procesado, por ejemplo, un concentrado de semillas oleaginosas parcialmente procesado recuperado de una corriente de proceso intermedio. En dichas modalidades, el material de semillas oleaginosas es preferentemente de una corriente de proceso intermedio posterior a la extracción de aceite, es decir, después de retirar sustancialmente el aceite de la semilla oleaginosa. Por ejemplo, dicha corriente de proceso intermedio se puede obtener después de que se usa el desolventizador tostador (DT, por sus siglas en inglés) en un proceso de soja. Sin embargo, el material de semillas oleaginosas no se limita a un material específico descrito en la presente, y puede incluir cualquier material derivado de semillas oleaginosas.

Ingredientes alimenticios de concentrado de proteína

[00048] En algunas modalidades, la presente invención se refiere a un concentrado de proteína producido mediante los métodos descritos en la presente. Los concentrados de proteína descritos en la presente contienen un perfil de aminoácidos adecuado para alimentar a animales. Como se describió anteriormente, el concentrado de proteína puede

incluir al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 % o al menos 80 % de proteína en seco, y menos de 15 %, menos de 10 % o menos de 5 % de humedad. En una modalidad, el concentrado de proteína incluye una combinación de proteína de soja de una harina de soja u otra fuente de soja, y proteína de maíz de una corriente de molienda de maíz. El concentrado de proteína se puede usar como ingrediente alimenticio o se puede incorporar en un producto alimenticio para animales para su uso en una dieta alimenticia para animales.

[00049] En un aspecto, el concentrado de proteína presenta mejores características de color en comparación con otros materiales alimenticios de proteína vegetal. En algunas modalidades, el concentrado de proteína tiene un valor L* de al menos 67, 68, 69, 70, 71 o 72, según se mide de acuerdo con el método descrito en la presente. En algunas modalidades, el concentrado de proteína tiene un valor a* inferior a 10, inferior a 8, inferior a 6, inferior a 5 o inferior a 4, según se mide de acuerdo con el método descrito en la presente. En algunas modalidades, el concentrado de proteína tiene un valor b* inferior a 30, inferior a 25 o inferior a 20, según se mide de acuerdo con el método descrito en la presente. Por consiguiente, en algunas modalidades, el concentrado de proteína es más blanco que otros materiales de proteína de soja. En algunas modalidades, el concentrado de proteína tiene un color menos amarillo y/o un color menos rojo que otros materiales de proteína de soja. Las mejores características de color del concentrado de proteína dan como resultado un producto más deseable que otros materiales alimenticios de proteína de soja.

Productos de proteína vegetal

[00050] En algunas modalidades, la presente invención se refiere a un producto de proteína vegetal que incluye un concentrado de proteína producido mediante los métodos descritos en la presente. Como se describió anteriormente, el producto de proteína vegetal se puede producir secando conjuntamente un concentrado de proteína húmedo con uno o más ingredientes alimenticios alternativos. Uno o más ingredientes alimenticios alternativos pueden incluir un concentrado de proteína de maíz o cualquier otro material adecuado como un ingrediente alimenticio, tales como grasas o vitaminas. Como se contempla en la presente, el producto de proteína vegetal es una combinación homogénea del concentrado de proteína de la presente invención y uno o más ingredientes alimenticios alternativos. La homogeneidad del producto de proteína vegetal puede garantizar el suministro constante de los ingredientes alimenticios al animal. En algunas modalidades, el producto de proteína vegetal puede incluir un concentrado de proteína tratado con un carbohidrato reductor para su uso como un producto alimenticio útil para alimentar a un rumiante.

Dieta alimenticia para animales

[00051] En algunas modalidades, los concentrados de proteína o productos de proteína vegetal producidos de acuerdo con los métodos descritos en la presente se incorporan a una dieta alimenticia para animales. La dieta alimenticia para animales incluye preferentemente la mayoría o la totalidad de los materiales alimenticios necesarios para que un animal mantenga su salud. En algunas modalidades, la dieta alimenticia puede incluir 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 % o 35 % de SPC elaborado de acuerdo con una modalidad de la presente invención. En algunas modalidades, la dieta alimenticia puede ser 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 % o 35 % de PPC elaborado de acuerdo con una modalidad de la presente invención.

[00052] El término «animal», como se utiliza en la presente descripción, incluye, por ejemplo, animales bovinos, porcinos, equinos, caprinos, ovinos, aviares, mariscos (acuicultura), etc. Los animales bovinos incluyen, de modo no taxativo, búfalo, bisón, y ganado, incluidos novillos, vaquillonas, vacas y toros. Los animales porcinos incluyen, de modo no taxativo, cerdos de engorde y cerdos reproductores, que incluye cerdas, cerdas jóvenes, cerdos castrados y verracos. Los animales equinos incluyen, de modo no taxativo, caballos. Los animales caprinos incluyen, de modo no taxativo, cabras, que incluye ciervas, ciervos, carneros castrados y cabritos. Los animales ovinos incluyen, de modo no taxativo, ovejas, que incluye ovejas hembras, carneros, carneros castrados y corderos. Los animales aviares incluyen, de modo no taxativo, aves, que incluyen pollos, pavos y avestruces (e incluyen también aves domesticadas que también se denominan aves de corral). Los mariscos (incluidos los de fuentes de agua salada y agua dulce) incluyen, de modo no taxativo, peces (por ejemplo, salmón, trucha, robalo, tilapia y otros peces de criadero) y crustáceos (por ejemplo, almejas, vieiras, camarones, cangrejos y langostas). En una modalidad preferida, el concentrado de proteína, producto de proteína vegetal o dieta alimenticia para animales descrita en la presente se usan para acuicultura.

[00053] El término «animales», como se usa en la presente descripción, también incluyen animales rumiantes y monogástricos. Como se utiliza en la presente descripción, el término «rumiante» se refiere a cualquier mamífero que digiere ingredientes vegetales usando un método de regurgitación asociado con el primer estómago o rumen del mamífero. Dichos mamíferos rumiantes incluyen, de modo no taxativo, ganado, cabras, ovejas, jirafas, bisón, yak, búfalo de agua, ciervos, camellos, alpacas, llamas, ñus, antílope y antílope americano. El término «animales», como se usa en la presente descripción, también incluye animales domesticados (por ejemplo, perros, gatos, conejos) y fauna silvestre (por ejemplo, ciervos). Sin embargo, los métodos descritos en la presente para preparar un concentrado de

proteína, y el ingrediente alimenticio resultante o las composiciones de producto alimenticio, no se limitan a su uso para alimentar a los animales específicos mencionados en la presente, y se pueden usar para alimentar a cualquier animal, como lo entenderá un experto en la técnica.

5

Mejora de la capacidad de digestión

[00054] En un aspecto, el concentrado de proteína de la presente invención (también denominado en la presente Concentrado de Proteína Vegetal o PPC) presenta una mejora de la capacidad de digestión en comparación con la harina de pescado u otros concentrados de proteína. En algunas modalidades, el concentrado de proteína presenta una mayor capacidad de digestión de aminoácidos en comparación con la harina de pescado u otros concentrados de proteína. En algunas modalidades, el concentrado de proteína presenta una cantidad significativa de aminoácidos específicos con un porcentaje de capacidad de digestión de 90 % o más, según se calcula de acuerdo con los métodos descritos en los ejemplos experimentales más adelante. En algunas modalidades, la capacidad de digestión de aminoácidos total del concentrado de proteína, es decir, la suma de todos los aminoácidos, es de al menos 90 %. En algunas modalidades, el porcentaje de capacidad de digestión de 2 o más aminoácidos es de al menos 90 %. En algunas modalidades, el porcentaje de capacidad de digestión de 2 o más aminoácidos es de al menos 92 %. En algunas modalidades, el porcentaje de capacidad de digestión de 2 o más aminoácidos es de al menos 94 %. En algunas modalidades, el porcentaje de capacidad de digestión de 2 o más aminoácidos es de al menos 95 %. En algunas modalidades, el porcentaje de capacidad de digestión de 2 o más aminoácidos es de al menos 97 %.

[00055] En algunas modalidades, el porcentaje de capacidad de digestión de 16 o más aminoácidos es de al menos 90 %. En algunas modalidades, el porcentaje de capacidad de digestión de 14 o más aminoácidos es de al menos 94 %. En algunas modalidades, el porcentaje de capacidad de digestión de 10 o más aminoácidos es de al menos 94%. En algunas modalidades, el porcentaje de capacidad de digestión de 6 o más aminoácidos es de al menos 95 %.

[00056] En algunas modalidades, el porcentaje de la capacidad de digestión de al menos 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o más aminoácidos es significativamente superior para el concentrado de proteína en comparación con la harina de pescado de Menaheden. En algunas modalidades, el porcentaje de la capacidad de digestión de al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o más aminoácidos es significativamente superior para el concentrado de proteína en comparación con un concentrado de proteína de maíz. En algunas modalidades, el porcentaje de la capacidad de digestión de al menos 2, 3, 4, 5, 6,

7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o más aminoácidos es significativamente superior para el concentrado de proteína en comparación con una harina de producto derivado de aves de corral con grado de alimento para mascotas.

[00057] Los aminoácidos que corresponden al porcentaje de capacidad de digestión mencionado anteriormente incluyen alanina (ALA), arginina (ARG), ácido aspártico (ASP), cisteína (CYS), ácido glutámico (GLU), glicina (GLY), histidina (HIS), isoleucina (ILE), leucina (LEU), lisina (LYS), metionina (MET), fenilalanina (PHE), prolina (PRO), serina (SER), treonina (THR), tirosina (TYR) y valina (VAL). Ver también las Figuras 2, 3 y 4 con respecto al contenido de aminoácidos en materia seca y a la capacidad de digestión de los aminoácidos para un ejemplo de modalidad de un concentrado de proteína producido de acuerdo con el método de la presente invención.

EJEMPLOS EXPERIMENTALES

[00058] La invención se describe en mayor detalle mediante la referencia a los ejemplos experimentales que siguen. Estos ejemplos se proporcionan solamente a efectos ilustrativos y no se pretende que sean limitativos a menos que se especifique de otra manera. Por lo tanto, no debería interpretarse de forma alguna que la invención se limita a los ejemplos que figuran a continuación, sino que debería interpretarse que abarca todas y cada una de las variaciones que resulten evidentes a partir de las indicaciones que se proporcionan en la presente.

Ejemplo 1: Producción de un concentrado de proteína de soja

[00059] En la presente se describe un ejemplo de un proceso para producir un concentrado de proteína, específicamente, un concentrado de proteína de soja (SPC), usando agua, agua de maceración liviana, agua de molienda de gluten de maíz, filtrado de gluten de maíz, filtrado de gluten de maíz modificado, o una combinación de agua, agua de maceración liviana y agua de molienda de gluten de maíz para retirar los carbohidratos solubles y elevar la concentración de proteína en la harina de soja.

[00060] En la Figura 1 se muestran ejemplos de etapas del proceso. Las condiciones adecuadas para el procesamiento de la harina de soja (SBM, por sus siglas en inglés) y diluyente se detallan en la Tabla 1. Las concentraciones de proteína de producto seco resultantes se miden usando procedimientos estándar, tales como ASTM 16634 (nitrógeno total/proteína de productos alimenticios, semillas oleaginosas y alimentos para animales) usando un analizador de nitrógeno LECO TruMac (LECO Corporation, St. Joseph, MI).

[00061] Para cada caso, se mezcla SBM (por ejemplo, 11.6 g a 2000 g, 48 % de proteína; 53.2 % de proteína en seco) a una proporción de 10 % p/p con distintos medios de maceración: agua corriente, agua de maceración liviana (LSW), agua de molienda de gluten de maíz (GMW), filtrado de gluten de maíz o filtrado de gluten de maíz modificado. Los copos de soja también se pueden usar como material de partida. El SBM se elabora a partir de copos blancos de soja mediante extracción del solvente y tostado de los copos blancos de soja.

[00062] El pH y la temperatura del medio de maceración se ajustaron según fuera necesario. El pH se ajusta con ácido láctico, ácido sulfúrico o hidróxido de sodio. Sin embargo, se pueden usar otros ácidos y bases. Ejemplos no taxativos de otros ácidos y bases incluyen: ácidos orgánicos tales como ácido fórmico, ácido cítrico o ácido acético; ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico; y bases tales como hidróxido de calcio o hidróxido de potasio.

[00063] El SBM se macera con agitación continua durante distintos períodos de tiempo y a distinta temperatura. Los sólidos se separan mediante centrifugación. Se realizan etapas de separación de sólidos y lavado adicionales (4 rondas) usando líquido de lavado a 1:1 o 1:4 v/v de sólidos deshidratados. Cuando corresponda, las enzimas se agregan a los sólidos húmedos y se mantienen durante 1-2 horas antes del secado para la reducción de ANF. Se secan los sólidos húmedos (deshidratados). Se midió la humedad y la proteína de cada fracción usando métodos estándar. Se realizó el equilibrio de masa y proteína para calcular los rendimientos de masa y proteína.

[00064] Los resultados para diversos procesos distintos se muestran en la Tabla 2. En general, el mayor contenido de proteína se observa en los procesos que incluyeron lavados y procesos con un menor pH durante la maceración. Cabe destacar que los procesos ejecutados con SBM tal como se encontraba, a pH 3.8, en el medio de maceración GMW, y lavados con agua o GMW, presentan concentración elevada de proteína. Estos procesos son comparables en cuanto a la concentración de proteína con un proceso realizado con una SBM molida y agua como medio de maceración. Los números de experimento 1.13 y 1.15 representan los procesos actualmente conocidos en la técnica (ver, por ejemplo, Jhanjan et ál., patente EP n.º 0925723, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante esta referencia). El proceso de la presente invención puede presentar una mejora de retención de la proteína de hasta 30 % en comparación con los procesos conocidos en la técnica.

Tabla 1: Resumen de posibles condiciones del proceso

	SBM	Tal como está o molida hasta 50 micrones
5	Medio de maceración (10 % p/p de suspensión)	Agua, LSW, GMW, combinación de (agua, LSW y GMW), filtrado de gluten de maíz y filtrado de gluten de maíz modificado
	Medio de lavado	ninguno, agua, LSW, GMW, combinación de (agua, LSW y GMW)
	pH	3.8-10.0
10	Temperatura	30 - 80 °C
	Período de incubación	0.5 - 24 h
	Cant. de etapas de lavado	ninguna - 4
15	Volumen de líquido de lavado	1:1 - 1:4 v/v de sólidos
	Ácido	Ácido láctico y ácido sulfúrico
	Base	Hidróxido de sodio
20	Actividad enzimática principal	Fitasa (medio de maceración y lavado); celulasa, hemicelulasa, xilanasa, pectinasa (medio de maceración y lavado); proteasa (medio de maceración y lavado, y
	Separación de sólidos	centrífuga decantadora, centrífuga de recipiente de tamiz, separación con tamiz, filtración con membrana de tela
25	Secado	secado en bandeja, secado en lecho fluidizado, secado ultrarrápido, secado en túnel, secado en tambor

Tabla 2: Resultados

N.º Ej.	SBM	Medio de maceración	Medio de lavado	pH	Temp °C	Período de incubación (h)	Cant. de etapas de lavado	Volumen de lavado (v/v)	% proteína SPC en seco	% rendimiento de sólidos
1.1	Tal como estaba	agua	N/C	4.0	50	0.5	N/C	N/C	61.46	78.0
1.2	Tal como estaba	agua/CSL (50:50)	N/C	4.0	50	0.5	N/C	N/C	59.47	85.5
1.3	Tal como estaba	CSL	N/C	4.0	50	0.5	N/C	N/C	55.27	103.5
1.4	Tal como estaba	agua	N/C	4.0	50	24	N/C	N/C	61.94	77.0
1.5	Tal como estaba	Filtrado de gluten de maíz	N/C	5.2	50	0.5	N/C	N/C	57.96	81.0
1.6	Tal como estaba	Filtrado de gluten de maíz modificado	N/C	5.3	50	0.5	N/C	N/C	56.14	92.5
1.7	Tal como estaba	agua	N/C	4.5	50	0.5	N/C	N/C	63.21	79.0
1.8	Tal como estaba	agua	N/C	8.6	50	0.5	N/C	N/C	61.85	78.5
1.9	Tal como estaba	agua	N/C	10.5	50	0.5	N/C	N/C	61.56	77.5
1.10	molido	GMW	N/C	3.8	80	16	N/C	N/C	67.05	77.4

5	1.11	molido	agua	agua	5.2	50	16	1	1:1	64.6	71.6
	1.12	molido	agua	agua	5.2	30	0.5	1	1:1	50.74	97.9
	1.13	Tal como estaba	agua	agua	3.8	50	0.5	4	1:4	61.00	57.2
	1.14	Tal como estaba	GMW	GMW	3.8	50	0.5	4	1:4	65.70	68.4
10	1.15	Tal como estaba	agua	agua	3.8	50	0.5	2	1:1	63.40	56.9
	1.16	Tal como estaba	GMW	GMW	3.8	50	0.5	2	1:4	67.80	82.6
	1.17	Tal como estaba	CSL	CSL	3.8	50	0.5	2	1:1	57.19	99.0
15	1.18	Tal como estaba	CSL/agua (50:50)	CSL/agua (50:50)	3.8	50	0.5	2	1:1	63.02	83.3
	1.19	Tal como estaba	CSL/agua (25:75)	CSL/agua (25:75)	3.8	50	0.5	2	1:1	65.84	77.5
20	1.20	Tal como estaba	CSL/agua/ GMW (25:50: 25)	CSL/agua/ GMW (25:50:25)	3.8	50	0.5	2	1:1	65.40	79.0
	1.21	Tal como estaba	GMW	GMW	3.8	50	0.5	2	1:1	65.03	78.6

1.22	Tal como estaba	CSL/ agua (25:75)	CSL/agua (25:75)	3.8	50	0.5	2	1:1	65.46	77.0
1.23	Tal como estaba	CSL/ agua/ GMW (33:34: 33)	CSL/agua/ GMW (33:34:33)	3.8	50	0.5	2	1:1	63.05	72.6

5

10

Cálculo de % de rendimiento de sólidos

El rendimiento de sólidos se calcula de la siguiente manera:

% de rendimiento de sólidos = (kg de sólidos SPC al final del proceso/ kg de sólidos SBM ingresado al proceso)*100

Para el experimento 1.22: % de rendimiento de sólidos = (0.138/0.179)*100 = 77 %

Ejemplo 2: Reducción de factores antinutricionales (ANF) en SBM

[00065] En la presente se describen ejemplos de la producción de un producto concentrado de proteína de soja usando distintas condiciones de proceso con el fin de reducir los ANF.

[00066] En la Tabla 3 se muestra un resumen del análisis de ANF sobre los concentrados de proteína de soja resultantes. Los procesos se realizan como en el Ejemplo 1, salvo como se indica o describe de otro modo. No se agregan enzimas en los experimentos 2.1, 2.2, 2.3, 2.4 y 2.5. Para los experimentos 2.6, 2.7, 2.8 y 2.9: se usa una fitasa en la etapa de maceración y se administra una proteasa a la torta deshidratada y se mantiene durante dos horas antes del secado.

Tabla 3: Análisis de ANF para experimentos seleccionados*

N.º exp.	Composición de lavado	Inhibidor de Tripsina (TIU/mg)**	Ácido fítico (%)	% Estaquiosa	% Rafinosa
N/C	Material de partida de SBM	6.35	1.48	4.76	1.05
2.1	W-W 1:1	4.29	0.87	<0.2	<0.2
2.2	W-GMW 1:1	2.94	1.37	<0.2	<0.2
2.3	GMW-W 1:4	5.83	1.11	<0.2	<0.2
2.4	GMW-GMW 1:4	3.48	2.52	<0.2	<0.2
2.5	GMW-GMW 1:1	5.43	1.99	<0.2	<0.2
2.6	GMW-GMW 1:1	<1.0	0.92	<0.2	<0.2
2.7	GMW-GMW 1:1	5.72	1.00	<0.2	<0.2
2.8	GMW-GMW 1:1	1.49	0.99	<0.2	<0.2
2.9	GMW-GMW 1:1	3.18	1.02	<0.2	<0.2

*Análisis ANF realizado por Nestle Purina Analytical Laboratories usando los siguientes métodos: Ácido fítico: Analytical Biochemistry tomo 77:536-539 (1997); Inhibidor de tripsina: AOCS Ba 12-75; Rafinosa y Estaquiosa: por LC, J. Am. Oil Chem. Soc. 1980, 143.

** TIU/mg es una cuantificación de actividad que se puede definir como: una unidad de inhibidor de tripsina (TIU) disminuirá la actividad de 2 unidades de tripsina en 50 %, donde 1 unidad de tripsina hidrolizará 1.0 μ mol de N-a-benzoíl-DL-arginina p-nitroanilida (BAPNA) por minuto a pH 7.8 y 25 °C.

Ejemplo 3: Composición de concentrado de proteína de soja

[00067] En las Tablas 4 y 5, la composición de varios materiales se proporciona junto con la composición de un ejemplo de modalidad de un concentrado de proteína de soja (SPC) producido de acuerdo con una modalidad del proceso descrito en el Ejemplo 1.

Tabla 4: Composición general*

	SBM			SPC		
	tal como se encuentra	tal como se encuentra	sedb	tal como se encuentra	tal como se encuentra	sedb
Humedad	12.5	10.0		5.0	10.0	
Proteína	46.7	48.0	53.4	63.1	59.8	66.4
Grasa en bruto	1.2	1.2	1.4	1.0	0.9	1.0
Fibra en bruto	3.6	3.7	4.1	5.2	4.9	5.5
Ceniza	5.4	5.6	6.2	3.9	3.7	4.1
Carbohidrato (según diferencia)	30.6	31.5	35.0	21.9	20.7	23.0

- Análisis realizado por Eurofins Nutrition Analysis Center de acuerdo con los siguientes métodos:

Humedad	AOCS Ba 2a-38	Horno de ventilación forzada
Proteína	AOAC 992.15; AOAC 990.03; AOCS Ba3e-93	Combustión
Grasa en bruto	AOCS Ba3-38	Extracción de éter de petróleo
Fibra en bruto	AOAC 962.09 o AOCS Ba	
Ceniza	AOAC 942.05	

Tabla 5: Perfil de aminoácidos (en seco)*

aminoácidos (g/100g)	SBM	SPC	LSW	CPC Empyreal
Asp	6.13	7.39	2.8	4.7
Thr	2.11	2.60	1.8	2.5
Ser	2.69	3.36	2	3.9
Glx	10.60	12.84	7	17
Pro	2.85	3.66	2.2	2
Gly	2.29	2.84	3.6	6.9
Ala	2.31	2.97	2.4	3.7
Val	2.70	3.41	1	1.8
Ile	2.42	3.01	1.4	3.4
Leu	4.00	5.07	4	14
Tyr	1.89	2.34	1	4.4
Phe	2.77	3.43	1.6	5.2
His	1.44	1.80	1.6	1.2
Lys	3.29	3.99	1.4	1.7
Arg	4.07	4.81	2.2	2.5
Cys	0.72	0.96	4	7.4
Met	0.69	0.88	1.6	1.3
Trp	0.63	0.79	0.1	0.4
Total	53.59	66.12	41.70	84.00

- Análisis realizado por Nestle Purina Analytical Laboratories de acuerdo con los siguientes métodos: Aminoácidos estables a ácido: AOAC 982.30 (modificado); aminoácidos de azufre (después de la oxidación): AOAC 994.12 (modificado); triptófano mediante hidrólisis alcalina: AOAC 988.15.

Ejemplo 4: Composición de productos de proteína vegetal

[00068] La composición de ejemplos de modalidades de un producto de proteína vegetal se muestra en la Tabla 6. Los productos de proteína vegetal se prepararon de acuerdo con modalidades del proceso que se muestran en la Figura 1, donde el SPC se seca conjuntamente con el concentrado de proteína de maíz (CPC) Empyreal® en diversas relaciones para formar un concentrado de proteína vegetal (PPC).

Tabla 6: Composiciones de productos de proteína vegetal

			Mezcla de relación de SPC a CPC				
aminoácidos (g/100g)	SPC	CPC	10 a 90	25 a 75	50 a 50	75 a 25	90 a 10
Asp	7.4	4.7	4.97	5.37	6.04	6.71	7.12
Thr	2.6	2.5	2.51	2.52	2.55	2.57	2.59
Ser	3.4	3.9	3.85	3.76	3.63	3.49	3.41
Glx	12.8	17	16.58	15.96	14.92	13.88	13.25
Pro	3.7	2	2.17	2.42	2.83	3.25	3.50
Gly	2.8	6.9	6.49	5.89	4.87	3.86	3.25
Ala	3.0	3.7	3.63	3.52	3.33	3.15	3.04
Val	3.4	1.8	1.96	2.20	2.60	3.01	3.25
Ile	3.0	3.4	3.36	3.30	3.20	3.11	3.05
Leu	5.1	14	13.11	11.77	9.54	7.30	5.96
Tyr	2.3	4.4	4.19	3.88	3.37	2.85	2.54
Phe	3.4	5.2	5.02	4.76	4.32	3.87	3.61
His	1.8	1.2	1.26	1.35	1.50	1.65	1.74
Lys	4.0	1.7	1.93	2.27	2.84	3.42	3.76
Arg	4.8	2.5	2.73	3.08	3.65	4.23	4.58
Cys	1.0	7.4	6.76	5.79	4.18	2.57	1.60
Met	0.9	1.3	1.26	1.19	1.09	0.98	0.92
Trp	0.8	0.4	0.44	0.50	0.60	0.69	0.75
Proteína	66.1	84.0	82.21	79.53	75.06	70.59	67.91

(Análisis realizado de acuerdo con los métodos mencionados en los ejemplos anteriores)

Ejemplo 5: Composición de corrientes de proceso de maíz

[00069] En la Tabla 7 se proporcionan ejemplos de composiciones de corrientes de proceso de maíz útiles para el proceso de la presente invención.

Tabla 7: Composiciones de corriente de maíz

	GMW	LSW	LSW/ H ₂ O 25/75
	g/L	g/L	g/L
DP3+	2.97	14.85	3.67
Maltotriosa	0.66	2.109	0.54
Maltosa	0.97	2.781	0.58

Dextrosa	4.85	12.12	3.03
Fructosa	2.87	9.78	2.49
Ácido cítrico	1.14	5.17	1.37
Ácido succínico	0.17	1.08	0.71
Lactato	4.80	28.41	10.16
Glicerol	0.19	1.18	0.27
Acetato	0.35	1.05	0.45
Ácido propiónico	0.49	1.54	0.44
Alcohol etílico	0.32	1.07	0.28
% de sólidos	4.10	15.30	4.10
% proteína db	38.20	39.90	39.90

Métodos: Humedad: AOCS Ba 2a-38, Horno de ventilación forzada; Proteína: AOAC 992.15, AOAC 990.03, AOCS Ba3e-93, Combustión; Azúcares y orgánicos: HPLC.

Ejemplo 6: Capacidad de digestión *in vivo* de un concentrado de proteína en trucha arcoíris

[00070] Se elaboró un concentrado de proteína de soja usando las corrientes de procesamiento de una molienda de maíz en húmedo. Se analizó que el concentrado de proteína consistía en 64.8 % de proteína en masa seca (DMb) y derivaba de harina de soja recogida de la instalación de trituración de Sidney, OH. El material prototipo se fabricó en lote en la instalación SSNA Dayton R&D y se formó un compuesto para producir aproximadamente 15 kg de concentrado de proteína, que se presentó en el USDA - Bozeman Fish Technology Center (BFTC) para su análisis. El BFTC analizó la capacidad de digestión de los ingredientes en trucha arcoíris y robalo rayado híbrido. El concentrado de proteína analizado demostró más de 90 % de capacidad de digestión de aminoácidos.

Materiales y métodos:

[00071] Se elaboraron aproximadamente 15 kg de prototipo de concentrado de proteína de soja (SPC) en la instalación Cargill Starches and Sweeteners R&D Pilot Facility en Dayton, OH. Se prepararon nueve lotes separados (Tabla 8) usando licor de maceración de maíz acidificado como el medio de maceración y lavado. Toda la torta de SPC húmeda se procesó a través de un secador de lecho fluidizado Retsch TG100 a escala de laboratorio con el flujo de aire configurado a 100 % para lograr una temperatura de aire máxima de 83.8 °C y una temperatura de producto máxima de 172 °C durante 8 a 10 minutos. Los lotes se combinaron para generar el lote final (BBDAYRD10816) con un contenido de proteína final de 64.8 % en seco. La humedad para el compuesto final fue de 6.9 %.

[00072] El material compuesto (BBDAYRD010816) se envió al USDA - Bozeman Fish Technology Center para el análisis de la capacidad de digestión *in vivo* en trucha arcoíris. Se evaluó el valor nutricional de cada ingrediente al determinar la capacidad de digestión

evidente de los nutrientes, la energía, la grasa, los aminoácidos y los minerales seleccionados del ingrediente en dietas extruidas compuestas. Se determina la capacidad de digestión de nutrientes y energía usando los métodos descritos por Cho et ál. (Cho, C.Y., Slinger, S.J., y Bayley, H.S. 1982. Bioenergetics of salmonid fishes: energy intake, expenditure and productivity. *Comparative Biochemistry and Physiology* 73B: 25-41) y Bureau et ál. (Bureau, D.P., A.M. Harris, y Cho, C.Y. 1999. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 180:345-358) para calcular los coeficientes de capacidad de digestión evidente (ADC, por sus siglas en inglés). Todas las dietas se etiquetan usando óxido de itrio como los marcadores inertes. Una dieta de referencia completa (Tabla 9) para la trucha arcoíris se mezcla con los ingredientes de prueba en una relación 70:30 (en peso seco) para formar las dietas de prueba. Esta dieta se usó satisfactoriamente en varios ensayos de capacidad de digestión y crecimiento con trucha arcoíris (Barrows, F.T., Gaylord, T.G., Sealey, W.M., Porter, L., Smith, C.E. 2008, The effect of vitamin premix in extruded plant based and fish meal based diets on growth efficiency and health of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 283, 148-155; Gaylord, T.G., Barrows, F.T., y Rawles, S.D. 2008, Apparent Digestibility of Gross Nutrients from Feedstuffs in Extruded Feeds for Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Journal of the World Aquaculture Society*. 39:827-834; Gaylord, T.G., Barrows, F.T., Rawles, S.D., Liu, K., Bregitzer, P., Hang, A., Obert, D., and Morris, C. 2009, Apparent digestibility of nutrients in extruded diets from cultivars of barley and wheat selected for nutritional quality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture Nutrition*. 15:306-312; Barrows, F.T., Gaylord, T.G., Sealey, W.M., Porter, L., Smith, C.E. 2009, Supplementation of plant-based diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* with macro-minerals and inositol, *Aquaculture Nutrition*, accepted; Gaylord, T.G., Barrows, F.T. and Rawles, S.D., 2010, Apparent Amino Acid Availability from Feedstuffs in Extruded Diets for Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*, *Aquaculture Nutrition*.16: 654-661).

[00073] Los coeficientes de capacidad de digestión evidente de cada nutriente en la dieta y los ingredientes de prueba se calculan de acuerdo con las siguientes ecuaciones en peso en seco (Kleiber, M. 1961, *The fire of life: an introduction to animal energetics*, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York, Nueva York, EUA; Forster, I., 1999, A note on the method of calculating digestibility coefficients of nutrients provided by single ingredients to feeds of aquatic animals, *Aquaculture Nutrition* 5:143-145):

$$ADCN_{dieta} = 100 - 100 \left\{ \frac{\% Yt \text{ en dieta} \times \% \text{ nutriente en heces}}{\% Yt \text{ en heces} \times \% \text{ nutriente en dieta}} \right\}$$

$$ADCN_{ingrediente} = \{(a+b) ADCN_t - (a) ADCN_r\} b^{-1}$$

donde,

$ADCN_{\text{ingrediente}}$ = coeficiente de capacidad de digestión evidente del nutriente en el ingrediente de prueba

$ADCN_t$ = coeficientes de capacidad de digestión evidente del nutriente en las dietas de prueba

5 $ADCN_r$ = coeficientes de capacidad de digestión evidente del nutriente en la dieta de referencia

$a = (1-p) \times \text{contenido de nutriente de la dieta de referencia}$

$b = p \times \text{contenido de nutriente del ingrediente de prueba}$

p = proporción del ingrediente de prueba en la dieta de prueba

10

[00074] Todas las dietas se elaboran mediante extrusión por cocción (DNDL-44, Buhler AG, Uzwil, Suiza). Los parámetros generales para la extrusión fueron una exposición durante 18 s a un promedio de 127 °C en las secciones de barril de extrusión (6). La presión en el cabezal del troquel puede variar entre 260 y 450 psi, dependiendo de la dieta de prueba. Las bolas de 3-4 mm se producen y secan en un secador de lecho fluidizado pulsante (Buhler AG, Uzwil, Suiza) hasta menos de 10 % de humedad, seguido de un período de enfriamiento de 20 minutos a temperatura ambiente. Todas las dietas se recubren en la superficie con aceite de pescado con un dispositivo de recubrimiento al vacío (AJ. Mixing, Ontario, Canadá).

15

20

[00075] En ensayos de trucha arcoíris, las dietas experimentales se suministran a la trucha en tanques de 330 L. El tamaño del pez varía entre los experimentos, pero generalmente oscila entre 250 g y 400 g, pero puede ser mayor dependiendo de la disponibilidad de peces. La densidad de ocupación varía de forma acorde de 20 a 30 peces por tanque. La temperatura del agua se mantiene a 15 °C y la iluminación se mantiene en un ciclo diurno de 13:11 h. Cada dieta se suministra a tres tanques de peces por replicado asignados de forma aleatoria y se suministra hasta saciedad de forma manual dos veces al día. Se obtuvieron las muestras fecales mediante remoción manual 16-18 h luego de la alimentación para las truchas. La remoción manual de todos los peces en cada tanque se logró pescándolos con redes y suministrándoles anestesia, seguido de secado suave y luego aplicación de presión en la región abdominal inferior para extraer la orina hacia un recipiente de desechos y luego la materia fecal en una bandeja de pesaje de plástico. Las muestras fecales para cada tanque se secaron mediante liofilización y se almacenaron a - 20 °C hasta realizar los análisis químicos.

25

30

35

[00076] *Análisis cercanos* - Se mide el contenido de humedad como la pérdida en secado de ingredientes, dietas y muestras fecales y se realiza de acuerdo con los métodos estándar (AOAC 1995). Se determina la proteína en bruto ($N \times 6.25$) en ingredientes, dietas y muestras fecales mediante el método de Dumas (AOAC 1995) en un determinador de

nitrógeno Leco TruSpec N (LECO Corporation, St. Joseph, Michigan, EUA). Se determina la energía total mediante calorimetría con bomba de isoperibol (Parr 6300, Parr Instrument Company Inc., Moline, Illinois, EUA). Todas las muestras se analizan para lípido en bruto mediante extracción de éter durante 60 minutos a 95 °C usando un Ankom XT10 (Ankom Technologies, Macedon, Nueva York, EUA) seguido de hidrólisis ácida a 90 °C durante 60 minutos con HCl 5N y un período de enjuague de 40 minutos con un sistema de hidrólisis de HCl Ankom seguido de una segunda extracción de éter como se describió anteriormente. Los aminoácidos se cuantifican en un analizador de aminoácidos Biochrom 30+ después de la digestión durante 16 h a 110 °C en HCl 6N (AOAC 1995). Se realiza el análisis de minerales para itrio y otros minerales seleccionados mediante espectroscopía ICP-OES después de la digestión de ácido nítrico.

Tabla 8. Composición de la dieta de referencia de capacidad de digestión (% de peso seco) para alimentar a truchas arcoíris

<i>Ingredientes,</i>	<i>%</i>
Harina de trigo ¹	28.4
Harina de calamar	25.0
Concentrado de proteína de soja ²	17.1
Aceite de pescado ³	13.4
Harina de gluten de maíz ⁴	8.3
Harina de soja ⁵	4.3
Premezcla de vitamina ARS ⁶	1.0
Óxido crómico ⁷	1.0
Cloruro de colina ⁷	0.6
Taurina ⁸	0.5
Stay-C35 ⁹	0.2
Premezcla de minerales traza ¹⁰	0.1
Óxido de itrio ⁷	0.1

Archer Daniels Midland (Decatur, IL, EUA) proteína 4 g/kg.

Solae Profine VP (St. Louis, MO, EUA) proteína en bruto 693 g/kg.

Omega Proteins Inc (Houston, TX, EUA).

Cargill Animal Nutrition (Minneapolis, MN, EUA), proteína 601.0 g/kg.

Archer Daniels Midland (Decatur, IL, EUA), proteína 480 g/kg.

Contribuyó, por kg de dieta; vitamina A 9650 IU; vitamina D 6600 IU; vitamina E 132 IU; vitamina K3 1.1 g; tiamina mononitrato 9.1 mg; riboflavina 9.6 mg; clorhidrato de piridoxina

13.7 mg; pantotenato DL-calcio 46.5; ciancobalamina 0.03 mg; ácido nicotínico 21.8 mg; biotina 0.34 mg; ácido fólico 2.5; inositol 600.

Sigma-Aldrich Company (St Louis, MO, EUA).

Archer Daniel Midlands (Decatur, IL, EUA).

5 ⁹Rovimix Stay-C 35 (DSM).

Contribuyó en mg/kg de dieta; cinc 40; manganeso 13; yodo 5; cobre 9.

10 [00077] El peso promedio de la trucha arcoíris usada en este estudio fue 539.6 g (+/- 85 g) y se colocaron 20 peces en cada uno de los tres tanques de referencia. Las dietas consistían en una de tres dietas: Dieta de referencia (Tabla 8), dieta de referencia con 30 % de dieta reemplazada con harina de pescado de Menaheden (Select) (MFM), o dieta de referencia reemplazada con 30 % de prototipo SPC Cargill (C- SPC) de acuerdo con una modalidad de la presente invención. La diferencia entre la referencia y el ingrediente agregado se usó para calcular la energía disponible y el coeficiente de capacidad de digestión evidente del ingrediente agregado.

15 [00078] Se calculó el ADCN promedio en los tres tanques de las dietas MFM y C- SPC y se compararon. También se realizaron comparaciones adicionales con ingredientes específicos en "Database of Nutrient Digestibility's of Traditional and Novel Feed Ingredients for Trout and Hybrid Striped Bass - USDA (Barrows, et. ál.). Las comparaciones de ingredientes incluyen: harina de producto derivado de aves de corral, concentrado de proteína de maíz Empyreal® 75, y 48 % de harina de soja CP. Sin embargo, la respuesta biológica diversa en la comparación con los ingredientes en Barrows et ál. puede atribuirse a los distintos protocolos de prueba utilizados que al protocolo usado por BFTC.

25 *Resultados*

[00079] En la Tabla 9 se muestra el análisis de nutrientes de los ingredientes mediante BFTC. Al parecer se logró un buen acuerdo entre el análisis de BFTC y SSNA Dayton R&D con 0.01 diferencias entre los dos laboratorios.

30

Tabla 9. Análisis de nutrientes de los ingredientes		
	MFM	C-SPC
Masa seca (DM)	93.889	93.16
(%)		
% Grasa	10.43	3.43
% proteína	68.98	64.69
(DMb)		

35

[00080] El contenido de aminoácidos de cada ingrediente se analizó y registró en materia seca (-93 % de DM para cada ingrediente, Figura 2). El contenido de lisina y metionina fue levemente superior para MFM. Para una comparación más amplia, los ingredientes en BFTC se compararon con C-SPC e incluyeron 48 % de CP SBM, Emphyreal™ 75 y harina de producto derivado de aves de corral (Figura 3). En comparación con la harina de aves de corral, C-SPC demostró niveles equivalentes de lisina, pero es inferior en metionina. A diferencia de Emphyreal™ 75, esto proporciona niveles superiores de metionina que la harina de aves de corral. C-SPC presenta mayores concentraciones de todos los aminoácidos con la excepción de prolina y tirosina en comparación con 48 % de SBM. Estas excepciones pueden ser una consecuencia de las distintas fuentes de harina de soja.

[00081] Se determinó la capacidad de digestión de los aminoácidos sustituyendo 30 % de la dieta de referencia con el ingrediente de prueba y calculando la diferencia en cada aminoácido digerido, según se mide en el material fecal recogido. Como se muestra en la Figura 4, C-SPC demostró más de 90 % de capacidad de digestión de aminoácidos (Suma AA). En comparación con MFM, C-SPC fue equivalente o presentó una mejor capacidad de digestión de aminoácidos que MFM.

Conclusión

[00082] El C-SPC desarrollado con el licor de maceración de maíz acidificado para retirar los carbohidratos solubles, es decir, el concentrado de proteína de acuerdo con una modalidad de la presente descripción, demostró buena capacidad de digestión de aminoácidos. Además, una combinación de Emphyreal™ 75 con C-SPC proporciona un perfil de AA fuerte y puede presentar un mayor valor que otros ingredientes de proteína debido a una mejor capacidad de digestión.

Ejemplo 7: Determinación de capacidad de digestión de aminoácidos y energía metabolizable real (TME)

[00083] La capacidad de digestión de aminoácidos se determina en gallos Leghom blancos de cresta sencilla sometidos a cecectomía enjaulados y se determina la TME_n en gallos convencionales (intactos). Ambos pueden determinarse en gallos sometidos a cecectomía si se aceptan valores de TME_n menos precisos. Los gallos se mantienen en ayuno durante 24 horas y luego son alimentados por tubo (en el buche) con 30 g del ingrediente alimenticio de prueba. Se coloca una bandeja debajo de cada jaula y se recogen todos los excrementos durante 48 horas. Luego, los excrementos se liofilizan, pesan y muelen y luego se analizan para determinar los aminoácidos (para determinar la capacidad de digestión de aminoácidos) o la energía y nitrógeno total (para determinar la TME_n). Luego, se calculan la

capacidad de digestión de aminoácidos real y la TME_n usando la excreción de energía y aminoácidos por parte de gallos en ayuno para la corrección endógena. Los resultados se muestran en las Tablas 10 y 11.

5 Tabla 10: Evaluación de energía metabolizable real

Muestra	Materia seca del alimento (%)	Energía total del alimento como está (kcal/g)	TME_n (kcal/g DM)
10 C-SPC	93.6	4.770	3.294

Tabla 11: Capacidad de digestión de aminoácidos real (%)

Aminoácido C-SPC	
ASP	94.17
THR	92.25
SER	94.65
15 GLU	94.40
PRO	91.99
ALA	92.94
CYS	90.57
VAL	94.92
MET	95.49
ILE	95.17
20 LEU	95.32
TYR	97.73
PHE	95.35
LYS	86.39
HIS	90.14
ARG	92.06
TRP	97.80

25 Ejemplo 8: Análisis de colorimetría de los ingredientes alimenticios

[00084] Se usó un colorímetro HunterLab (modelo# CFE2) para medir el color de polvos secos de SBM, SPC, Emphyreal™ y PPC (combinación de PPC y Emphyreal™). El colorímetro lee en las escalas L*, a*, b* de Hunter:

- El valor L* representa el color blanco/negro del espectro visible. Un valor positivo superior indica un producto más blanco.
- El valor a* representa el espectro rojo/verde. Un valor positivo superior indica un producto rojizo.
- El valor b* representa el espectro amarillo/azul. Un valor positivo superior indica un producto amarillento.

35 Todas las mediciones se realizaron por triplicado en cada lote y se registran los promedios (Figura 5). En función de la inspección visual, los materiales de SBM y SPC presentan un color beige mientras que los materiales Emphyreal™ y PPC presentan un color

amarillo/anaranjado. Se detectó una disminución en a^* y b^* al mezclar Empyreal™ 75 con SPC (el PPC se realizó a escala de laboratorio). Cabe destacar que el SPC presentó el valor L^* más alto, lo que indica el producto más blanco, y también los valores a^* y b^* más bajos, lo que indica la menor cantidad de color no deseable de los materiales.

5 [00085] Las descripciones de todas y cada una de las patentes, solicitudes de patentes o publicaciones citadas en la presente se incorporan mediante esta referencia en su totalidad. Si bien esta invención se ha descrito en referencia a modalidades específicas, otros expertos en la técnica pueden idear otras modalidades y variaciones de la presente invención sin apartarse del verdadero espíritu y alcance de la invención. Se pretende que se
10 interprete que las reivindicaciones adjuntas incluyen todas esas modalidades y variaciones. Los elementos o aspectos de cualquiera de las modalidades de los métodos o composiciones descritos a lo largo de la presente pueden aplicarse a cualquier otra modalidad, como lo entenderá un experto en la técnica.