



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 356 233**

51 Int. Cl.:  
**A23J 1/14** (2006.01)  
**A23J 3/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02769111 .2**  
96 Fecha de presentación : **03.05.2002**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1389921**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.02.2004**

54 Título: **Funcionalidad del aislado proteico de canola.**

30 Prioridad: **04.05.2001 US 288434 P**  
**29.10.2001 US 330731 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**06.04.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**06.04.2011**

73 Titular/es: **BURCON NUTRASCIENCE (MB) Corp.**  
**1946 West Broadway**  
**Vancouver, British Columbia V6, CA**

72 Inventor/es: **Murray, E., Donald**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 356 233 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Funcionalidad del aislado proteico de canola

Referencia a las aplicaciones relacionadas

5 Esta aplicación reivindica la prioridad en 35 usc 119(e) de us patent applications co-pendientes nos. 60/288,434 presentada el 4 de mayo, 2001 y 60/330,731 presentada el 29 de octubre, 2001.

Campo de la invención

La presente invención se relaciona con un aislado proteico de canola y su funcionalidad en un amplio rango de aplicaciones.

Antecedentes de la invención

10 En US Patent Nos. 5,844,086 y 6,005,076 ("Murray II"), asignada al apoderado de esta, se describe un proceso para el aislamiento de aislados proteicos a partir de harina de las semillas oleaginosas que tienen un contenido graso significativo, incluyendo harina de las semillas oleaginosas de canola que tienen dicho contenido. Las etapas involucradas en este proceso incluyen solubilización del material proteico a partir de la harina de las semillas oleaginosas, que también solubiliza la grasa en la harina y eliminación de la grasa a partir de la solución acuosa de proteína resultante. La solución acuosa de proteína se puede separar de la harina de las semillas oleaginosas residual antes o después de la etapa de eliminación de la grasa. La solución de proteína sin grasa, luego se concentra para aumentar la concentración de la proteína, mientras que conserva la fuerza iónica sustancialmente constante, después de lo cual, la solución de proteína concentrada se puede someter a otra etapa de eliminación de grasa. La solución de proteína concentrada, luego se diluye para originar la formación de una masa similar a una nube de moléculas de proteínas altamente agregadas, como discretas gotitas de proteínas en forma micelar. Las micelas de las proteínas se dejan sedimentar para formar una masa de aislado proteico similar al gluten del trigo, agregada, combinada, amorfa densa, pegajosa vital, denominada "masa de proteína micelar" o PMM, la cual se separa de la fase acuosa residual y se seca.

25 El aislado proteico tiene un contenido de proteína (según se determina por Kjeldahl Nx 6.25) de al menos aproximadamente 90%, es sustancialmente no desnaturalizado (según se determina por calorimetría diferencial de barrido) y tiene un contenido de grasa residual bajo. La producción del aislado proteico obtenido utilizando este procedimiento, en términos de la proporción de proteína extraída a partir de la harina de las semillas oleaginosas, que se recupera como aislado proteico seco, generalmente fue menor del 40%, por lo general alrededor del 20%.

30 El procedimiento descrito en las patentes mencionadas anteriormente se desarrolló como una modificación y mejora en el procedimiento para formar un aislado proteico a partir de una variedad de materiales de fuente de proteínas, incluyendo semillas oleaginosas, como se describe en USP 4,208,323 (Murray IB). Las harinas de semillas oleaginosas disponibles en 1980, cuando USP 4,208,323 se publicó, no tienen los niveles de contaminación de grasa de harinas de semillas oleaginosas de canola, y, en consecuencia, el procedimiento de US Patent No. 4,208,323 no puede producir a partir de las actuales harinas de semillas oleaginosas procesadas de acuerdo con el proceso de Murray II, materiales proteínicos que tienen más del 90% de contenido de proteína. No hay descripción de ninguno de los experimentos específicos en USP 4,208,303 llevados a cabo utilizando harina de semilla de colza (canola) como el material inicial.

40 USP 4,208,323 por si misma fue diseñada para ser una mejora en el proceso descrito en US Patents Nos. 4,169,090 y 4,285,862 (Murray IA), mediante la introducción de la etapa de concentración antes de la dilución para formar la PMM. La última etapa sirvió para mejorar la producción del aislado proteico de alrededor del 20% para el proceso Murray IA.

45 En United States Patent Applications co-pendientes Nos. 60/288,415 presentada el 4 de Mayo, 2001, 60/326,987 presentada el 5 de Octubre, 2001, 60/331,066 presentada el 3 de Noviembre, 2001 y 60/333,494 presentada el 26 de Noviembre, 2001, asignada al apoderado de esta, además se describen mejoras en estos procedimientos de aislamiento de proteínas del oficio previo, que se aplican a las semillas oleaginosas, para obtener rendimientos mejorados de proteína del producto aislado seco en términos de la proporción de la proteína extraída a partir de las semillas oleaginosas que se recuperan como aislados proteicos y para obtener aislados proteicos de alta pureza de al menos 100% a una la velocidad de conversión de nitrógeno (N) de Kjeldahl Nx 6.25. Este procedimiento se emplea particularmente para producir un aislado proteico de canola.

50 En los procedimientos descritos en las US Patent Applications Nos. 60/288,415, 60/326,987, 60/331,066 y 60/333,494 mencionadas anteriormente; la harina de las semillas oleaginosas se extrae con una solución de sal de grado alimenticio acuoso a una temperatura de al menos aproximadamente 5°C, para originar la solubilización de

5 proteína en la harina de las semillas oleaginosas y para formar una solución acuosa de proteína que tiene un contenido de proteína de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 g/L y un pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 6.8. La solución del extracto de proteína resultante, después de un tratamiento inicial con un agente que adsorbe el pigmento, si se desea, se reduce en volumen utilizando membranas de ultrafiltración para proporcionar una solución de proteína concentrada que tiene un contenido de proteína en exceso de aproximadamente 200 g/L. La solución de proteína concentrada, luego se diluye en agua fría que tiene una temperatura por debajo de aproximadamente 15°C, resultando en la formación de una nube blanca de micelas de proteínas que se dejan sedimentar para formar una masa micelar similar al gluten amorfa, pegajosa, gelatinosa. Después de la eliminación del sobrenadante, la masa precipitada, pegajosa viscosa (PMM) se seca para proporcionar el aislado proteico de canola.

15 En United States Patent Application co-pendiente No. 60/331,646 asignada al apoderado de esta, se describe un proceso continuo para fabricar los aislados proteicos de canola. De conformidad con los mismos, la harina de las semillas oleaginosas de canola, se mezcla continuamente con una solución de sal de grado alimenticio, la mezcla se transporta a través de una tubería mientras se extrae la proteína a partir de la harina de las semillas oleaginosas de canola para formar una solución acuosa de proteína, la solución acuosa de proteína se separa continuamente a partir de harina de las semillas oleaginosas de canola residual, la solución acuosa de proteína se transporta continuamente a través de una operación de membrana selectiva para aumentar el contenido de proteína de la solución acuosa de proteína a al menos aproximadamente 200 g/L, mientras que conserva la fuerza iónica sustancialmente constante, la solución de proteína concentrada resultante se mezcla continuamente con agua fría para originar la formación de micelas de proteínas, y las micelas de proteínas se dejan sedimentar continuamente mientras que el sobrenadante se deja desbordar continuamente hasta que la cantidad deseada de PMM se ha acumulado en el vaso de sedimentación. La PMM se retira del vaso de sedimentación y se puede secar. La PMM tiene un contenido de proteína de al menos 100 % en peso según se determina por el nitrógeno Kjeldahl (Nx 6.25).

#### Resumen de la invención

25 Ahora se ha encontrado que el aislado proteico de canola de alta pureza, producido mediante el procedimiento de las mencionadas anteriormente aplicaciones de las patentes de Estados Unidos pendientes, tiene una funcionalidad base amplia en productos alimenticios, única entre los materiales proteínicos. La posibilidad para utilizar una proteína que sea vegetal en origen en productos alimenticios permite productos alimenticios verdaderamente vegetarianos que se incluirán que se incluirán en los casos donde la proteína derivada de clara de huevo y/o animal han sido utilizados en la ausencia de cualquier sustituto disponible.

En consecuencia, en un aspecto de la presente invención, se proporciona un proceso de formación de una composición alimentaria, que comprende:

35 extracción de la semilla oleaginosa de canola con una solución acuosa de sal grado alimenticio a una temperatura de al menos 5 °C, para originar la solubilización de la proteína en la harina de las semillas oleaginosas de canola y para formar una solución acuosa de proteína que tiene un contenido de proteína de 5 a 30 g/l-1 y un pH de 5 a 6.8;

reducción del volumen de la solución acuosa de proteína utilizando membranas de ultrafiltración para proporcionar una solución de proteína concentrada, que tiene un contenido de proteína en exceso de 200 g/l-1; dilución de la solución de proteína concentrada en agua fría que tiene una temperatura por debajo de 15 °C para formar una nube de micelas de proteínas;

40 sedimentación de las micelas de proteínas para formar una masa micelar similar al gluten, amorfa, pegajosa, gelatinosa;

eliminación del sobrenadante;

45 secado de la masa pegajosa viscosa precipitada para proporcionar un aislado proteico de canola sustancialmente no desnaturalizado, que tiene un contenido de proteína de al menos 100 % en peso según se determina por el nitrógeno Kjeldahl x 6.25;

proporcionar una composición alimentaria que comprende un producto alimenticio y dicho aislado proteico de canola sustancialmente no desnaturalizado como un componente que proporciona funcionalidad en dicha composición alimentaria.

50 Preferiblemente, dicho aislado proteico contribuye a la composición alimentaria como proteína soluble o para proporcionar la funcionalidad de la formación de espuma, la formación de película, enlace de agua, cohesión, espesamiento, gelificación, elasticidad, emulsificación, enlace de grasa o formación de fibras.

Preferiblemente, dicho aislado proteico se incorpora en dicha composición alimentaria en sustitución de la clara de huevo, proteína de la leche, huevo entero, fibras de la carne, o gelatina.

5 El aislado proteico de canola, se puede utilizar en aplicaciones convencionales de aislados proteicos, tales como fortificación de proteína de alimentos procesados, emulsificación de aceites, formadores de cuerpo en alimentos horneados y agentes de formación de espuma en productos que atrapan los gases. El aislado proteico de canola también tiene funcionalidades no mostradas por el material fuente y precipitados isoeléctricos. El aislado proteico de canola tiene ciertas funcionalidades en común con los productos descritos en las patentes del oficio previo de Murray I, incluyendo la habilidad que ser formada en fibras de proteínas y la habilidad que se utiliza como un sustituto de la clara de huevo o extendedor en productos alimenticios donde la clara de huevo se utiliza como un aglutinante. Como se describe en este documento, el aislado proteico de canola proporcionado en este documento 10 tiene otras funcionalidades.

La funcionalidad de la proteína se puede clasificar en varias propiedades. La siguiente Tabla I enumera estas funcionalidades, los productos alimenticios en donde dicha funcionalidad de la proteína se proporciona y la proteína comúnmente empleada para tal propósito:

15 TABLA I

Propiedad	Producto Alimenticios	Proteína
1. Solubilidad	Bebidas	Proteínas del suero y del huevo
2. Viscosidad	Condimentos, postres	Gelatina
3. Agua de enlace	Embutidos, tartas	Proteína de carne, Proteína del huevo
4. Gelificación	Yogures, postres, quesos	Proteínas de la leche & huevo, gelatina
5. Cohesión/adhesión	Carnes, embutidos, pastas	Proteínas del suero y del huevo
6. Elasticidad	Carnes, Productos de panadería	Proteínas del suero y del huevo, proteínas de la carne
7. Emulsificación	Embutidos, aderezos	Proteínas del huevo y de la leche
8. Formación de espuma	Cubiertas, turrónes, helados	Proteínas del huevo y de la leche
9. Enlace de grasas	Productos de panadería, donuts	Proteínas del huevo y de la leche, gluten
10. Formación de película	Bollos y panes	Proteína del huevo, gluten
11. Formación de fibras	Análogos de la carne	Proteína de la carne

(\* Esta Tabla I se deriva en parte de Food Chemistry, Marcel Dekker, Inc. Ed. Owen Fennema, 1996, página 366).

20 Como puede verse de la Tabla I, la proteína del huevo tiene un amplio alcance de funcionalidad, pero no tan amplio como el aislado proteico de canola de la presente invención. Sin embargo, el aislado proteico de canola se puede utilizar en cada una de estas aplicaciones para reemplazar la proteína comúnmente utilizada para proporcionar las propiedades funcionales específicas. En general, el aislado proteico de canola puede reemplazar o extender el producto de proteína existente, mientras que proporciona la funcionalidad deseada, especialmente para productos del tipo vegetariano y casi vegetarianos, mucho más económicos. Además, el aislado proteico de canola tiene un perfil de aminoácido de alta calidad y no posee las características perjudiciales de sabor ni factores nutricionales que afecten negativamente su empleo en aplicaciones de productos alimenticios.

25 En las funcionalidades enumeradas en la Tabla I, algunas de ellas son similares y posiblemente complementarias, de manera que las funcionalidades se pueden clasificar en las categorías, de la siguiente manera:

Grupo Categorías

A	#8 Formación de espuma y #10 Formación de Película
B	#1 Solubilidad y #3 Enlace de Agua
C	#5 Cohesión/Adhesión
D	#2 Viscosidad (espesamiento), #4 Gelificación y #6 Elasticidad
E	#7 Emulsificación y #9 Enlace de Grasas
F	#11 Formación de Fibras

Descripción general de la invención

Solubilidad:

5 Como se señaló anteriormente, una de las funciones que posee el aislado proteico de canola, es la solubilidad en medios acuosos, tales como agua. El aislado proteico de canola es altamente soluble en agua en la presencia de cloruro de sodio, que es menor así en la ausencia de cloruro de sodio. La leche es una dispersión de proteína que contiene aproximadamente 4% en peso de la proteína dispersa en la fase acuosa. La clara de huevo líquida, utilizada en una variedad de aplicaciones en alimentos, contiene aproximadamente 10% en peso de proteínas de huevo.

10 Un ejemplo donde tal función de la proteína se puede emplear, a la concentración apropiada, está en una bebida de proteínas.

Viscosidad:

15 Como se señaló anteriormente, una de las funciones que posee el aislado proteico de canola, es la habilidad para actuar como un agente de espesamiento, para aumentar la viscosidad en varios productos alimenticios. El aislado proteico de canola se puede utilizar como un sustituto de la gelatina y las gomas xantanas, comúnmente utilizadas para este propósito en, por ejemplo, aderezos, salsas y postres, tales como pudín Jello®

Enlace de agua:

20 Las propiedades del enlace de agua de las proteínas, se utilizan en aderezos y tartas para retener la humedad en el producto cocido. El aislado proteico de canola, puede ser utilizado para reemplazar, parcial o completamente, las proteínas derivadas del huevo y de animal comúnmente utilizadas para este propósito en estos productos.

Gelificación:

25 Las propiedades de gelificación de las proteínas se utilizan en yogures, postres y quesos también como en varios análogos de carne, tales como un análogo de la panceta. Las proteínas del huevo y de la leche también como la gelatina, comúnmente utilizadas para este propósito, se pueden reemplazar, parcial o completamente, por el aislado proteico de canola proporcionado en este documento.

Cohesión/Adhesión:

30 Una variedad de carnes, aderezos y pastas utilizan la proteína del huevo y/o la proteína de suero para estas propiedades, en su formulación, para unir los componentes de los alimentos juntos y a continuación se coagula al ser calentada. El aislado proteico de canola puede reemplazar, parcial o completamente, tales proteínas de uso común y proporcionar las funciones necesarias.

Una aplicación de estas propiedades es una hamburguesa vegetariana, donde la clara de huevo, comúnmente se utiliza para proporcionar la cohesión/adhesión de un reemplazo de carne molida, puede ser reemplazada por el aislado proteico de canola. Otras posibilidades son los pasteles de carne y bolitas de carne, una vez más como un sustituto de la proteína del huevo.

Elasticidad:

El aislado proteico de canola puede reemplazar, parcial o completamente, las proteínas del huevo y de la carne en carnes utilizadas para estos propósitos. Un ejemplo del reemplazo de carne está en una hamburguesa vegetariana.

Emulsificación:

- 5 Las proteínas de la clara de huevo, de la yema de huevo y de la leche, comúnmente se utilizan en aderezos, análogos de carne, tejido adiposo simulado, y aderezos de ensalada esta propiedad, para lograr la emulsificación de grasas y aceites presentes en tales productos. El aislado proteico de canola se puede utilizar como un reemplazo, parcial o completamente, para las proteínas del huevo y de la leche para proporcionar la propiedad.

Formación de espuma:

- 10 Las propiedades de formación de espuma de la proteína de la clara de huevo y de la leche para proporcionar una estructura aireada estable, utilizada en productos tales como turrónes, alfajores y merengues, se pueden reproducir mediante el uso del aislado proteico de canola.

Enlace de grasas:

- 15 Las proteínas del huevo y de la leche comúnmente han sido utilizadas en productos de panadería y donuts para las propiedades de enlace de grasa. El aislado proteico de canola puede reemplazar dichos materiales, parcial o completamente, y proporcionar la propiedad necesaria. Dicha propiedad se puede emplear en mezclas de galletas.

Formación de película:

El aislado proteico de canola puede ser utilizado por sus propiedades de formación de película en el suministro de glaseados para panes y bollos.

- 20 Formación de fibras:

El aislado proteico de canola, se puede formar en fibras de proteínas mediante un procedimiento de formación de fibras, tal como se describe en US Patents Nos. 4,328,252, 4,490,397 y 4,501,760. Tales fibras de proteínas se pueden utilizar por su textura fácil de mezclar en una variedad de análogos de carne, tales como un análogo de aperitivo de carne, salchichas sin carne, un análogo de la panceta, tejido adiposo simulado, y un análogo de mariscos, tales como análogo de camarones y carne de cangrejo, también como otros productos alimenticios.

- 25 El aislado proteico de canola, por lo tanto, proporciona un sustituto de una variedad de ingredientes de alimentos (tanto proteicos como no-proteicos) para proporcionar un amplio espectro de funcionalidad no observado previamente. El aislado proteico de canola reemplaza la clara de huevo, yema de huevo, proteína de soja, goma xantana, gelatina y proteína de la leche en una variedad de productos alimenticios. El aislado proteico de canola es suave y no es necesario que sea utilizado con sabores fuertes o especias.

- 30 En los Ejemplos que siguen se ilustra, la aplicación específica de la amplia funcionalidad del aislado proteico de canola.

**Ejemplos**

La invención se ilustra mediante los siguientes Ejemplos:

- 35 **Ejemplo 1:**

Este Ejemplo ilustra la preparación de muestras del aislado proteico de canola para probar las funcionalidades de la proteína. Este procedimiento está de acuerdo con la US Patent Application No. 60/288,415 presentada el 4 de Mayo, 2001, mencionada anteriormente.

- 40 "a" kg de harina de canola comercial fue adicionada a "b" L de solución de NaCl 0.15 M a temperatura ambiente, se agitó "c" minutos para proporcionar una solución acuosa de proteína que tiene un contenido de proteína de "d" g/L. La harina de canola residual se retiró y se lavó en un cinturón de filtro de vacío. La solución de proteína resultante fue aclarada por centrifugación para producir una solución de proteína clarificada que tiene un contenido de proteína de "e" g/L, seguido por la adición de "k" % en peso de carbón activado en polvo (PAC).

La solución del extracto de proteína a partir de la etapa de tratamiento con PAC, fue reducida en volumen sobre un sistema de ultrafiltración. La solución de proteína concentrada resultante tuvo un contenido de proteína de “f” g/L.

5 La solución concentrada en “g” °C se diluyó 1: “h” en 4°C de agua del grifo. Una nube blanca se formó inmediatamente y se dejó sedimentar. Se retiró el agua de la dilución superior y se secó la masa precipitada, viscosa, pegajosa. La proteína seca, que se formó tuvo un contenido de proteína de “i” % de proteína (Nx6.25 d.b.). El producto fue designado como CPI “j”.

Los parámetros específicos “a” a “k” para estas diferentes muestras del producto proteico se publican en la siguiente Tabla II:

TABLA II

j	a	b	c	d	e	f	g	h	i	k
A07-15	150	1000	30	14.0	13.1	246	30	10	103.5	2
A07-22	150	100	120	13.0	12.3	490	20	5	106.9	4
A08-02	300	2000	300	14.0	14.5	421	20	5	105.8	0.06
A10-13	300	2000	45	28.6	24.9	176	20	10	109.2	1

10 **Ejemplo 2:**

Este Ejemplo además ilustra la preparación de muestras del aislado proteico de canola para probar las funcionalidades.

15 “a” kg de harina de las semillas oleaginosas comercial fue adicionada a “b” L de solución de NaCl 0.15 M a temperatura ambiente y se agitó por 30 minutos a 13°C, para proporcionar una solución acuosa de proteína que tiene un contenido de proteína de “c” g/L. la harina de canola residual se retiró y se lavó en un cinturón de filtro de vacío. La solución de proteína resultante fue aclarada por centrifugación para producir una solución clarificada que tiene un contenido de proteína de “d” g/L.

20 La solución de proteína clarificada o una alícuota “e” de, la solución de proteína clarificada fueron reducidas en volumen, sobre un sistema de ultrafiltración utilizando una membrana de corte de peso molecular “f” dalton. La solución de proteína concentrada resultante tuvo un contenido de proteína de “g” g/L (El producto fue designado como “h”).

25 50 ml de las alícuotas retenidas de BW-AL011-J16-01, se calentaron a 30°C antes de ser diluidas 1:10 en agua a 4°C. En cada caso, una nube blanca, se formó inmediatamente y se dejó sedimentar. El agua de la dilución superior se retiró y la masa precipitada, viscosa, pegajosa (PMM) se secó. La recuperación de la proteína fue 57.1% en peso y el contenido de proteína fue 101.6% en peso de proteína (Nx 6.25).

Los parámetros “a” a “h” se describen en la siguiente Tabla III:

TABLA III

h	BW-AL011-J16-01	AL016-L10-01A
a	1200	50
b	8000	1000
c	24.4	18.9
d	20.3	13.2
e	(1)	400

f	3000	10000
g	287	174.7
Nota: (1) Toda la solución del extracto de proteína fue concentrada.		

5 La solución concentrada para BW-AL016-L10-01A a 30°C se diluyó 1:15 en agua a 4°C. Una nube blanca se formó inmediatamente y se dejó sedimentar. El agua de la dilución superior se retiró y la masa precipitada, viscosa, pegajosa (PMM) se recuperó del fondo del recipiente en una producción de 23.5% en peso de la proteína extraída se secan. La proteína seca se formó para tener un contenido de proteína de 111.8% en peso (Nx 6.25) d.b.

**Ejemplo 3:**

Este Ejemplo ilustra las propiedades de formación de espuma del aislado proteico de canola.

10 Las muestras del aislado proteico de canola A07-15, preparadas siguiendo el procedimiento del Ejemplo 1, fueron probadas por su habilidad para formar una espuma y la estabilidad de cualquier espuma que se forme. Una muestra de 20 g del aislado proteico de canola seco, fue rehidratada en 30 ml de agua, durante 9 minutos y luego 133.5 ml adicionales de agua fueron adicionados al tazón de mezcla junto con 120 g de azúcar y 1.5 g de ácido cítrico y se mezclan por 30 segundos a baja la velocidad seguido por 10 minutos de batido a la velocidad media. La espuma resultante fue de color blanco, brillante y muy gruesa/rígida y tuvo una apariencia esencialmente igual que una mezcla de clara de huevo control.

15 La espuma fue evaluada para brillo (L) y cromaticidad (a y b), utilizando un colorímetro Minolta. En el espacio del color L a b, el valor se mueve de 0 a 100, siendo 100 de color blanco y siendo 0 de color negro. Las coordenadas de cromaticidad, a y b, ambas tienen valores máximos de + 60 y -60, siendo +a la dirección roja, siendo -a la dirección verde, siendo +b la dirección amarilla y siendo -b la dirección azul. Los valores de color para la espuma fueron:

L:91.97, a:1.27 y b:5.19.

20 La espuma fue estable por al menos cuatro horas a temperatura ambiente y, después de la congelación, durante la noche y posterior descongelación, la espuma fue muy estable con solo unas pocas gotas de líquido que aparecen en el fondo del recipiente de espera claro. El volumen y la estabilidad de la espuma obtenidas están en el mismo rango que la proteína de la clara de huevo en un experimento paralelo.

**Ejemplo 4:**

25 Este Ejemplo ilustra el uso de las propiedades de formación de espuma del aislado proteico de canola en la formación de un turrón.

30 Las propiedades de formación de espuma del aislado proteico de canola, según se demuestra en el Ejemplo 3, adicionalmente se ilustraron mediante la preparación de una barra de turrón blando de proteína texturizada. Los turrones normalmente están compuestos de azúcares, jarabes y agentes de batido, comúnmente clara de huevo. En este Ejemplo, el aislado proteico de canola fue utilizado para reemplazar la clara de huevo comúnmente empleada.

El turrón contiene los ingredientes en sus proporciones respectivas en peso establecidas en la siguiente Tabla IV:

TABLA IV

Aislado Proteico de Canola	3.7%
Azúcar de color blanco granulado	50.9%
Glucosa (65 dextrosa equivalente)	25.0%
Agua	17.2%
Polvo de chocolate (1)	2.8%



Ácido cítrico	0.4%
---------------	------

---

(1) Polvo de chocolate contiene 55% de polvo de cacao, 10% de azúcar de color blanco y 35% leche descremada en polvo.

---

5 El azúcar y parte de la glucosa (18.0%) se mezclaron con parte del agua (9.9%) y se hierve a 135°C para formar un jarabe caliente. Una composición separada que contiene el aislado proteico de canola se mezcló con el agua remanente (7.3%) seguido por la glucosa remanente (7.0%) más el ácido cítrico. Estos materiales se batieron a la velocidad media, durante 4 minutos. El jarabe caliente, se enfría a 93°C, se adicionó lentamente al aislado proteico de canola mezclado con batido continuo a la velocidad media, por 1 minuto adicional. El polvo de chocolate se dobló en el final de este periodo de mezcla.

10 El turrón con sabor a chocolate resultante tuvo una estructura pequeña, seca, aireada, muy similar a un turrón comercial hecho con clara de huevo. Este material, en la forma de una barra de proteína, luego se recubrió en chocolate líquido. Se logró una mayor concentración de las proteínas aumentando la cantidad de aislado proteico de canola en cada barra.

#### Ejemplo 5:

Este Ejemplo ilustra el uso de las propiedades de formación de espuma del aislado proteico de canola en la formación de un alfajor.

15 Las propiedades de formación de espuma del aislado proteico de canola según se demuestra en el Ejemplo 3, adicionalmente se ilustraron mediante la preparación de un alfajor como un sustituto de la clara de huevo comúnmente utilizada en tales productos. El alfajor contiene los ingredientes establecidos en la siguiente Tabla V:

TABLA V

Ingrediente	% en peso
Aislado proteico de canola	3.6
Azúcar de color blanco granulado	43.5
Coco rallado azucarado	23.4
Almidón de maíz	1.1
Vainilla	0.3
Ácido cítrico	0.5
Agua	27.6

20 Una pequeña porción de agua (3.6%) más el ácido cítrico fueron utilizados para rehidratar el polvo del aislado proteico de canola, hasta que se formó una estructura similar a una pasta, que se dejó en reposo durante 15 minutos. El material rehidratado fue adicionado a un tazón de mezcla junto con el agua remanente y a continuación se mezclan lentamente durante 30 segundos. Luego se adicionaron gradualmente el azúcar y el almidón al aislado proteico de canola batido y la mezcla continuó por 2.5 minutos. Por último el coco y la vainilla se doblaron en el tazón y la mezcla se continuó por 1 minuto adicional. Después de que el mezclado se completó, alícuotas de aproximadamente 35 ml de la mezcla se dejaron caer sobre una bandeja de horneado y se hornearon en un horno a 135°C durante 35 minutos.

25 La estructura rígida inicial del batido del alfajor se tuvo en calentamiento (i.e. no se colapsó) y fue crujiente y ligero a la mordera con un sabor limpio que no posee caracteres de sabor desagradable. El color del producto fue blanco,

típico de una estructura de clara de huevo aireada/batida control, donde una cantidad equivalente de albúmina de clara de huevo líquida fue utilizada en lugar del aislado proteico de canola rehidratado.

#### Ejemplo 6:

Este Ejemplo ilustra el uso del aislado proteico de canola en una barra de turrón de caramelo dietético.

- 5 Las propiedades de formación de espuma del aislado proteico de canola según se demuestra en Ejemplo 3, adicionalmente se ilustraron por la preparación de una barra de turrón de caramelo dietético como un sustituto de la clara de huevo comúnmente utilizada en tales productos, en este caso utilizando CPI A07-22 como el aislado proteico de canola. La preparación de CPI A07-22 se describe en el Ejemplo 1. La barra de turrón de caramelo dietético contiene los ingredientes que se describen en la siguiente Tabla VI:

10 TABLA VI

Ingrediente	Peso (g)	Porcentaje (%)
Azúcar	655.6	47.7
Jarabe de maíz, dietético	338.4	24.6
Agua	226.3	16.5
Proteína A07-22	11.7	0.9
Agua de hidratación	85.5	6.2
Trozos de chocolate	56.7	4.1
Sal	0.5	0.04
Total	1374.7	100.0

- 15 El aislado proteico de canola, proteína, 50% de agua y la sal se batieron por 1 minuto a la velocidad 1, a continuación 3 minutos a la velocidad 3, utilizando una pala para batir en un tazón de mezcla Hobart y se refrigera hasta que se necesite. Una espátula de goma, el interior de una cacerola, y un molde para pasteles fueron recubiertos con PAM en aerosol. El azúcar, el jarabe de maíz y el resto de agua se adicionaron a la cacerola y la mezcla se lleva a ebullición en calentamiento 5. La mezcla se cubrió y se dejó hervir durante 3 minutos. La cubierta se retiró y los lados de la cacerola se lavaron hacia abajo utilizando una brocha de pastelería sumergida en agua fría. La cocción y la agitación se continuaron hasta que se alcanzó una temperatura de 270°F (130°C). La temperatura se midió mediante la inclinación de la cacerola y determinando la temperatura de la solución.

- 20 La cacerola se retiró del calor y la solución en la cacerola se enfrió en una estantería de enfriamiento a 260°F (127°C). La mezcla caliente se vierte sobre la mezcla de proteína batida mientras que se mezclan, utilizando la pala de mezcla a la velocidad 1, durante 3 minutos. La homogenización de la mezcla se continuó por otros 16 minutos.

- 25 Trozos de chocolate se adicionaron mientras que se mezclan por 1 minuto a la velocidad 1, para permitir que los trozos se fundan en la mezcla. La mezcla fue transferida al molde para pasteles y se moldea plana a  $\frac{3}{4}$  de pulgadas de altura y se congela. La lámina congelada se cortó en cuadrados y se congelan en una bandeja de horneado. Los cuadrados de turrón congelados se colocaron en una bolsa de congelación para su almacenamiento.

El turrón apareció cremoso y de color caramelo. La textura fue suave, fácil de masticar y blanda. El turrón tuvo un sabor dulce y sin olor desagradable y un sabor limpio.

#### 30 Ejemplo 7:

Este Ejemplo ilustra el uso del aislado proteico de canola en un merengue horneado.

Las propiedades de formación de espuma del aislado proteico de canola utilizada, además se ilustran mediante la preparación de un merengue horneado, como un sustituto de la clara de huevo convencionalmente utilizada en tales productos. El aislado proteico de canola utilizado fue CPI A07-22, preparado como se describe en el Ejemplo 1.

El merengue horneado contiene los ingredientes enunciados en la siguiente Tabla VII:

5 TABLA VII

Ingrediente	Peso (g)	Porcentaje (%)
PMM A07-22	11.6	3.5
Agua de hidratación	85.2	26.0
Sal	0.4	0.1
Azúcar (1)	161.7	49.3
Azúcar (2)	55.3	17.0
Almidón de maíz	8.9	2.7
Jugo de limón	4.7	1.4
Total	327.8	100.0

10 El agua de hidratación a temperatura ambiente fue adicionada a la proteína y la sal en un tazón del mezclador Hobart y la proteína se humedeció y se dispersó por la mezcla suave con un tenedor. La proteína se dejó hidratar por 15 minutos a temperatura ambiente. La proteína hidratada luego se mezcló a la velocidad 3, durante 2.5 minutos. Se adicionó azúcar (1) gradualmente mientras se mezcla a la velocidad 3, durante 2 minutos. Los lados del tazón luego se rasparon. La mezcla se mezcló por otros 2 minutos. El azúcar (2) y el almidón de maíz fueron premezclados utilizando un tenedor y la mezcla seca y el jugo de limón se doblaron suavemente en la mezcla de proteína utilizando una espátula de goma (20 veces). La mezcla fue transferida a una manga pastelera y se trasvasó en bandejas de horneado recubiertas con pergamino. El material trasvasado fue horneado a 200°F (93°C) por 3 horas. El horno se apagó y los merengues se dejaron durante la noche con la luz del horno.

15 El merengue horneado mostró una textura crujiente, aireada leve. El sabor de los merengues fue dulce y no mostró caracteres de sabor negativo.

**Ejemplo 8:**

20 Este Ejemplo ilustra el uso del aislado proteico de canola en una formulación de bebida, a saber, un batido de frutas, como un sustituto de la gelatina y/o de la proteína de la leche.

Un batido de frutas fue preparado utilizando el aislado proteico de canola CPI A07-22. El batido de frutas contiene los ingredientes enunciados en la siguiente Tabla VIII:

TABLA VIII

Ingrediente	Peso g	Peso %
PMM A07-22	12.5	4.5
Sacarosa cristalina	11.5	4.2
Goma xantana	0.4	0.1
Lecigran 570	0.6	0.2

V8 Berry Blend	250.0	91.0
Total	275.0	100.0

5 Se mezclaron manualmente la proteína, azúcar, lecitina y la goma. 4 cucharadas de V8 Berry Blend (marca comercial), se adicionaron a una batidora Osterizer. La mezcla de proteínas seca fue adicionada a la Osterizer, seguido por el resto de V8 Berry Blend. La licuadora se colocó en la posición más alta, durante 15 segundos, los lados se rasparon, como los contenidos se mezclaron por otros 15 segundos. La mezcla se vierte en una taza y se evalúa.

La bebida de proteína resultante fue de color rojo-naranja y tuvo un sabor a fruta sin caracteres de sabor negativo. La textura fue cremosa y esponjosa.

**Ejemplo 9:**

10 Este Ejemplo ilustra el uso del aislado proteico de canola en una galleta de frutos secos en sustitución del huevo entero convencionalmente empleado e ilustrando las propiedades de enlace de grasa.

Las galletas de frutos secos se prepararon a partir de la formulación enunciada en la siguiente Tabla IX:

TABLA IX

Ingrediente	Peso (g)	Porcentaje (%)
Azúcar blanco	104.6	11.3
Azúcar moreno	88.3	9.6
Mantequilla de maní sólida	208.5	22.6
Margarina	50.3	5.4
Vainilla	2.9	0.3
Aislado Proteico de Canola A10-13 o A07-22	12.5	1.4
Agua	91.6	9.9
Copos de avena	241.3	26.2
Bicarbonato de sodio	4.8	0.5
Sal	1.1	0.1
Trozos de chocolate	70.6	7.7
Uvas pasas	46.3	5.0
Total	922.8	100.0

15 El azúcar blanco, azúcar moreno y polvo del aislado proteico de canola se mezclaron en una tazón del mezclador Hobart. La mantequilla de maní y la margarina se adicionaron y se mezclaron por 1.5 min., a la velocidad 1. Después se adicionaron vainilla y agua y se mezclaron por 1 min., a la velocidad 1. Los copos de avena, la sal y el bicarbonato de sodio fueron pre-mezclados y se adicionaron al tazón del mezclador Hobart. La mezcla se mezcló durante 1 min, a la velocidad 1. Los trozos de chocolate y las uvas pasas se adicionaron y se mezclaron por 30 seg., a la velocidad 1. La mezcla se deja caer con una cucharada en una bandeja de horneado sin engrasar que no se pega. Un horno fue precalentado a 350°F (175°C) y las galletas se hornearon por 16 minutos en el horno.

20

Las galletas de frutos secos, tuvieron un color marrón dorado y una apariencia gruesa, entera. La textura fue fácil de masticar, blanda y húmeda. Ni colores, ni olores desagradables se detectaron.

**Ejemplo 10:**

5 Este Ejemplo ilustra el uso del aislado proteico de canola en la preparación de bollos cruzados calientes glaseados, en lugar de la clara de huevo convencionalmente empleada e ilustra las propiedades de formación de película.

Los bollos cruzados calientes glaseados se prepararon a partir de la formulación enunciada en la siguiente Tabla X:

TABLA X

Formulación del bollo		
Ingrediente	Lote Producido (g)	Porcentaje (%)
Mezcla de Bollo Cruzados Calientes Dawn	340.8	49.5
Agua (del grifo)	170.4	24.8
Levadura (aumento al instante)	6.3	0.9
Grosellas	85.2	12.4
Frutas Mezclados (mezcla de tarta glace)	85.2	12.4
Total	687.9	100.0
Formulación Glaseada		
Ingrediente	Lote Producido (g)	Porcentaje (%)
Aislado Proteico de Canola A8-02	12.0	21.3
Sal	0.3	0.7
Agua	44.0	78.0
Total	56.3	100.0

10 La mezcla de bollo cruzado caliente, la levadura y el agua se colocaron en un tazón del mezclador Hobart y se mezclan con la pala de mezclado a la velocidad 1, durante 3 minutos. La masa se amasó en una tabla de cortar hasta que está firme y elástica, no pegajosa. Las grosellas y frutas mezcladas fueron pesadas en un tazón y 1 cucharada de harina se adicionó. La fruta y harina se mezclaron manualmente para cubrir ligeramente la superficie de la fruta. La fruta después se adicionó a la masa en el tazón del mezclador Hobart y se mezclan a la velocidad 1, por 1 minuto. La paleta se retiró y la masa se redondeo ligeramente. La masa se cubrió con un paño y se deja fermentar durante 20 minutos. La masa se recortó en una tabla de cortar en porciones de 50 g, se cubrieron con un paño y se dejaron en reposo por 15 minutos. La masa se redondeó y se colocó en un molde para pasteles, la masa se cubrió con un paño y se fermentó durante 90 minutos colocando el molde sobre una estufa caliente.

15 Un lavado de proteína fue preparado mezclando el aislado proteico de canola, sal y agua. La superficie de la masa se cubrió cuatro veces con lavados de proteínas utilizando una brocha de pastelería. La masa luego fue horneada a 380°F (193°C) durante 17 minutos.

20 La superficie del bollo cruzado caliente fue de color dorado y brillante con una capa exterior firme. Ni colores, ni sabores desagradables se detectaron, incluso cuando el aislado proteico de canola fue utilizado en un nivel alto.

**Ejemplo 11:**

Este Ejemplo ilustra el uso del aislado proteico de canola, en la preparación de panecillos glaseados en lugar de la clara de huevo convencionalmente utilizada e ilustrando las propiedades de formación de película.

Los panecillos glaseados se prepararon a partir de la formulación enunciada en la Tabla XI:

TABLA XI

Formulación de la Rosquilla		
Ingrediente	Lote Producido (g)	Porcentaje (%)
Agua	265.0	33.0
Harina común	430.0	53.5
Leche en polvo descremada	9.9	1.2
Azúcar	46.6	5.8
Sal	5.1	0.6
Mantequilla	40.0	5.0
Levadura (Activa al Instante Seca)	7.2	0.9
Total	803.8	100.0
Formulación Glaseada		
Ingrediente	Lote Producido (g)	Porcentaje (%)
Aislado Proteico de Canola A8-02	12.0	21.3
Sal	0.3	0.7
Agua	44.0	78.0
Total	56.3	100.0

5 Se adicionó agua a un molde de pan (Westbend Automatic Bread and Dough Maker). La harina, la leche en polvo, el azúcar y la sal se adicionaron al molde de pan y el molde de pan se colocó suavemente al nivel de los ingredientes. La mantequilla se cortó en cuatro piezas y se colocó en cada esquina del molde de pan. Un pozo se formó en los ingredientes secos (impide la exposición del azúcar a la levadura) y la levadura se adicionó en el pozo. La máquina panificadora fue ajustada a configuración "Masa" (1 hora, 20 minutos) y la máquina se pone en marcha y se cierra. Al finalizar, la masa se retiró y colocó sobre una tabla de cortar enharinada, se cubre y se deja en reposo durante 15 minutos. La masa se formó en rosquillas (18), que se colocaron en un molde de horneado, se cubre y se deja subir (a dos veces su tamaño) en un ambiente libre de aire caliente (60 minutos).

10 Un lavado de proteína, se preparó mediante la mezcla del aislado proteico de canola, sal y agua. La parte superior de las rosquillas fue cepillada cuatro veces con el lavado de proteína utilizando una brocha de pastelería. A continuación, las rosquillas se hornearon a 350°F (177°C), durante 18 minutos.

La superficie de los panecillos fue brillante, glaseada y marrón dorada con una capa exterior firme. Ni aromas, ni sabores desagradables se detectaron, incluso a una alta concentración de la proteína de canola.

**Ejemplo 12:**

20 Este Ejemplo ilustra el uso del aislado proteico de canola en un donut en lugar de la clara de huevo o huevo entero convencionalmente empleados y se ilustran las propiedades de enlace.

Los donuts se prepararon a partir de la formulación enunciada en la siguiente Tabla XII:

TABLA XII

Ingrediente	Peso (g)	Porcentaje (%)
Harina común	480.6	47.0
Azúcar, fina granulada	217.7	21.3
Polvo de hornear	16.2	1.6
Sal	3.0	0.3
Canela	2.3	0.2
Mantequilla	23.6	2.3
Aislado Proteico de Canola A07-22	12.3	1.2
Agua	90.3	8.8
Leche, 2%	176.5	17.3
Total	1022.5	100.0

- 5 Una primera cantidad de harina (50% del total) azúcar, polvo de hornear, sal, canela y aislado proteico de canola se colocaron en un tazón de mezcla Hobart. Los ingredientes fueron mezclados en seco con un tenedor, hasta que todos los ingredientes secos se dispersaron adecuadamente. La mantequilla, el agua y la leche después se adicionaron al tazón. La mezcla se mezcló durante 30 segundos a la velocidad 1, utilizando la pala de mezclado. El fondo y los lados del tazón y la paleta se rasparon. La mezcla se mezcló durante 2 minutos, a la velocidad 2. Durante el mezclado, la licuadora se detuvo después de 1 minuto y el fondo y los lados del tazón y la paleta se rasparon. El resto de harina se adicionó mientras que se mezclan a la velocidad 1, por 1 minuto.

10 La masa resultante se colocó sobre una tabla de cortar enharinada, se amasa en una bola, la superficie de la bola enharinada y se extiende plana a 1/2 pulgada de espesor utilizando un rodillo. La lámina de masa se cortó con un cortador de donuts y los donuts y huecos se colocaron sobre papel pergamino.

- 15 Una freidora (SEB Safety Super Fryer Model 8208) fue precalentada a la temperatura programada de 374°F (190°C). Los donuts se colocaron en la cesta de la freidora y se frien durante 60 segundos cada lado. Los donuts fritos se colocaron sobre toallitas de papel y en varios niveles sobre estanterías de refrigeración.

Los donuts tuvieron un color marrón dorado y un liso, incluso, la superficie exterior. Los donuts fueron como tortas con una superficie ligeramente crujiente. Los donuts tuvieron un sabor a canela dulce y no mostraron ni aromas ni sabores desagradables

## 20 **Ejemplo 13:**

Este Ejemplo ilustra el uso del aislado proteico de canola en la preparación de verduras y el pescado rebozados, en lugar de la clara de huevo convencionalmente empleada y se ilustran las propiedades de enlace.

Las verduras y el pescado rebozados se prepararon utilizando un rebozado preparado a partir de una formulación según se enuncia en la Tabla XIII:

TABLA XIII

Ingrediente	Peso (g)	Porcentaje (%)
Harina común	128.0	32.3
Polvo de hornear	2.5	0.6
Azúcar	4.8	1.2
Sal	2.7	0.7
Leche, desnatada	182.6	46.0
Aislado Proteico de Canola A07-22	6.2	1.6
Agua	45.8	11.5
Manteca	24.1	6.1
Aceite de canola para freír	-	-
Total	396.7	100.0

Las cebollas fueron peladas y se cortaron en rodajas de 1/4 de pulgada y se separaron en anillos. Las setas y el calabacín se lavaron y a continuación el calabacín se cortó en rodajas de 1/4 de pulgada. El pescado se cortó en tiras de 2 pulgadas.

- 5 La harina se mezcló manualmente con la proteína, el polvo de hornear, la sal y el azúcar. La mezcla se mezcló en seco a fondo, utilizando un tenedor. La manteca se fundió en un horno de microondas por 45 segundos en el nivel 8. La leche, el agua y la manteca fundida se combinaron y se adicionaron a los ingredientes secos. La mezcla se mezcló manualmente hasta que queda suave.

- 10 Las piezas de verdura y de pescado se sumergieron en el rebozado. Una cesta de freidora se bajo en el aceite de canola precalentado a 374°F (190°C) y las piezas rebozadas se colocaron en el aceite de la freidora. Cada lado se fritó (anillos de cebolla y pescado: 30 a 45 segundos cada lado, calabacín, setas: 1 minuto cada lado) y luego se retiraron de la freidora. Los alimentos fritos se colocaron sobre toallas de papel para absorber el aceite.

Las piezas de verdura y de pescado recién rebozadas y fritas fueron de color marrón dorado y crujientes. El rebozado se adhirió a las piezas bien. Ni aromas, ni sabores desagradables se detectaron.

#### 15 **Ejemplo 14:**

Este Ejemplo ilustra el uso del aislado proteico de canola en la formación de proteína de canola texturizada.

- 20 PMM BW-A16-L10-01A, preparado como se describe en el Ejemplo 2, en forma húmeda, se adicionó a una jeringa de 5 cc y luego se forma por extrusión en agua caliente entre (203°F) 95°C y (210°F) 99°C. Las fibras largas como el espagueti se forman a lo largo de la superficie del agua. Las hebras de proteína largas se convirtieron en forma manual con el fin de facilitar incluso el tratamiento térmico a ambos lados del producto. Las hebras fueron retiradas del agua y el exceso de agua se retiró utilizando toallas absorbentes.

Las fibras formadas fueron largas y elásticas, amarillo dorado en color con un sabor suave y sin aroma característico.

#### **Ejemplo 15:**

- 25 Este Ejemplo ilustra las funcionales propiedades del aislado proteico de canola como un aglutinante en una hamburguesa de setas en lugar de huevos.



Las hamburguesas de setas se prepararon a partir de las formulaciones enunciadas en la siguiente Tabla XIV:

TABLA XIV

Ingrediente	Peso (gramos)	Porcentaje (%)
Setas, cortadas en cuadros	170.5	51.5
Aceite de canola	10.9	3.3
Cebolla, picada	50.2	15.2
Pan rallado	53.4	16.1
Aislado proteico de canola A6-C 1	4.7	1.4
Agua	34.8	10.5
Pimienta molida	0.3	0.3
Dientes de ajos, triturados	5.1	0.1
Sal	1.1	1.5
Total	331.0	100.0

El agua y la sal se mezclaron y la proteína de canola se mezcló y la mezcla se deja en reposo durante 15 minutos.

- 5 La cebolla y el ajo se saltearon en el aceite en un sartén por 2 minutos utilizando una estufa GE (configuración 3/4).

Las setas se adicionaron y se cocieron por 6 minutos en la configuración 4/5, revolviendo frecuentemente hasta que estén tiernas y todo el líquido ha desaparecido. La mezcla de setas cocinadas se enfrió y se combinó manualmente con el resto de ingredientes. La mezcla fue utilizada para hacer aproximadamente 100 g de hamburguesas. Las hamburguesas se cocinaron a una temperatura ambiente de 165°F (74°C) ya sea en un sartén (configuración 2/3; 2 minutos por lado) o en una barbacoa (calor medio; 10 minutos por lado).

10

El aislado proteico de canola produjo una hamburguesa de forma aceptable. Sin embargo, las hamburguesas tuvieron una textura blanda, sabor desagradable ligeramente amargo y una superficie más quebradiza luego un control de huevo, pero sin embargo eran aceptables. Las hamburguesas hechas con el aislado proteico de canola conservaron la integridad tanto cuando se frien o a la brasa. La hamburguesa del aislado proteico de canola tuvo una pérdida de peso menor (5.40%) que la hamburguesa de huevo control (4.70%).

15

#### Ejemplo 16:

Este Ejemplo ilustra las propiedades funcionales del aislado proteico de canola como un aglutinante, en lugar del almidón de maíz y/o goma xantana convencionalmente empleados.

Una salsa de caramelo se preparó a partir de las formulaciones enunciadas en la siguiente Tabla XV:

20 TABLA XV

Ingrediente	Peso (gramos)	Porcentaje (%)
Leche evaporada al 2%	407.6	65.6
PMM BW-AL016-L10-01A	10.9	1.8
Azúcar moreno	75.6	12.2

Azúcar blanco	106.3	17.1
Margarina	15.0	2.4
Extracto de vainilla	5.9	0.9
Total	621.3	100.0

5 El aislado proteico de canola y los azúcares se mezclaron en seco. La leche evaporada, la margarina y la vainilla se mezclaron gradualmente. La mezcla se adicionó a una caldera de doble ventilación y se coció a 88°C (190°F) y se mantuvo durante cinco minutos. A continuación, la caldera se retiró del calor, se enfrió, se cubrió y refrigeró durante la noche.

El aislado proteico de canola produjo una salsa con sabor y color aceptables en comparación con una salsa control preparada con almidón de maíz. El aislado proteico de canola produjo una salsa más viscosa (2848 cps) en comparación con la salsa control preparada con almidón de maíz (1292 cps).

**Ejemplo 17:**

10 Este Ejemplo ilustra la solubilidad del aislado proteico de canola.

15 10 g del aislado proteico de canola A11-04 seco, preparado como se describe en el Ejemplo 1 se combinó con 400 ml de agua destilada en un vaso de precipitados de 600 ml para preparar una solución de proteína de 2.5 % en peso. La solución de proteína se mezcló por homogeneización durante 2 minutos a 4500 rpm, hasta que una lechada suave se formó. Se determinó el pH de la solución de proteína y la división de la solución en volúmenes iguales para ajustar el pH, una para ajuste alcalina y la otra para ácido.

20 El pH de la solución de proteína se ajustó a 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 y 8.0 con NaOH 0.1 M o HCl al 5%. Una pequeña muestra de cada solución ajustada de pH, se recolectó para la determinación de la proteína. 30 ml de las soluciones de ajuste de pH se vertieron en viales de centrifuga de 45 ml y se centrifugaron por 10 minutos a 10,000 rpm. Después de la centrifugación, se determinó la concentración de la proteína sobrenadante para cada una de las muestras ajustadas de pH,

El % de solubilidad de la proteína se determinó de la relación:

$$\% \text{ de Solubilidad} = \frac{\% \text{ de proteína después de la centrifugación}}{\% \text{ de proteína antes de la centrifugación}} \times 100$$

Los resultados obtenidos se publican en la siguiente Tabla XVI:

TABLA XVI

pH	Media % de Proteína antes de la Centrifugación (± 0.2%)	Media % Proteína después de la Centrifugación (± 0.2%)	Media % de Solubilidad
4.0	2.13	1.90	89.20
4.5	2.11	1.78	84.35
5.0	2.18	1.25	57.34
5.5	0.60	0.08	13.23
6.0	0.06	0.02	33.33

6.5	0.20	0.06	30.00
7.0	0.29	0.27	93.10
7.5	0.77	0.78	101.29
8.0	1.53	1.45	94.77

Como puede verse de los resultados en la Tabla XV, el aislado proteico de canola fue muy soluble en todos los pH's probados, siendo mayor la solubilidad a pH 4.0 a 4.5 y 7.0 a 8.0.

**Ejemplo 18:**

5 Este Ejemplo ilustra las propiedades de formación de espuma del aislado proteico de canola.

3.75 g del aislado proteico de canola BW-AL011-J16-01A, preparado como se describe en el Ejemplo 2, se colocaron en un vaso de precipitados de 250 ml. Se adicionaron 60 ml de solución de NaCl 0.075 M a la proteína unos pocos ml a la vez. Después de cada adición, la solución de proteína se mezcló manualmente creando una pasta inicialmente, que lentamente fue diluida en una solución completamente suspendida. La mezcla luego se colocó en un agitador magnético y se mezclaron por otros 10 minutos. El pH de la solución se ajustó a 7.00 con NaOH 0.1 M, y la solución se agitó por otros 10 minutos. El pH se volvió a ajustar a 7.00 y el volumen del líquido se llevó hasta 75 ml con la cantidad necesaria de NaCl 0.075 M, para producir una solución de proteína al 5% peso/vol.. Los 75 ml de solución se vierten en un tazón del Mezclador Hobart y utilizando la pala para batir, se mezcla a la velocidad 3, durante 5 minutos.

15 Se sacó con cuidado, suficiente espuma del tazón utilizando una espátula de goma en 2, tarada, 125 ml de tazas de medición de taza seca. El exceso de espuma se limpió utilizando el borde plano de una espátula metálica al nivel de la parte superior de la espuma incluso con la parte superior de la taza de medición. El peso de la espuma se registró. La espuma se regresó suavemente al tazón de mezcla y se batió por otros 5 minutos. Las mediciones se repitieron, la espuma se regresó al tazón y las mediciones se repitieron de nuevo después de 5 minutos más completando un total de 15 minutos del mezclado y 3 mediciones de rebasado consecutivas.

El rebasado se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de rebasado} = \frac{(\text{peso de 125ml de protefna}) - (\text{peso de 125ml de espuma})}{(\text{peso de 125ml de espuma})} \times 100$$

25 La estabilidad de la espuma también fue probada. La solución de proteína se preparó de la misma manera como se describe para las mediciones del % de rebasado, excepto que la solución de proteína se batió continuamente durante 15 minutos en el nivel 3. Utilizando una espátula de goma, la espuma se transfirió cuidadosamente a un embudo de cuello largo de 1L, colocado en la parte superior de una probeta graduada de 250 mL. Una pequeña cantidad de lana de vidrio se colocó en la parte superior de la boquilla del embudo antes de transferir la espuma para prevenir que la espuma drene al tiempo que permite que drene el líquido.

30 El volumen de líquido que se recolectó en la probeta graduada a 5, 10 y 15 minutos se midió. El volumen contenido en la lana se adicionó al volumen final.

Los experimentos se repitieron por comparación con albúmina de huevo, un aislado proteico de suero (de Alacen) y un aislado proteico de soja (de Pro Fam). Los resultados obtenidos se describen en las siguientes Tablas XVII, XVIII, XIX y XX:

TABLA XVII

pH de la Solución después de la Agitación		
Muestra de Proteína	pH después de 10 minutos de agitación	pH después de 20 minutos de agitación

Albúmina de huevo	6.88	6.95
Suero	6.49	6.98
Soja	7.13	7.01
PMM	6.44	6.95

TABLA XVIII

Media del Peso de la Espuma			
Muestra de Proteína	5 minutos (g)	10 Minutos (g)	15 Minutos (g)
Albúmina de huevo	10.16	6.42	6.57
Suero	17.35	13.48	9.76
Soja	63.26*	58.53*	49.74*
PMM	18.47	15.78	23.62
* Solo un peso podría ser obtenido porque no bate bien.			

TABLA XIX

Media de Rebasado			
Muestra de Proteína	5 minutos (%)	10 Minutos (%)	15 Minutos (%)
Albúmina de huevo	1130.32	1847.04	1802.59
Suero	620.46	827.30	1180.74
Soja	97.60	113.57	151.31
PMM	576.77	692.15	877.77
* Asume el peso de 125 ml de solución de proteína es 125 g.			

5

TABLA XX

Volumen de Solución de proteína Recolectada en el Embudo			
Muestra de Proteína	Drenaje a 5 Min (ml)	Drenaje a 10 Min (ml)	Drenaje a 15 Min (ml)
Albúmina de huevo	0.0	1.0	5.0
Suero	2.0	13.0	24.0
Soja	N/A*	N/A*	N/A*
PMM	13.0	30.0	42.9

\* La soja no espumó bien. Se conectó la lana con una sustancia gelatinosa cuando se vierte en el embudo, y no drena fuera. Asumir que todos los 75 ml drenan inmediatamente.

Como se desprende de los resultados de estas Tablas, el aislado proteico de canola creó una espuma agradable. La considerable cantidad de drenaje de la espuma después de 15 minutos indicó una falta de estabilidad de la espuma para el aislado proteico de canola.

5 **Ejemplo 19:**

Este Ejemplo ilustra la capacidad de retención del aceite del aislado proteico de canola.

La fórmula descrita en la Tabla XXI fue utilizada para preparar una emulsión:

TABLA XXI

Ingrediente	Porcentaje de Fórmula (%)	Peso Adicionado (g)
Proteína	0.11	0.50
Vinagre (Sin Nombre 5% de ácido acético)	12.27	55.22
Aceite de Canola (CSP Foods)	Desconocido	Desconocido
Azúcar (Rogers fina granulada)	9.10	4.095
Sal (Sifto)	0.27	1.22
Agua Destilada	11.65	52.43

10 El azúcar, la sal y el aislado proteico de canola, BW-AL011-J16-01A preparado como se describe en el Ejemplo 2, fueron mezclados en seco en un vaso de precipitados de 600 ml. El agua y el vinagre se mezclaron y se adicionaron a la proteína unos pocos ml a la vez. Después de cada adición, la solución de proteína se mezcló manualmente para crear una pasta inicialmente que fue lentamente diluida en una solución completamente suspendida. La mezcla  
 15 luego se colocó en un agitador magnético y se mezcló por 5 minutos. Un vaso de precipitados de 2000 ml se llenó con aceite de canola y el peso se registró. Una manguera de succión se colocó en el aceite.

El extremo de dispensación de la manguera se unió a un homogeneizador y la bomba se preparó con aceite utilizando la configuración #1, para dispensar aproximadamente 40 a 50 ml/min. Al mismo tiempo, el homogeneizador se giró a 5000 rpm y la bomba se encendió para dispersar el aceite. El punto en el cual la emulsión fue más viscosa, se observó visualmente. En el punto de inversión la bomba y el homogeneizador inmediatamente  
 20 se encendieron. El extremo de la manguera de succión fue pinchado con un clip para mantener el aceite en esta y el peso de aceite que queda en el vaso de precipitados de 200 ml se determinó.

El experimento se repitió utilizando yema de huevo, goma xantana (de Kelco Biopolymers) y el aislado proteico de soja (del Grupo SPI). La media de la capacidad de retención del aceite de las emulsiones, se determinó para las diferentes fuentes de proteína y los resultados obtenidos se publican en la siguiente Tabla XXII:

25 TABLA XXII

Muestra	Peso de Aceite Adicionado (g)	Volumen de Aceite Adicionado (ml)
Yema	163.07	146.93
Xantana	88.09	79.37
Soja	91.50	82.44

PMM	213.47	192.34
-----	--------	--------

Como puede verse de los resultados descritos en la Tabla XXI, el aislado proteico de canola funciona significativamente mejor que la goma xantana y la soja para la capacidad de retención del aceite.

#### Resumen de la divulgación

- 5 En resumen de esta divulgación, la presente invención proporciona una variedad de productos alimenticios, donde las proteínas utilizadas para proporcionar una amplia variedad de funcionalidades se reemplazan, total o parcialmente, por un aislado proteico de canola altamente purificado, producido de acuerdo con el proceso definido por las reivindicaciones. Las modificaciones son posibles dentro del alcance de la invención, que se define por las reivindicaciones.

**REIVINDICACIONES**

1. Un proceso de formación de una composición alimentaria, que comprende:
- 5 extracción de la semilla oleaginosa de canola con una solución acuosa de sal grado alimenticio a una temperatura de al menos 5 °C, para originar la solubilización de la proteína en la harina de semilla oleaginosa de canola y para formar una solución acuosa de la proteína que tiene un contenido de proteína de 5 a 30 g/l y un pH de 5 a 6.8;
- reducción del volumen de la solución acuosa de la proteína utilizando membranas de ultrafiltración para proporcionar una solución de proteína concentrada que tiene un contenido de proteína en exceso de 200 g/l;
- dilución de la solución de proteína concentrada en agua fría que tiene una temperatura por debajo de 15 °C para formar una nube de micelas de proteínas;
- 10 sedimentación de las micelas de proteínas para formar una masa micelar similar al gluten, amorfa, pegajosa, gelatinosa;
- eliminación del sobrenadante;
- 15 secado de la masa pegajosa viscosa precipitada para proporcionar un aislado proteico de canola sustancialmente no desnaturizado, que tiene un contenido de proteína de al menos 100 % en peso, según se determina mediante nitrógeno Kjeldahl x 6.25;
- proporcionar una composición alimentaria que comprende un producto alimenticio y dicho aislado proteico de canola sustancialmente no desnaturizado, como un componente que proporciona funcionalidad en dicha composición alimentaria.
- 20 2. Un proceso como se reivindica en la reivindicación 1, en donde dicho aislado proteico contribuye a la composición alimentaria como proteína soluble o para proporcionar la funcionalidad de formación de espuma, la formación de película, enlace de agua, cohesión, espesamiento, gelificación, elasticidad, emulsificación, enlace de grasas o formación de fibras.
- 25 3. Un proceso como se reivindica en la reivindicación 2, en donde dicho aislado proteico, se incorpora en dicha composición alimentaria en sustitución de la clara de huevo, proteína de la leche, huevo entero, fibras de la carne, o gelatina.

## REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCION

Esta lista de referencias citada por el aspirante es solamente para conveniencia del lector. No forma parte del documento de la patente Europea. Aún cuando se ha tenido gran cuidado en recopilar las referencias, los errores u omisiones no se pueden excluir y la EPO desconoce toda responsabilidad a este respecto.

## 5 Documentos de patentes citadas en la descripción

- US 60288434 B [0001]
- US 60330731 B [0001]
- US 5844086 A [0003]
- US 6005076 A [0003]

## 10 • US P4208323 A, Murray IB [0005] [0006]

- US 4208323 A [0005]
- US P4208303 A [0005]
- US 4169090 A [0006]
- US 4285862 A, Murray IA [0006]

## 15 • US 60288415 B [0007] [0008] [0034]

- US 60326987 B [0007] [0008]
- US 60331066 B [0007] [0008]
- US 60333494 B [0007] [0008]
- US 60331646 B [0009]

## 20 • US 4328252 A [0030]

- US 4490397 A [0030]
- US 4501760 A [0030]

Literatura no-patente citada en la descripción

- Food Chemistry. Marcel Dekker, Inc, 1996, 366 [0015]