

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 696 576**

51 Int. Cl.:

A23L 29/206 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.07.2012 PCT/US2012/046552**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.01.2013 WO13010037**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.07.2012 E 12811683 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.09.2018 EP 2731451**

54 Título: **Métodos y composiciones para productos de consumo**

30 Prioridad:

12.07.2011 US 201161507096 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

17.01.2019

73 Titular/es:

**IMPOSSIBLE FOODS INC. (100.0%)
525 Chesapeake Drive
Redwood City, CA 94063, US**

72 Inventor/es:

**BROWN, PATRICK;
CASINO, MONTE;
VOCCOLA, LYNN, S. y
VARADAN, RANJANI**

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 696 576 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

Métodos y composiciones para productos de consumo

5 **Antecedentes de la invención**

La elaboración de queso se ha basado en leches procedentes de animales como ingrediente principal durante más de 4000 años. El queso de leche procedente de animales se produce a partir de cuajadas formadas a partir de leche procedente de animales. Puede hacerse fácilmente que las leches procedentes de animales formen cuajadas adecuadas para elaborar queso poniendo en contacto la leche procedente de animales con cuajo (una proteasa aspártica que escinde kappa-caseína) a pH levemente ácido. Algunos quesos, por ejemplo, queso crema, requesón, queso fresco y paneer, se producen sin cuajo. En ausencia de cuajo, puede inducirse que cuaje el queso de leche procedente de animales con ácido (por ejemplo, zumo de limón, vinagre, etc.) o una combinación de calor y ácido. También puede producirse de manera natural la coagulación con ácido a partir de una fermentación con cultivo iniciador. La intensidad de las cuajadas depende del tipo de coagulación. La mayor parte de los quesos producidos comercialmente usan algún tipo de cuajo (de origen animal, vegetal o microbiano) en su producción.

El sector lácteo mundial contribuye en una estimación del 4 por ciento a las emisiones de gases de efecto invernadero antropogénicos mundiales totales. La producción de 1 kg de queso *cheddar* requiere un promedio de 10.000 litros de agua dulce. Adicionalmente, muchos individuos no pueden digerir y metabolizar la lactosa. En estos individuos, bacterias entéricas fermentan la lactosa, dando como resultado diversos síntomas abdominales, que pueden incluir dolor abdominal, meteorismo, flatulencia, diarrea, náuseas y reflujo de ácido. Adicionalmente, la presencia de lactosa y sus productos de fermentación eleva la presión osmótica del contenido del colon. Se notifica que el 3,4% de los niños en los EE.UU. tienen alergias a las leches procedentes de animales. Muchos individuos eligen evitar la leche por motivos éticos o religiosos.

Las leches no procedentes de animales, incluyendo leches de origen vegetal evitan muchos de los problemas ambientales, de sensibilidad a alimentos, éticos y religiosos asociados con la leche procedente de animales y pueden elaborarse sin lactosa, haciendo que sea atractiva la generación de sucedáneos lácteos que usan las leches de origen vegetal. Sin embargo, el cuajo no es un agente eficaz para inducir que cuajen proteínas o emulsiones de leches no procedentes de animales, incluyendo leches de origen vegetal, incluyendo leche de almendra, leche de castaña, leche de pacana, leche de avellana, leche de anacardo, leche de piñones y leche de nuez. Por consiguiente, las técnicas tradicionales de elaboración de queso no se han usado de manera satisfactoria para producir imitaciones de queso de leche no procedente de animales.

El sabor y aroma en queso de leche procedente de animales resulta en parte de la degradación de lactosa, proteínas y grasas, llevada a cabo por agentes de maduración, que incluyen: bacterias y enzimas en la leche, cultivos bacterianos añadidos durante el proceso de elaboración de queso, cuajo, otras proteasas, lipasas, levaduras y/o mohos añadidos y bacterias y hongos que colonizan de manera oportunista el queso durante la maduración y el envejecimiento.

Están disponibles imitaciones de queso elaboradas principalmente a partir de ingredientes de leche no procedente de animales. La mayor parte de estas imitaciones de queso incluyen algunos ingredientes de leche procedente de animales, por ejemplo, caseína. Algunas imitaciones de queso disponibles comercialmente no contienen productos animales. Estas incluyen imitaciones de queso fermentadas elaboradas a partir de leches de frutos secos de las que no se han retirado de manera eficaz los hidratos de carbono insolubles, y elaboradas sin usar un agente de reticulación de proteína y varios productos en los que un almidón es un ingrediente principal o que contiene agar, carragenanos y tofu para proporcionar la textura deseada. La mayor parte de los catadores no consideran que ninguna de las imitaciones de queso disponibles actualmente imite de manera adecuada el gusto, aroma y sensación en boca de los quesos de leche procedente de animales.

Los hidratos de carbono complejos en las imitaciones de queso disponibles actualmente elaboradas a partir de leches de frutos secos tienen efectos desfavorables sobre la textura, dando como resultado un producto con una sensación granulosa en la boca y la falta de cremosidad de los quesos de leche procedente de animales.

Los almidones que comprenden el principal agente de gelificación en muchas imitaciones de queso disponibles actualmente conducen a un contenido relativamente alto de hidratos de carbono, que puede no ser deseable para los consumidores, por ejemplo los que desean limitar la ingesta de hidratos de carbono.

Debido a estas deficiencias, no existe actualmente ninguna imitación de queso que sea aceptable para la mayor parte de consumidores como alternativa a los quesos de leche procedente de animales tradicionales.

Por tanto, queda claro que existe una gran necesidad en la técnica de un método y sistema mejorados para producir imitaciones de queso de leche no procedente de animales al tiempo que se evitan las desventajas y los inconvenientes de las imitaciones de queso que han estado previamente disponibles para los consumidores. El documento DE 102007061256 da a conocer un producto de imitación de queso derivado de leche de soja, y que se

5 prepara mediante la coagulación de una emulsión de leche de soja y el picado de frutos secos. El documento DE 202011002097 da a conocer un producto de imitación de queso preparado a partir de semillas y/o frutos secos picados y microorganismos de elaboración de queso. El documento GB 2016255 da a conocer un producto similar a queso sintético producido formando una emulsión de semillas de soja. El documento WO 2008/017499 da a conocer que puede usarse leche de coco o vegetal enriquecida en proteína para obtener un producto alimenticio similar a queso de carácter viscoelástico.

Sumario de la invención

10 La presente invención se refiere a una imitación de queso que comprende una emulsión gelificada de una o más proteínas derivadas de plantas, reticuladas, una o más grasas y una enzima de reticulación, en la que la emulsión comprende una leche no procedente de animales a la que se ha retirado al menos el 85% de sus sólidos insolubles, y en la que dichas proteínas derivadas de plantas no proceden de la soja.

15 En una realización de la invención, se han retirado los sólidos insolubles mediante centrifugación, colado, filtración, permitiendo que sedimente, mediante desnatado o usando coagulantes y floculantes.

En otra realización de la invención, se han retirado los sólidos insolubles mediante centrifugación.

20 En otra realización de la invención, la imitación de queso comprende entre el 10% y el 40% de proteínas de fuentes vegetales y entre el 0% y el 65% de grasas de fuentes vegetales.

En una realización de la invención, la imitación de queso tiene un contenido de hidratos de carbono insolubles de menos del 5% en masa.

25 En otra realización de la invención, la imitación de queso comprende además:

(a) microorganismos de elaboración de queso; y/o

30 (b) un azúcar u otra fuente de carbono fermentable.

En otra realización de la invención, la enzima de reticulación es una transglutaminasa o lisil oxidasa.

35 En otra realización de la invención, las proteínas derivadas de plantas y las grasas proceden de frutos secos, legumbres o semillas, opcionalmente en la que los frutos secos comprenden uno o más de almendras, anacardos, nueces de Brasil, cocos, castañas, avellanas, nueces de macadamia, cacahuetes, pacanas, pistachos o nueces.

40 En otra realización de la invención, las proteínas derivadas de plantas comprenden una o más proteínas seleccionadas del grupo que consiste en una proteína ribosómica, actina, hexocinasa, lactato deshidrogenasa, fructosa bisfosfato aldolasa, fosfofructocinasas, una triosa fosfato isomerasa, una fosfoglicerato cinasa, una fosfoglicerato mutasa, una enolasa, una piruvato cinasa, una gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, una piruvato descarboxilasa, una actina, un factor de elongación de la traducción, ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (rubisco), ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa, una oxigenasa activasa (rubisco activasa), una albúmina, una glicinina, una conglucina, una globulina, una vicilina, una conalbúmina, una gliadina, un gluten, una glutenina, una hordeína, una prolamina, una faseolina (proteína), un proteinoplasto, una secalina, una extensina, una zeína, una proteína de reserva de semillas, una oleosina, caloleosina, una esteroleosina, proteína de reserva vegetativa A, proteína de reserva vegetativa B y globulina SS de reserva de semillas de judía mung.

50 En otra realización de la invención, los microorganismos de elaboración de queso se seleccionan de uno o más de los siguientes: *Penicillium camemberti*, *Penicillium candidum*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium nalgiovensis*, *Verticillium lecanii*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Debaryomyces hansenii*, *Rhodospiridium infirmominiatum*, *Candida jefer*, *Cornybacteria*, *Micrococcus* sps., *Lactobacillus* sps., *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Halomonas*, *Brevibacterium*, *Psychrobacter*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus* sps. o *Propionibacteria*.

55 Se proporcionan en el presente documento métodos y composiciones para productos de leche y queso no procedente de animales, incluyendo sin limitación, para productos de leche y queso de origen vegetal, como alternativa a productos de leche procedente de animales para consumo humano.

60 Se proporciona en el presente documento un método para producir un queso de leche no procedente de animales preparando una emulsión que comprende proteínas y grasas de plantas u otras fuentes no animales, induciendo que la emulsión forme un gel mediante reticulación enzimática de las proteínas o desnaturalizando las proteínas, y produciendo una imitación de queso a partir del gel. En un caso, la emulsión contiene menos del 10% de productos animales. En un caso, la emulsión contiene menos del 8%, el 7%, el 6%, el 5%, o el 3% de productos animales. En un caso, la emulsión no contiene productos animales. En un caso, la etapa de inducción de dicho método comprende añadir una enzima. En una variante de dicho método, la enzima usada es transglutaminasa. En una

variante, la enzima usada es factor XIII (factor de estabilización de fibrina). En una variante de dicho método, la enzima usada es transglutaminasa de queratinocitos (TGM1). En una variante, la enzima usada es transglutaminasa tisular (TGM2). En una variante de dicho método, la enzima usada es transglutaminasa epidérmica (TGM3). En una variante, la enzima usada es transglutaminasa de próstata (TGM4). En una variante, la enzima usada es TGM X (TGM5). En una variante de dicho método, la enzima usada es TGM Y (TGM6). En una variante de dicho método, la enzima usada es TGM Z (TGM7). En una variante, la enzima es una transglutaminasa de *Streptovorticillium mobaraense*. En una variante, la enzima es similar o idéntica a una transglutaminasa de *Streptovorticillium mobaraense*. En una variante, la enzima es una lisil oxidasa. En un caso, la emulsión es leche no procedente de animales. En un caso, al menos una de las fuentes vegetales son frutos secos. En un caso, al menos una de las fuentes vegetales son legumbres. En un caso, al menos una de las fuentes vegetales son semillas. En un caso, al menos una de las fuentes vegetales son hojas. En un caso, al menos una de las fuentes vegetales son frutos de la familia *Fabaceae*. En un caso, al menos una de las fuentes no animales es una especie de bacterias. En un caso, al menos una de las fuentes no animales es una especie de *Archaea*. En un caso, al menos una de las fuentes no animales es una especie de hongo. En un caso, al menos una de las fuentes no animales es una especie de algas. En un caso, la emulsión es una leche no procedente de animales. En un caso, los frutos secos son uno o más de los siguientes: almendras, anacardos, nueces de Brasil, castañas, cocos, avellanas, nueces de macadamia, cacahuètes, pacanas, pistachos o nueces. Una variante de dicho método tiene una etapa adicional de añadir un azúcar a la emulsión. En un caso, el azúcar añadido a la emulsión es un monosacárido. En un caso, el azúcar añadido a la emulsión es un disacárido. En un caso, dicho método tiene una etapa adicional de inocular con bacterias de ácido láctico. En el caso de inocular con bacterias de ácido láctico, la divulgación proporciona una etapa de adición de permitir el crecimiento de los cultivos bacterianos. En un caso, el método puede incluir una etapa adicional de añadir uno o más de los siguientes *Penicillium camemberti*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium nalgiovensis*, *Verticillium lecanii*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Debaryomyces hansensii*, *Rhodospiridium infirmominium*, *Candida jefer*, *Cornyobacteria*, *Micrococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Halomonas*, *Brevibacterium*, *Psychrobacter*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus* spp. o *Propionibacteria*. En un caso, el método puede incluir una etapa adicional de añadir uno o más de las siguientes bacterias halófilas o *Archaea*. En un caso, la divulgación proporciona el uso de reticulación y desnaturalización térmica. En un caso, la divulgación proporciona desnaturalización térmica usada sin la adición de cualquier enzima. Una variante de dicho método tiene una etapa adicional de cortar el gel. Una variante de dicho método tiene una etapa adicional de escurrir y conformar el gel cortado. Una variante de dicho método tiene una etapa adicional de añadir un componente aromatizante. En una variante, el componente aromatizante es una o más especies de bacterias. En una variante, el componente aromatizante son bacterias de ácido láctico. En una variante, el componente aromatizante es un moho. En una variante, el componente aromatizante es una levadura. En un caso, el método incluye proteínas concentradas antes de preparar la emulsión. En un caso, las proteínas concentradas son cada una proteínas esencialmente homogéneas. En un caso, el método incluye la etapa adicional de concentrar proteínas y grasas de una o más fuentes vegetales. En un caso, el método incluye la etapa adicional de concentrar proteínas y grasas de una o más fuentes no animales. En un caso, el método incluye la etapa adicional de aislar las proteínas y grasas de una o más fuentes vegetales. En un caso, el método incluye la etapa adicional de aislar las proteínas y grasas de una o más fuentes no animales. En un caso, el método incluye la etapa adicional de purificar las proteínas y grasas de una o más fuentes vegetales. En un caso, el método incluye la etapa adicional de purificar las proteínas y grasas de una o más fuentes no animales. En un caso, la divulgación proporciona que las proteínas concentradas procedan de la misma proteína de origen vegetal esencialmente homogénea. En un caso, la divulgación proporciona que las proteínas concentradas procedan de la misma proteína de origen no animal esencialmente homogénea. En un caso, la divulgación proporciona que las proteínas concentradas procedan de especies de plantas independientes. En un caso, la divulgación proporciona que las proteínas concentradas procedan de especies no animales independientes.

Además, se proporcionan en el presente documento etapas para preparación que emprenden métodos de producción de un queso de base no animal que incluyen (a) obtener frutos secos o semillas, y (b) esterilizar en superficie las semillas o los frutos secos. En un caso, el método usa frutos secos o semillas como las fuentes vegetales. En un caso, la etapa de esterilización en superficie es un proceso de blanqueo. En un caso, el método de preparación también puede incluir una etapa para lavar las semillas o los frutos secos. En un caso, el método de preparación también puede incluir la etapa de descomponer las semillas o los frutos secos. En un caso, la etapa de descomponer las semillas o los frutos secos es un proceso de batido. En un caso, el método de preparación también puede incluir centrifugación. En un caso, el método de preparación también puede incluir un proceso de centrifugación que da como resultado la retirada de al menos el 85% de los sólidos en suspensión. En un caso, el método de preparación también puede incluir un proceso de centrifugación que da como resultado la retirada de al menos el 75%, el 65%, el 55% o el 45% de los sólidos en suspensión.

Se proporciona en el presente documento un método que comprende descomponer frutos secos o semillas en agua, retirar al menos el 85% de los sólidos en suspensión y añadir una transglutaminasa para catalizar la formación de reticulaciones entre proteínas de las semillas o los frutos secos.

Se proporciona en el presente documento un método para elaborar una imitación de queso de leche no procedente de animales que comprende, obtener leche de fruto seco, centrifugar la leche de fruto seco para retirar la materia insoluble, y reticular proteínas dentro de la leche de fruto seco con transglutaminasa.

En un caso, se proporciona en el presente documento una composición que comprende leche no procedente de animales centrifugada en la que se ha retirado al menos el 85% de los sólidos insolubles con relación a la leche no procedente de animales antes de la centrifugación.

5 En un caso, se proporciona en el presente documento una composición que comprende una leche no procedente de animales con menos del 30% de polisacáridos. En un caso, la composición de leche no procedente de animales tiene menos del 10% de polisacáridos. En un caso, la composición de leche no procedente de animales tiene menos del 1% de polisacáridos. En un caso, la composición de leche no procedente de animales se compone en su totalidad de ingredientes derivados de fuentes no animales. En un caso, la composición de leche no procedente de animales se compone al menos del 20% de proteína aislada de una única especie de planta.

15 En un caso, se proporciona en el presente documento una composición que se compone de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación. En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, la enzima de reticulación es factor XIII (factor de estabilización de fibrina). En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, la enzima es una transglutaminasa de *Streptovorticillium mobaraense*. En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, la enzima es similar o idéntica a una transglutaminasa de *Streptovorticillium mobaraense*. En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, la enzima de reticulación es transglutaminasa de queratinocitos (TGM I). En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, la enzima de reticulación es transglutaminasa tisular (TGM2). En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, la enzima de reticulación es transglutaminasa epidérmica (TGM3). En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, la enzima de reticulación es transglutaminasa de próstata (TGM4). En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, la enzima de reticulación es TGM X (TGM5). En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, la enzima de reticulación es TGM Y (TGM6). En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, la enzima de reticulación es TGM Z (TGM7). En un caso, se proporciona en el presente documento una composición que se compone de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación. En un caso de la composición que se compone de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, la enzima de reticulación es lisil oxidasa. En un caso de la composición que comprende leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, se forman reticulaciones de proteína entre cadenas laterales de glutamina y lisina de constituyentes proteicos respectivos.

35 En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, se ha retirado al menos el 85% de los sólidos insolubles mediante centrifugación. En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, las proteínas de fuentes no animales comprenden al menos el 50% de la masa total de la composición. En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, el contenido de almidón es de menos del 1% en masa. En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, el contenido de almidón es de menos del 5% en masa. Un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación tiene menos del 1% de hidratos de carbono insolubles en masa. Un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación tiene menos del 5% de hidratos de carbono insolubles en masa. Un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación tiene menos del 5% de almidón y menos del 1% de hidratos de carbono insolubles en masa. Un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación tiene menos del 5% de almidón y menos del 5% de hidratos de carbono insolubles en masa. En un caso, la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación tiene un contenido de polisacáridos de menos del 1% en masa. En un caso, la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación tiene un contenido de polisacáridos de menos del 5% en masa. En un caso, la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación tiene un contenido de hidratos de carbono de menos del 1% en masa. En un caso, la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación tiene un contenido de hidratos de carbono de menos del 5% en masa. En un caso, la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación tiene un contenido de hidratos de carbono de menos del 10% en masa. En un caso de la composición de leche no procedente de animales y una enzima de reticulación, al menos el 80% del contenido de proteína comprende una única proteína monomérica o multimérica.

60 En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición que comprende proteínas de leche no procedente de animales reticuladas de manera covalente, una enzima de reticulación y microorganismos del queso. En un caso de la composición de proteínas de leche no procedente de animales reticuladas de manera covalente, una enzima de reticulación y microorganismos del queso, las proteínas no proceden de la soja. En un caso de la composición que comprende proteínas de leche no procedente de animales reticuladas de manera covalente, una enzima de reticulación y microorganismos del queso, menos del 5% de las proteínas proceden de la soja. En un caso, la composición comprende menos del 20% de sólidos insolubles. En un caso, la composición de proteínas de leche no procedente de animales reticuladas de manera covalente, una enzima de reticulación y microorganismos del queso también contiene aceites o grasas aislados de fuentes de leche no procedente de animales. En un caso

de la composición que comprende proteínas de leche no procedente de animales reticuladas de manera covalente, una enzima de reticulación y microorganismos del queso, la enzima de reticulación de la composición es una transglutaminasa. En un caso de la composición que comprende proteínas de leche no procedente de animales reticuladas de manera covalente, una enzima de reticulación y microorganismos del queso, la enzima de reticulación de la composición es una lisil oxidasa. En un caso de la composición que comprende proteínas de leche no procedente de animales reticuladas de manera covalente, una enzima de reticulación y microorganismos del queso, la enzima de reticulación es factor XIII (factor de estabilización de fibrina), transglutaminasa de queratinocitos (TGM I), transglutaminasa tisular (TGM2), transglutaminasa epidérmica (TGM3), transglutaminasa de próstata (TGM4), TGM X (TGM5), TGM Y (TGM6), TGM Z (TGM7). En un caso de la composición que comprende leche no procedente de animales y una enzima de reticulación y microorganismos del queso, la enzima es una transglutaminasa de *Streptovorticillium mobaraense*. En un caso de la composición que comprende leche no procedente de animales y una enzima de reticulación y microorganismos del queso, la enzima es similar o idéntica a una transglutaminasa de *Streptovorticillium mobaraense*. En un caso de la composición que comprende leche no procedente de animales y una enzima de reticulación y microorganismos del queso, se forman reticulaciones de proteína entre cadenas laterales de glutamina y lisina de constituyentes proteicos respectivos. En un caso de la composición que comprende leche no procedente de animales y una enzima de reticulación y microorganismos del queso, se forman reticulaciones de proteína entre cadenas laterales de lisina de constituyentes proteicos respectivos.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición de imitación de queso que se compone de una emulsión gelificada de proteínas y grasas de leche no procedente de animales. En un caso, la composición de imitación de queso tiene entre el 10% y el 40% de proteínas de fuentes de leche no procedente de animales y entre el 0% y el 65% de grasas de fuentes de leche no procedente de animales. En un caso, la composición de imitación de queso comprende además una enzima de reticulación seleccionada del grupo que consiste en factor XIII (factor de estabilización de fibrina), transglutaminasa de queratinocitos (TGM I), transglutaminasa tisular (TGM2), transglutaminasa epidérmica (TGM3), transglutaminasa de próstata (TGM4), TGM X (TGM5), TGM Y (TGM6) o TGM Z (TGM7). En un caso de la composición de imitación de queso, la enzima es una transglutaminasa de *Streptovorticillium mobaraense*. En un caso de la composición de imitación de queso, la enzima es similar o idéntica a una transglutaminasa de *Streptovorticillium mobaraense*. En un caso de la composición de imitación de queso, se forman reticulaciones de proteína entre cadenas laterales de glutamina y lisina de constituyentes proteicos respectivos. En un caso de la composición de imitación de queso, se forman reticulaciones de proteína entre cadenas laterales de lisina de constituyentes proteicos respectivos. En algún caso de la composición de imitación de queso, la formación de reticulaciones de proteína está catalizada por una lisil oxidasa.

En un caso, la composición de imitación de queso comprende además microorganismos de elaboración de queso. En un caso, la composición de imitación de queso tiene uno o más microorganismos de elaboración de queso del grupo que consiste en *Penicillium camemberti*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium nalgiovensis*, *Vorticillium lecanii*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Debaryomyces hansensii*, *Rhodospiridium infirmominiatum*, *Candida jefer*, *Cornybacteria*, *Micrococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Halomonas*, *Brevibacterium*, *Psychrobacter*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus* spp. o *Propionibacteria*.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición de imitación de queso, en la que la imitación de queso es un equivalente de queso según un ser humano. En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición de imitación de queso, en la que los sujetos humanos no pueden distinguir la imitación de queso de un queso de leche procedente de animales. En un caso de la imitación de queso, al menos el 20% del contenido de proteína comprende una única proteína monomérica o multimérica. En un caso, la composición de imitación de queso se elabora sin la adición de almidones o cuajo o cualquier otra proteasa extrínseca distinta de aquellas con las que contribuyen los cultivos microbianos. En un caso, la composición de imitación de queso tiene un pH de menos de 5,5 en el que se logró la acidificación solamente mediante fermentación microbiana. En un caso, la composición de imitación de queso tiene un pH de menos de 5 en el que se logró la acidificación solamente mediante fermentación microbiana. En un caso, la composición de imitación de queso tiene un pH de menos de 6 en el que se logró la acidificación solamente mediante fermentación bacteriana. En un caso, la composición de imitación de queso es tal que no contiene productos animales. En un caso, la imitación de queso tiene menos del 5% en masa de hidratos de carbono insolubles. En un caso, la composición de imitación de queso no contiene cuajo, vinagre o zumo de limón.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición de imitación de queso elaborada con la adición de cuajo o cualquier proteasa aspártica o cualquier proteasa de otro tipo (por ejemplo, serina proteasa) para afectar o potenciar el sabor y/o aroma y/o la textura de la imitación de queso.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición de imitación de queso elaborada con la adición de vinagre, zumo de limón o cualquier otro tipo de ácido para afectar a o potenciar el sabor y/o aroma y/o la textura de la imitación de queso.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición de imitación de queso fresco blando

que se compone de leche de almendra pasteurizada, leche de nuez de macadamia pasteurizada, cultivo iniciador mesófilo, transglutaminasa, agua y sal. En un caso, la composición de imitación de queso fresco blando incluye la adición de vinagre. En un caso, la composición de imitación de queso fresco blando incluye la adición de coagulante microbiano. En un caso, la composición de imitación de queso fresco blando incluye la adición de vinagre y coagulante microbiano.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición de imitación de queso con sal que se compone de leche de almendra pasteurizada, leche de nuez de macadamia pasteurizada, cultivo iniciador mesófilo, transglutaminasa y agua. En un caso, la composición de imitación de queso con sal incluye la adición de vinagre. En un caso, la composición de imitación de queso con sal incluye un coagulante microbiano. En un caso, la composición de imitación de queso con sal incluye vinagre y un coagulante microbiano.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición de imitación de queso curado blando que se compone de leche de almendra pasteurizada, leche de nuez de macadamia pasteurizada, cultivo iniciador mesófilo, flora dánica, *Geotrichum candidum*, *Penicillium candidum*, *Debaromyces hansenii*, transglutaminasa, agua y sal. En un caso, la composición de imitación de queso curado blando incluye vinagre. En un caso, la composición de imitación de queso curado blando incluye un coagulante microbiano. En un caso, la composición de imitación de queso curado blando incluye vinagre y coagulante microbiano.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición de imitación de queso de cabra que se compone de leche de almendra pasteurizada, leche de nuez de macadamia, cultivo iniciador mesófilo, transglutaminasa, agua, y sal. En un caso, la composición de imitación de queso de cabra incluye vinagre. En un caso, la composición de imitación de queso de cabra incluye un coagulante microbiano. En un caso, la composición de imitación de queso de cabra incluye vinagre y un coagulante microbiano.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento un método para elaborar una imitación de queso que comprende retirar de una leche no procedente de animales una proporción de sólidos insolubles. En algunos casos, se proporciona en el presente documento un método para elaborar una imitación de queso que comprende retirar de una leche de base vegetal una proporción de sólidos insolubles. En algunos casos, se proporciona en el presente documento un método que comprende centrifugar una leche no procedente de animales para sedimentar una proporción de sólidos insolubles. En algunos casos, se retira aproximadamente el 10%, aproximadamente el 20%, aproximadamente el 30%, aproximadamente el 40%, aproximadamente el 50%, aproximadamente el 60%, aproximadamente el 70%, aproximadamente el 80%, aproximadamente el 90%, o aproximadamente el 100% de los sólidos insolubles.

En algunos casos, las proteínas aisladas o enriquecidas de las composiciones y los métodos dados a conocer en el presente documento comprenden uno o más de: proteínas ribosómicas, actina, hexocinasa, lactato deshidrogenasa, fructosa bisfosfato aldolasa, fosfofructocinasas, triosa fosfato isomerasas, fosfoglicerato cinasas, fosfoglicerato mutasas, enolasas, piruvato cinasas, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasas, piruvato descarboxilasas, actinas, factores de elongación de la traducción, ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (rubisco), ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa activasa (rubisco activasa), albúminas, glicininas, conglucininas, globulinas, vicilinas, conalbúmina, gliadina, glutelina, gluten, glutenina, hordeína, prolamina, faseolina (proteína), proteinoplasto, secalina, extensinas, gluten de *Triticeae*, zeína, cualquier proteína de reserva de semillas, oleosinas, caloleosinas, esteroleosinas u otras proteínas de cuerpo oleoso, proteína de reserva vegetativa A, proteína de reserva vegetativa B, globulina 8S de reserva de judía mung.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición que comprende (A) proteínas reticuladas de manera covalente derivadas de plantas de un conjunto que comprende proteínas ribosómicas, actina, hexocinasa, lactato deshidrogenasa, fructosa bisfosfato aldolasa, fosfofructocinasas, triosa fosfato isomerasas, fosfoglicerato cinasas, fosfoglicerato mutasas, enolasas, piruvato cinasas, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasas, piruvato descarboxilasas, actinas, factores de elongación de la traducción, ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (rubisco), ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa activasa (rubisco activasa), albúminas, glicininas, conglucininas, globulinas, vicilinas, conalbúmina, gliadina, glutelina, gluten, glutenina, hordeína, prolamina, faseolina (proteína), proteinoplasto, secalina, extensinas, gluten de *Triticeae*, zeína, cualquier proteína de reserva de semillas, oleosinas, caloleosinas, esteroleosinas u otras proteínas de cuerpo oleoso, proteína de reserva vegetativa A, proteína de reserva vegetativa B y globulina 8S de reserva de judía mung; (B) una enzima de reticulación, y (C) microorganismos del queso.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición que comprende (A) proteínas reticuladas de manera covalente derivadas de plantas de un conjunto que comprende proteínas ribosómicas, actina, hexocinasa, lactato deshidrogenasa, fructosa bisfosfato aldolasa, fosfofructocinasas, triosa fosfato isomerasas, fosfoglicerato cinasas, fosfoglicerato mutasas, enolasas, piruvato cinasas, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasas, piruvato descarboxilasas, actinas, factores de elongación de la traducción, ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (rubisco), ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa activasa (rubisco activasa), albúminas, glicininas, conglucininas, globulinas, vicilinas, conalbúmina, gliadina, glutelina, gluten, glutenina, hordeína, prolamina, faseolina (proteína), proteinoplasto, secalina, extensinas, gluten de *Triticeae*, zeína, cualquier proteína de reserva de semillas,

oleosinas, caloleosinas, esteroleosinas u otras proteínas de cuerpo oleoso, proteína de reserva vegetativa A, proteína de reserva vegetativa B y globulina 8S de reserva de judía mung.

Breve descripción de los dibujos

5 Las características novedosas de la invención se exponen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Se obtendrá un mejor entendimiento de las características y ventajas de la presente invención con referencia a la siguiente descripción detallada que expone realizaciones ilustrativas, en la que se utilizan los principios de la invención, y los dibujos adjuntos de los cuales:

10 La figura 1 muestra cuajadas recién cortadas preparadas mediante el método usado para producir las imitaciones de queso fresco blando e imitaciones de queso con sal descritas en los ejemplos.

15 La figura 2 muestra cuajadas escurridas preparadas mediante el método usado para producir las imitaciones de queso fresco blando e imitaciones de queso con sal descritas en los ejemplos.

La figura 3 muestra imitaciones de queso fresco blando elaboradas a partir de leche no procedente de animales.

20 La figura 4 muestra imitaciones de queso coloreadas con achiote elaboradas a partir de leche no procedente de animales.

La figura 5 muestra una imitación de queso con sal elaborada a partir de leche no procedente de animales.

25 La figura 6 muestra una imitación de queso con sal con pimentón dulce y polen de hinojo elaborada a partir de leche no procedente de animales.

La figura 7 muestra una imitación de queso encerado elaborada a partir de leche no procedente de animales.

30 La figura 8 muestra una imitación de queso madurado blando elaborada a partir de leche no procedente de animales.

La figura 9 muestra imitaciones de queso de cabra elaboradas a partir de leche no procedente de animales (A) con pimienta negra (B) con cebollino.

35 La figura 10 muestra geles de imitación de queso elaborados a partir de proteínas vegetales purificadas parcialmente y aceite vegetal, cultivados con el cultivo mesófilo MAI I (Danisco): (A) representa imitaciones de queso cultivadas elaboradas a partir del 2% de fracción de albúmina de guisante, el 3% de aceite vegetal, calentado y reticulado con transglutaminasa; (B) representa imitaciones de queso cultivadas elaboradas a partir del 2% de fracción de globulina 8S de judía mung, el 3% de aceite vegetal, reticulado con transglutaminasa, sin calentamiento previo; (C) representa imitaciones de queso cultivadas elaboradas a partir del 7,5% de fracción de globulina de guisante, el 3% de aceite vegetal, calentado y reticulado con transglutaminasa; (D) representa imitaciones de queso cultivadas elaboradas a partir del 7,5% de fracción de globulina 8S de judía mung, el 3% de aceite vegetal, reticulado con transglutaminasa, sin calentamiento previo de proteínas.

45 Descripción detallada de la invención

Se dan a conocer en el presente documento composiciones y métodos basados en la realización en que transglutaminasa reticula de manera eficaz las proteínas en muchas leches no procedentes de animales para producir un gel blando, húmedo y elástico (un "cuajado" de las leches no procedentes de animales). Este proceso permite la separación de las proteínas reticuladas y grasas asociadas del "lactosuero." Las proteínas reticuladas pueden contener una emulsión de grasa, y tienen las características físicas esenciales necesarias para el prensado, cultivo y la maduración de una imitación de queso derivada de leche no procedente de animales. En diversos casos, la presente divulgación incluye imitaciones de queso que se componen principalmente, en su totalidad o parcialmente de ingredientes derivados de fuentes no animales. En casos adicionales, la presente divulgación incluye métodos para elaborar imitaciones de queso de fuentes no animales. En diversos casos, se logran estos resultados imitando el proceso de cuajado de la elaboración de queso en las leches no procedentes de animales usando enzimas.

60 El término un "sucedáneo" o una "imitación" de queso puede ser cualquier producto de leche no procedente de animales que desempeña una función de alimento o en alimentos que hacen la función habitualmente del queso tradicional de leche procedente de animales. Un "sucedáneo" o una "imitación" de queso puede ser un producto que comparte características visuales, olfativas, de textura o gusto del queso de tal manera que se induce a pensar a un observador humano normal que es queso tradicional de leche procedente de animales.

65 Una proteína purificada puede ser una preparación en la que la abundancia acumulativa en masa de componentes proteicos distintos de la proteína especificada, que puede ser una especie de proteína monomérica o multimérica, se

reduce en un factor de 3 o más o un factor de 5 o más o un factor de 10 o más con relación al material fuente a partir de que se dijo que se purificó la proteína especificada.

5 El término “homogéneo” puede significar un único componente proteico que comprende más del 90% en masa de los constituyentes proteicos totales de una preparación.

El término asemejarse puede significar una composición que tiene características similares a otra composición de manera reconocible por un observador humano normal.

10 El término “indistinguible” puede significar que un observador humano normal no podrá diferenciar dos composiciones basándose en una o más características. Es posible que dos composiciones sean indistinguibles basándose en una característica pero no basándose en otra, por ejemplo dos composiciones pueden tener un sabor indistinguible mientras que tienen colores que son diferentes. Indistinguible también puede significar que el producto proporciona una función equivalente a o realiza un papel equivalente al del producto al que sustituye.

15 I. Leches no procedentes de animales

Pueden elaborarse imitaciones de queso usando leche no procedente de animales preparada a partir de frutos secos o semillas de plantas. Por ejemplo almendras, anacardos, nueces de Brasil, castañas, cocos, avellanas, nueces de macadamia, cacahuets, pacanas, pistachos o nueces pueden proporcionar leche no procedente de animales que, en diversos casos dados a conocer en el presente documento, se usa para producir imitaciones de queso. Los frutos secos pueden incluir los denominados “verdaderos frutos secos” así como una amplia variedad de semillas secas de plantas. Cualquier grano oleoso grande que se encuentre dentro de una cáscara y usado en alimentos puede considerarse un fruto seco. Las semillas de plantas pueden incluir una amplia variedad de plantas embrionarias encerradas en un tegumento. Las semillas de plantas pueden incluir por ejemplo legumbres, cereales, y gimnospermas. Las composiciones o los productos de leche no procedente de animales incluyen composiciones o productos en los que las proteínas, grasas y/o moléculas pequeñas constituyentes pueden aislarse de o secretarse por plantas, bacterias, virus, *Archaea*, hongos, algas, o pueden elaborarse de manera sintética mediante síntesis química o *in vitro*. Los productos de leche no procedente de animales generalmente no se derivan de vacas, cabras, búfalos, ovejas, caballos, camellos u otros mamíferos. En algunos casos, los productos de leche no procedente de animales no contienen proteínas de leche procedente de animales. En algunos casos, los productos de leche no procedente de animales no contienen grasas de leche procedente de animales. En algunos casos, los productos de leche no procedente de animales no contienen enzimas derivadas de un animal.

35 Las semillas o los frutos secos de la presente divulgación pueden ser crudos. En algunos casos, las semillas o los frutos secos usados para producir leche no procedente de animales son todos crudos. Alternativamente, pueden procesarse algunos o la totalidad de las semillas o los frutos secos usados en la producción de una leche no procedente de animales. Las semillas o los frutos secos procesados pueden asarse, asarse en seco, tostarse u hornearse.

40 Leche, o leche no procedente de animales, puede significar una emulsión que comprende proteínas y grasas o una disolución o suspensión de proteínas, que comprende además a veces otros solutos que podrían incluir hidratos de carbono, sales y otras moléculas pequeñas que contribuyen al sabor, la textura, estabilidad en emulsión, solubilidad de proteínas o estabilidad en suspensión, o su capacidad para soportar el crecimiento de cultivo microbianos usados en la elaboración de imitaciones de queso, imitaciones de yogur u otras imitaciones de productos de leche procedente de animales cultivados.

50 La leche no procedente de animales puede elaborarse mediante un método que comprende preparar los frutos secos o semillas de plantas con etapas de procesamiento tales como esterilización, blanqueo, someter a choque, descomposición, centrifugación o lavado.

Las leches no procedentes de animales pueden producirse mediante descomposición de los frutos secos o las semillas de plantas, por ejemplo mediante trituración o batido o molido de los frutos secos en una disolución que comprende agua. En diversos casos, los métodos alternativos para descomponer los frutos secos o las semillas secas incluyen machacado, volteo, desmenuzamiento, atomización, rallado, pulverización, trituración, molido, erosión con agua (por ejemplo, con un chorro de agua) o picado fino de los frutos secos o las semillas de plantas. En algunos casos, la etapa de descomposición tiene lugar en una batidora. En algunos casos, la descomposición es en una picadora de flujo continuo. En algunos casos, la descomposición es en un molino de flujo continuo. La descomposición puede estar seguida por una etapa de clasificación, filtración, cribado o separación. En algunos casos, las semillas o los frutos secos descompuestos pueden almacenarse antes de la formación de una leche no procedente de animales. En algunos casos, se añade una disolución acuosa antes, durante o después de la descomposición.

65 Las semillas o los frutos secos usados en algunos casos dados a conocer en el presente documento para elaborar las leches no procedentes de animales pueden tener contaminantes en la superficie que harían que una leche no procedente de animales fuese poco segura o de sabor desagradable. Por consiguiente, las semillas o los frutos

secos pueden lavarse antes del uso. Las semillas o los frutos secos también pueden esterilizarse para retirar, reducir o destruir cualquier contaminante en la superficie de las semillas o los frutos secos. Una etapa de esterilización puede ser una etapa de irradiación, una etapa con calor (por ejemplo, esterilización con vapor de agua, tratamiento a la llama o calor seco), o una esterilización química (por ejemplo, exposición a ozono). En algunos casos, la etapa de esterilización destruye más del 95% de microorganismos en las semillas o los frutos secos. En algunos casos, la etapa de esterilización destruye más del 99% de microorganismos en las semillas o los frutos secos. El blanqueo es un procedimiento en el que el alimento se expone a agua caliente (por ejemplo, ebullición), se retira después de un breve intervalo de tiempo, y finalmente se enfría mediante exposición a agua fría (por ejemplo, agua helada o agua corriente fría). Cuando se blanquean frutos secos, tales como almendras o pistachos, la piel del fruto seco (a nivel botánico, el tegumento que rodea el embrión) se ablanda y puede retirarse fácilmente después. Por consiguiente, en algunos casos, se proporcionan en el presente documento composiciones de leche no procedente de animales con un porcentaje reducido de componentes que se encuentra en la piel de la semilla o el fruto seco. Por ejemplo, la composición puede tener el 50%, el 40%, el 30%, el 20%, el 10% o menos del 5% del tegumento que queda después del proceso de preparación. En algunos casos, se proporcionan en el presente documento métodos para elaborar una leche no procedente de animales que comprende retirar el tegumento.

En un caso, el proceso de blanqueo es tal como sigue: colocar los frutos secos en agua calentada a 212°F y blanquear durante 30 segundos. Escurrir los frutos secos. Inmediatamente introducir los frutos secos escurridos en agua fría. En algunos casos, la temperatura del agua se altera en un 5%, un 10% o un 20%. En algunos casos, la temperatura del agua fría es de aproximadamente 0°C, 5°C, 10°C o 20°C. En algunos casos, el blanqueo lleva aproximadamente 10, 20, 30, 40, 50 segundos o aproximadamente 1, 2 ó 5 minutos.

En algunos casos, las semillas o los frutos secos pueden hidratarse, por ejemplo mediante inmersión en agua durante 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 ó 24 horas. En algunos casos, la etapa de hidratación dura múltiples días. En algunos casos, el agua contiene otros componentes tales como sales o conservantes. En algunos casos, el agua se mantiene a una temperatura fría constante. En algunos casos, la etapa de hidratación puede producirse antes de la etapa de descomposición.

En algunos casos, las semillas o los frutos secos pueden secarse, por ejemplo mediante exposición a un entorno de baja humedad y/o calentado durante 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 ó 24 horas. En algunos casos, la etapa de secado dura múltiples días. La etapa de secado puede producirse antes de la etapa de descomposición o la etapa de secado puede producirse después de una etapa de descomposición.

En un caso, la etapa de descomposición es un proceso de batido tal como sigue: colocar frutos secos en una batidora limpia y desinfectada. Añadir agua dulce limpia a la batidora. Encender la batidora y aumentar gradualmente la velocidad hasta la máxima, batir durante 5 minutos. Acumular la papilla batida en un recipiente enfriado con hielo limpio y desinfectado. Comenzar inmediatamente un rápido enfriamiento de la papilla agitando la suspensión. Una vez que se ha enfriado la papilla hasta 50°F, introducir la papilla en la nevera para continuar enfriando por debajo de 41°F. Permitir que la papilla esté en reposo a 36°F durante la noche o hasta 12 horas a 36°F. En algunos casos, los tiempos y las velocidades de batido se alteran hasta en un 100%. En algunos casos, las temperaturas se alteran hasta en 20°.

Pueden estar presentes sólidos insolubles en leches preparadas mediante descomposición (por ejemplo, trituración o batido) de frutos secos o semillas. Una observación sorprendente de la presente invención es que estos materiales insolubles pueden obstaculizar la formación de cuajadas a partir de las leches no procedentes de animales. Los sólidos insolubles también pueden dar como resultado cuajadas o imitaciones de queso que tienen una textura o sensación en boca que se percibe como granulosa o pastosa en comparación con la textura más suave y más cremosa del queso de leche procedente de animales. Por consiguiente, se proporcionan en el presente documento métodos para retirar estos materiales insolubles y composiciones de las leches no procedentes de animales e imitaciones de queso con cantidades reducidas de los materiales insolubles. Las composiciones de la invención pueden tener una sensación en boca o textura indicativa de la ausencia de sólidos insolubles. Por ejemplo, una imitación de queso puede tener una sensación en boca indicativa de la ausencia de sólidos insolubles. Los materiales insolubles pueden comprender hidratos de carbono.

En algunos casos, los métodos para producir imitaciones de queso incluyen una etapa para la retirada de sólidos de leches no procedentes de animales antes del cuajado. Por ejemplo, en algunos casos, las leches no procedentes de animales se centrifugan para retirar los sólidos insolubles. En algunos casos, se proporciona en el presente documento una imitación de queso de leche no procedente de animales con menos del 1%, el 5%, el 10%, el 20%, el 30%, el 40% o el 50% de los sólidos insolubles que se encuentran en leche no procedente de animales antes de la retirada de los sólidos insolubles. En algunos casos, se proporciona en el presente documento un extracto de leche no procedente de animales con menos del 1%, el 5%, el 10%, el 20%, el 30%, el 40% o el 50% de los sólidos insolubles que se encuentran en leche no procedente de animales. En algunos casos, se proporciona en el presente documento una leche no procedente de animales con el 99%, el 95%, el 90%, el 80%, el 70%, el 60% o el 50% de los sólidos insolubles que se encuentran en leche no procedente de animales retirados.

En un caso, el proceso de centrifugación es tal como sigue: verter una papilla de semillas o frutos secos

descompuestos en el recipiente. Usar una centrífuga con el rotor JS-S.O, centrifugar a aproximadamente 5000 rpm durante 30 min. En algunos casos, la centrifugación es a aproximadamente 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500 o 10.000 rpm durante aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 ó 60 minutos. En algunos casos, la velocidad o el tiempo de centrifugación se altera, por ejemplo en un 20%.

En un caso, el proceso de centrifugación es tal como sigue: verter una papilla de semillas o frutos secos descompuestos a una velocidad de flujo de 15,1-75,7 litros por minuto (4-20 galones por minuto), por ejemplo, a una velocidad de flujo de 30,3 litros (8 galones) por minuto, en la centrífuga decantadora (tal como el aparato Flottweg S4 Sedicanter), centrifugando a una velocidad de rotor de entre 3000 y 5000 rpm. Recoger el flujo de salida de líquido para su uso adicional como leche no procedente de animales, y apartar los sólidos expulsados.

Otros métodos para la retirada de sólidos de las leches no procedentes de animales incluyen, pero no se limitan a, colado, filtración, permitir que sedimente, mediante desnatado o usando coagulantes y floculantes (incluyendo cationes, floculantes de polímero o polielectrolitos tales como pectina, carragenanos, alginatos o carboximetilcelulosa) para aglomerar partículas para la retirada.

La etapa de centrifugación puede dar como resultado una "capa de nata" y una "capa desnatada". La capa de nata es una emulsión que comprende grasas, proteínas y agua. La capa desnatada es una disolución que comprende proteínas en agua. En algunos casos, la capa de nata y la capa desnatada se separan mediante separación centrífuga. En algunos casos, la capa de nata y la capa desnatada se separan mediante separación centrífuga en un aparato Flotweg ac 1500 o GEA ME55. En algunos casos, la capa de nata y la capa desnatada se separan de manera incompleta. La capa desnatada y la capa de nata pueden separarse de los sólidos insolubles en un proceso de separación. En algunos casos, la capa desnatada y la capa de nata se guardan por separado. La leche no procedente de animales puede comprender la capa desnatada. La leche no procedente de animales puede comprender la capa de nata. Normalmente, la capa desnatada y la capa de nata se combinan para formar la leche no procedente de animales. La leche no procedente de animales puede ser hasta el 100% de la capa de nata. En algunos casos, la razón de capa de nata con respecto a capa desnatada en la leche no procedente de animales es de aproximadamente 100:1, 90: 1, 80:1, 70: 1, 60: 1,50: 1,40: 1, 30:1, 20:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, S:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50 ó 1:60. En algunos casos los métodos descritos en el presente documento comprenden medir la cantidad de capa desnatada y capa de nata que se añaden a una leche no procedente de animales.

En un caso, el proceso de separación es tal como sigue: retirar la capa de nata del cestillo centrifugado y colocar en el nuevo recipiente que está dentro de un baño de hielo. Trasladar la capa de líquido (la capa desnatada) del cestillo a un recipiente que está enfriado con hielo. Mantener en todo momento las capas de nata y desnatada enfriadas con hielo.

En otro caso, el proceso de separación es tal como sigue: hacer que fluya la leche no procedente de animales, de la que se han retirado sustancialmente los sólidos insolubles mediante su paso a través de una centrífuga decantadora a una centrífuga separadora, por ejemplo, un aparato Flotweg ac1500 o GEA ME55. En algunos casos, la capa de nata y la capa desnatada se separan mediante separación centrífuga en la centrífuga separadora. En algunos casos, las capas desnatada y de nata separadas se mantienen refrigeradas.

En algunos casos, la leche no procedente de animales se pasteuriza o esteriliza. La pasteurización puede ser un tratamiento de tipo relámpago a alta temperatura, de tiempo corto (HTST), o de vida útil prolongada (ESL, extended shelflife) o ultrapasteurización (UHT o tratado a temperatura ultra alta). En algunos casos, el proceso de pasteurización es tal como sigue: pasteurizar leche no procedente de animales batida a 73,3°C-75°C (164°F-167°F) durante 16 segundos. Usar un sistema de enfriamiento rápido controlado, reducir la temperatura de la leche no procedente de animales rápidamente y guardar en una nevera a 2,2°C (36°F).

También pueden elaborarse imitaciones de queso usando leche no procedente de animales preparada usando proteínas aisladas, enriquecidas o purificadas a partir de una fuente vegetal o microbiana o sintetizarse *in vitro*. Por ejemplo, puede aislarse ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (rubisco) de una fuente vegetal e incluirse en una leche no procedente de animales para la producción de una imitación de queso. Por ejemplo, pueden aislarse globulinas 8S de una judía mung e incluirse en una leche no procedente de animales para la producción de una imitación de queso. Por ejemplo, pueden aislarse globulinas de guisante de guisante e incluirse en una leche no procedente de animales para la producción de una imitación de queso. Pueden combinarse proteínas vegetales aisladas, enriquecidas o purificadas con uno o más aceites o grasas también aislados de fuentes vegetales, en una suspensión coloidal, disolución o emulsión para formar la leche no procedente de animales para elaborar una imitación de queso. En algunos casos, las proteínas de leche no procedente de animales aisladas se combinan con aceites o grasas de de leche no procedente de animales para formar una leche no procedente de animales. En algunos casos, se usan múltiples proteínas vegetales aisladas, enriquecidas o purificadas para elaborar una leche no procedente de animales. Sin querer limitarse por la teoría, las leches no procedentes de animales derivadas de proteínas aisladas, enriquecidas o purificadas pueden

reducir los problemas que pueden estar provocados por los sólidos insolubles obtenidos en una papilla derivada de un fruto seco o una semilla. Sin querer limitarse por la teoría, las leches no procedentes de animales derivadas de proteínas aisladas, enriquecidas o purificadas pueden reducir los problemas que pueden estar provocados por proteínas con propiedades no deseadas, tales como lipoxigenasas o proteasas. Los ejemplos no limitativos adicionales de proteínas que pueden aislarse, enriquecerse o purificarse a partir de una fuente vegetal para la producción de una leche no procedente de animales para la producción de una imitación de queso incluyen: proteínas de reserva de semillas de cualquier semilla, proteína ribosómica, actina, hexocinasa, lactato deshidrogenasa, fructosa bisfosfato aldolasa, fosfofructocinasa, triosa fosfato isomerasa, fosfoglicerato cinasa, fosfoglicerato mutasa, enolasa, piruvato cinasa, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, piruvato descarboxilasa, actina, factor de elongación de la traducción, ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (rubisco), ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa activasa (rubisco activasa), albúmina, glicinina, conglucina, globulina, vicilina, conalbúmina, gliadina, glutelina, gluten, glutenina, hordeína, prolamina, faseolina (proteína), proteinoplasto, secalina, extensina, gluten de *Triticeae*, zeína, oleosina, caloleosina, esteroleosina u otras proteínas de cuerpo oleoso, proteína de reserva vegetativa A, proteína de reserva vegetativa B, globulina 8S de reserva de judía mung. Los ejemplos no limitativos de aceites que pueden incorporarse en una leche no procedente de animales incluyen: aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de cacahuete, aceite de nuez, aceite de almendra, aceite de sésamo, aceite de semilla de algodón, aceite de colza, aceite de canola, aceite de cártamo, aceite de girasol, aceite de linaza, aceite de algas, aceite de palma, aceite de palmiste, aceite de coco, aceite de babasú, manteca de karité, manteca de mango, manteca de cacao, aceite de germen de trigo, aceite de salvado de arroz, aceites producidos por bacterias, algas, *Archaea* u hongos, o bacterias, algas, *Archaea* u hongos modificados por ingeniería genética, triglicéridos, monoglicéridos, diglicéridos, esfingósidos, glicolípidos, lecitina, lisolecitina, ácidos fosfatídicos, ácidos lisofosfatídicos, ácido oleico, ácido palmítico, ácido mirístico, ácido láurico, ácido miristoleico, ácido caproico, ácido cáprico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido undecanoico, ácido linoleico, ácido eicosanoico 20:1, ácido araquidónico, ácido eicosapentanoico, ácido docosohexanoico, ácido linoleico conjugado 18:2, ácido oleico conjugado o ésteres de: ácido oleico, ácido palmítico, ácido mirístico, ácido láurico, ácido miristoleico, ácido caproico, ácido cáprico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido undecanoico, ácido linoleico, ácido eicosanoico 20:1, ácido araquidónico, ácido eicosapentanoico, ácido docosohexanoico, ácido linoleico conjugado 18:2 o ácido oleico conjugado, o ésteres de glicerol de ácido oleico, ácido palmítico, ácido mirístico, ácido láurico, ácido miristoleico, ácido caproico, ácido cáprico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido undecanoico, ácido linoleico, ácido eicosanoico 20:1, ácido araquidónico, ácido eicosapentanoico, ácido docosohexanoico, ácido linoleico conjugado 18:2 o ácido oleico conjugado, o derivados de triglicéridos de ácido oleico, ácido palmítico, ácido mirístico, ácido láurico, ácido miristoleico, ácido caproico, ácido cáprico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido undecanoico, ácido linoleico, ácido eicosanoico 20:1, ácido araquidónico, ácido eicosapentanoico, ácido docosohexanoico, ácido linoleico conjugado 18:2 o ácido oleico conjugado.

En algunos casos, las proteínas usadas para elaborar la leche no procedente de animales pueden ser proteínas purificadas. Por consiguiente, en algunos casos, el contenido de proteína total de la imitación de queso puede, en algunos casos, consistir en más del 25%, el 50%, el 75% o el 90%, de una proteína purificada, por ejemplo cualquier proteína individual monomérica o multimérica.

Las composiciones de leche no procedente de animales también pueden contener azúcares u otra fuente de carbono fermentable y otros nutrientes. Sin querer limitarse por la teoría, estos azúcares o nutrientes pueden favorecer el crecimiento de los microorganismos de cultivo de queso o servir como sustratos para la producción de ácido láctico u otros ácidos orgánicos por los microorganismos de cultivo de queso. Por ejemplo, en algunos casos, la leche no procedente de animales comprende glucosa. En otros casos, la leche no procedente de animales comprende fructosa. En otros casos, la leche no procedente de animales comprende sacarosa. En otros casos, la leche no procedente de animales comprende jarabe de maíz de alto contenido en fructosa. En otros casos, la leche no procedente de animales comprende extracto de caña de azúcar. En otros casos, la leche no procedente de animales comprende extracto de caña de azúcar. En otros casos, la leche no procedente de animales comprende sirope de agave. En otros casos, la leche no procedente de animales comprende melaza. La melaza puede ser melaza de caña o melaza de remolacha o elaborada a partir de otras fuentes de leche no procedente de animales. En otros casos, la leche no procedente de animales puede comprender melaza comestible, miel, azúcares refinados o jarabe (por ejemplo, jarabe de maíz de alto contenido en fructosa). En algunos casos, puede incluirse combustible para la glicólisis, o un componente (o producto intermedio) de la ruta de la glicólisis, en las composiciones. Los oligosacáridos pueden formar parte de la leche no procedente de animales. Los disacáridos (por ejemplo, maltosa, sacarosa) pueden formar parte de una leche no procedente de animales. Los monosacáridos (por ejemplo fructosa, glucosa o galactosa) pueden formar parte de la leche no procedente de animales. En algunos casos, los azúcares se añaden como una etapa de adición. En algunos casos, los azúcares no se derivan del mismo organismo que las proteínas y grasas en la composición.

En algunos casos, un azúcar en la composición dada a conocer en el presente documento no es melaza comestible, miel, azúcares refinados o jarabe (por ejemplo, jarabe de maíz de alto contenido en fructosa). En algunos casos, un azúcar en la composición dada a conocer en el presente documento no es un monosacárido (por ejemplo fructosa, glucosa o galactosa). En algunos casos, un azúcar en la composición dada a conocer en el presente documento no es un disacárido. En algunos casos, un azúcar en la composición dada a conocer en el presente documento no es

un oligosacárido.

La leche no procedente de animales puede contener, en algunos casos, uno o más ácidos orgánicos, tales como ácido láctico o ácido acético, por ejemplo para ajustar el pH y/o producir el gusto amargo característico del queso. Estos ácidos orgánicos pueden usarse además de o como alternativa a los cultivos microbianos. Por consiguiente, en algunos casos, la leche no procedente de animales comprende un ácido orgánico. El ácido orgánico puede ser uno o más de: ácido láctico, ácido acético, ácido cítrico, ácido malónico, ácido málico, ácido propiónico.

En algunos casos, las composiciones dadas a conocer en el presente documento no contienen ningún producto animal. En algunos casos, las composiciones dadas a conocer en el presente documento no usan componentes que son derivados de animales. En algunos casos, las composiciones dadas a conocer en el presente documento no contienen grasas de animales. En algunos casos, las composiciones dadas a conocer en el presente documento no contienen proteínas de animales. En algunos casos, las composiciones dadas a conocer en el presente documento no contienen enzimas de animales. En algunos casos, las composiciones dadas a conocer en el presente documento no contienen productos de leche procedente de animales.

En un caso, se proporciona en el presente documento una composición libre de o sustancialmente libre de uno o más de los siguientes: productos de leche procedente de animales, productos animales, agar, carragenanos o tofu.

En algunos casos, las composiciones tienen menos del 20%, menos del 15%, menos del 10%, menos del 5%, menos del 1% o menos del 0,5% de contenido de almidón. En algunos casos se añade almidón no refinado (por ejemplo, almidón de maíz, tapioca, trigo o almidón de patata) a las composiciones dadas a conocer en el presente documento.

En algunos casos, la leche no procedente de animales no contiene aromatizante o colorante artificial.

En algunos casos, la leche no procedente de animales no contiene algunos productos animales. Por ejemplo, en algunos casos, la leche no procedente de animales comprende enzimas obtenidas de animales. En algunos casos, la leche no procedente de animales contiene productos de leche procedente de animales. En algunos casos, se incluyen grasas animales en la leche no procedente de animales. En algunos casos, la leche no procedente de animales puede comprender enzimas (por ejemplo proteasas y lipasas), y/o microorganismos (por ejemplo, bacterias lácticas, levaduras y mohos). Sin querer limitarse por la teoría, estas enzimas y/o microorganismos pueden añadirse a formulaciones de leche no procedente de animales para producir compuestos de sabor y aroma deseables.

Pueden añadirse enzimas, incluyendo proteasas y lipasas, y microorganismos, incluyendo bacterias lácticas, levaduras y mohos, a formulaciones de leche no procedente de animales para producir compuestos de sabor y aroma deseables.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento un método que comprende aislar o purificar una única proteína de leche no procedente de animales, mezclar la proteína de leche no procedente de animales aislada con una fuente de grasa de leche no procedente de animales, y añadir un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en *Penicillium camemberti*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium nalgiovensis*, *Verticillium lecanii*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Debaryomyces hansensii*, *Rhodospiridium infirmominiatum*, *Candida jefer*, *Corynebacteria*, *Micrococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Halomonas*, *Brevibacterium*, *Psychrobacter*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus* spp. o *Propionibacteria*. En algunos casos, se aísla o purifica al menos 1 kg de la proteína vegetal de una única fuente de leche no procedente de animales. En algunos casos, la grasa se aísla de otra fuente de leche no procedente de animales.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición que comprende una proteína de leche no procedente de animales aislada o purificada y un polinucleótido identificable como derivado de uno o más de *Penicillium camemberti*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium nalgiovensis*, *Verticillium lecanii*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Debaryomyces hansensii*, *Rhodospiridium infirmominiatum*, *Candida jefer*, *Corynebacteria*, *Micrococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Halomonas*, *Brevibacterium*, *Psychrobacter*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus* spp. o *Propionibacteria*. En algunos casos, las imitaciones de queso comprenden *Penicillium camemberti*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium nalgiovensis*, *Verticillium lecanii*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Debaryomyces hansensii*, *Rhodospiridium infirmominiatum*, *Candida jefer*, *Corynebacteria*, *Micrococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Halomonas*, *Brevibacterium*, *Psychrobacter*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus* spp. o *Propionibacteria*. En algunos casos las composiciones dadas a conocer en el presente documento comprenden *Penicillium*, *Geotrichum*, *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* o *Debaryomyces*.

II. "Cuajado" de leche no procedente de animales

Generalmente, se producen las imitaciones de queso provocando reticulación o desnaturalización de proteínas en

las leches no procedentes de animales. Estos procesos imitan el proceso de cuajado de la elaboración tradicional de queso de leche procedente de animales.

La reticulación se induce normalmente usando una enzima que crea reticulaciones covalentes entre cadenas de polipéptido. En algunos casos, se usan enzimas de reticulación en una etapa de reticulación para cuajar leche no procedente de animales. En diversos casos, transglutaminasa es la enzima de reticulación usada para inducir el cuajado de imitaciones de leche no procedente de animales. En algunos casos, la enzima de reticulación usada para inducir el cuajado en imitaciones de leche no procedente de animales es una lisil oxidasa. En un caso, se proporciona en el presente documento un método de inducción del cuajado de una leche no procedente de animales que comprende obtener una leche no procedente de animales y añadir una enzima de reticulación a la leche no procedente de animales. En algunos casos, la enzima de reticulación es transglutaminasa. En algunos casos, la enzima de reticulación no se deriva de una fuente animal. En algunos casos, el proceso de cuajado no usa cuajo.

En algunos casos, se añaden entre 0,1 y 20 unidades (U) de transglutaminasa por 1 ml de leche no procedente de animales. En algunos casos, se añaden aproximadamente 0,1, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 5, 7, 10, 15 ó 20 U de transglutaminasa por 1 ml de leche no procedente de animales. En algunas realizaciones, la transglutaminasa está seguida por incubación con calentamiento, por ejemplo en un baño de agua a 100°F. La incubación con calentamiento puede ser a una temperatura optimizada para la función enzimática. En algunos casos, la temperatura es de aproximadamente 18,3, 21,1, 23,9, 26,7, 29,4, 32,2, 35, 37,8, 40,6, 43,3, 46,1, 48,9 ó 51,7°C (aproximadamente 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120 ó 125°F).

Las transglutaminasas son una familia de enzimas que catalizan la formación de un enlace covalente entre una amina libre y el grupo gamma-carboxilo de glutamina, uniendo de ese modo las proteínas entre sí. Por ejemplo, las transglutaminasas catalizan la reticulación de, por ejemplo, lisina en una proteína o un péptido y el grupo gamma-carboxamida de un residuo de glutamina de una proteína o un péptido. Los enlaces covalentes formados por transglutaminasa presentan una alta resistencia a la degradación proteolítica.

Pueden usarse muchos tipos de transglutaminasa en diversos casos dados a conocer en el presente documento. Las transglutaminasas aceptables incluyen, pero no se limitan a, transglutaminasa de *Streptovorticillium mobaraense*, una enzima que es similar o idéntica a una transglutaminasa de *Streptovorticillium mobaraense*, otras transglutaminasas microbianas, transglutaminasas producidas por bacterias, hongos o algas modificados por ingeniería genética, factor XIII (factor de estabilización de fibrina), transglutaminasa de queratinocitos (TGM I), transglutaminasa tisular (TGM2), transglutaminasa epidérmica (TGM3), transglutaminasa de próstata (TGM4), TGM X (TGM5), TGM Y (TGM6), TGM Z (TGM7) o lisil oxidasa. Por consiguiente, en algunos casos, se usa una enzima seleccionada del grupo que consiste en una transglutaminasa para reticular una proteína de leche no procedente de animales. En algunos casos, la transglutaminasa es transglutaminasa de *Streptovorticillium mobaraense*, otras transglutaminasas microbianas, transglutaminasas producidas por bacterias, hongos o algas modificados por ingeniería genética, factor XIII (factor de estabilización de fibrina), transglutaminasa de queratinocitos (TGM I), transglutaminasa tisular (TGM2), transglutaminasa epidérmica (TGM3), transglutaminasa de próstata (TGM4), TGM X (TGM5), TGM Y (TGM6), TGM Z (TGM7) o lisil oxidasa. En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición que comprende una leche no procedente de animales y transglutaminasa de *Streptovorticillium mobaraense*, una enzima que es similar o idéntica a una transglutaminasa de *Streptovorticillium mobaraense*, otras transglutaminasas microbianas, transglutaminasas producidas por bacterias, hongos o algas modificados por ingeniería genética, factor XIII (factor de estabilización de fibrina), transglutaminasa de queratinocitos (TGM I), transglutaminasa tisular (TGM2), transglutaminasa epidérmica (TGM3), transglutaminasa de próstata (TGM4), TGM X (TGM5), TGM Y (TGM6) y/o TGM Z (TGM7). En algunos casos, la enzima usada para la reticulación no es factor XIII (factor de estabilización de fibrina), transglutaminasa de queratinocitos (TGM I), transglutaminasa tisular (TGM2), transglutaminasa epidérmica (TGM3), transglutaminasa de próstata (TGM4), TGM X (TGM5), TGM Y (TGM6), TGM Z (TGM7) o lisil oxidasa.

En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición que comprende una leche no procedente de animales, en la que la composición está libre de factor XIII (factor de estabilización de fibrina), transglutaminasa de queratinocitos (TGM I), transglutaminasa tisular (TGM2), transglutaminasa epidérmica (TGM3), transglutaminasa de próstata (TGM4), TGM X (TGM5), TGM Y (TGM6) y/o TGM Z (TGM7).

Las transglutaminasas puede producirse mediante fermentación por *Streptovorticillium mobaraense* en cantidades comerciales o extraerse de tejidos animales. Adicionalmente, la transglutaminasa (TGM) de la presente divulgación puede aislarse de bacterias u hongos, expresarse en bacterias u hongos de un gen sintético o clonado, factor XIII, transglutaminasa de queratinocitos, transglutaminasa tisular, transglutaminasa epidérmica, transglutaminasa de próstata, TGM X, TGM Y, TGM Z, u otro miembro de la familia de la transglutaminasa. En algunos casos particulares, se obtiene transglutaminasa de fuentes comerciales, por ejemplo en forma de Activa™ de Ajinomoto Food Ingredients LLC.

En algunos casos, las composiciones dadas a conocer en el presente documento tienen una cantidad detectable de un ácido nucleico del genoma de una célula que codificaba y produjo una enzima, por ejemplo una transglutaminasa. Por ejemplo una imitación de queso puede tener una cantidad detectable de ADN de *Streptovorticillium mobaraense*.

Esta cantidad detectable puede ser, por ejemplo, una pequeña cantidad de ADN que se ha arrastrado a la imitación de queso desde la producción de transglutaminasa por *Streptovercillium mobaraense*.

En algunos casos, la reticulación de proteínas en leche no procedente de animales se induce por transglutaminasa. En algunos casos, la reticulación de proteínas en leche no procedente de animales se induce mediante una lisil oxidasa. Diversas leches no procedentes de animales se han reticulado con transglutaminasa. En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición que comprende una leche no procedente de animales y transglutaminasa. En algunos casos, se proporciona en el presente documento una composición que comprende una leche no procedente de animales cuajada y transglutaminasa. En algunos casos, se proporciona en el presente documento una imitación de queso que contiene transglutaminasa. En algún caso, se proporciona en el presente documento una imitación de queso con una cantidad detectable de transglutaminasa degradada. En algún caso, se proporciona en el presente documento una imitación de queso con una cantidad detectable de transglutaminasa plegada de manera incorrecta. En algún caso, se proporciona en el presente documento una imitación de queso con una cantidad detectable de subproducto de transglutaminasa. En algún caso, se proporciona en el presente documento una imitación de queso con un péptido detectable que puede identificarse como parte de una transglutaminasa usada en el procedimiento de fabricación para elaborar la imitación de queso. En algún caso, se proporciona en el presente documento una imitación de queso con uno o más péptidos detectables que contienen una reticulación entre un residuo de lisina y uno de glutamina. Por ejemplo, los residuos de glutamina y lisina reticulados pueden ser detectables en espectroscopía de masas. En algún caso, se proporciona en el presente documento una imitación de queso con uno o más péptidos detectables que contienen una reticulación entre dos residuos de lisina. Por ejemplo, los residuos de lisina reticulados pueden ser detectables en espectroscopía de masas.

Puede usarse desnaturalización en lugar de, o además de, la enzima de reticulación para el cuajado de la leche no procedente de animales. Por ejemplo, la desnaturalización con calor de una leche no procedente de animales seguida por el enfriamiento de la mezcla puede dar como resultado un gel similar a una cuajada tal como se describe, por ejemplo, en el ejemplo 7. Por consiguiente, se proporcionan en el presente documento cuajadas de leche no procedente de animales que comprenden proteínas de leche no procedente de animales desnaturalizadas. Se proporcionan en el presente documento también métodos para elaborar una cuajada de leche no procedente de animales mediante calentamiento de una leche no procedente de animales hasta una temperatura de aproximadamente entre 30-35, 35-40, 40-45, 45-50, 50-55, 55-60, 60-65, 65-70, 70-75, 75-80, 80-85, 90-95, 95-100°C durante aproximadamente 10, 20, 30, 40, 50, 60 segundos o aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 minutos seguido por enfriamiento. En algunos casos, las leches no procedentes de animales se cuajan usando tanto reticulación enzimática con transglutaminasa como desnaturalización con calor.

Son posibles procesos de desnaturalización adicionales en casos adicionales, dados a conocer en el presente documento. Pueden usarse ácidos, disolventes, agentes caotrópicos o reductores de enlaces disulfuro para desnaturalizar las proteínas en la leche no procedente de animales. En un caso, se añade urea a la leche no procedente de animales para formar cuajadas.

III. Producción de una imitación de queso a partir de la leche no procedente de animales cuajada

Pueden producirse imitaciones de queso a partir de la leche no procedente de animales cuajada. Por consiguiente, se proporcionan en el presente documento métodos para producir imitaciones de queso a partir de leche no procedente de animales cuajada, así como composiciones de imitación de queso.

Para crear las imitaciones de queso podrían usarse elementos del proceso tradicional de elaboración de queso. Pueden producirse imitaciones de queso usando una o más etapas incluyendo corte, escurrido, conformación, prensado, encerado, envejecimiento, escaldado, ahumado, salado o maduración.

La cuajada y el lactosuero pueden separarse de un modo tradicional. Por ejemplo, el queso puede escaldarse para crear una imitación de queso *cheddar* tradicional u otro queso duro, o, el lactosuero y la cuajada podrían separarse a través de escurrido con estopilla.

Las imitaciones de queso pueden madurarse de modo similar al queso tradicional. Por ejemplo, puede permitirse que crezcan mohos de superficie para crear una corteza. Para crear una corteza o un color, el procedimiento puede introducir determinadas bacterias en las imitaciones de queso en el proceso de maduración. Únicamente a modo de ejemplo, puede introducirse *Brevibacterium linens* para producir un color anaranjado y aroma penetrante en la imitación de queso.

En algunos casos, la imitación de queso puede ser una imitación de queso con sal o lavada con sal. El proceso de salado puede preservar la imitación de queso y/o añadir sabor. En algunos casos, se elige la sal basándose en la ubicación geográfica de la que se obtiene originariamente la sal. En algunos casos, se añade sal a las cuajadas cortadas. En algunos casos, se pone sal en contacto con la superficie exterior de la imitación de queso, por ejemplo mediante frotado. En algunos casos, la imitación de queso se pone en contacto con o se empapa en salmuera.

En algunos casos, la imitación de queso puede ser un queso fresco blando producido mediante procedimientos ejemplificados por el ejemplo 3.

5 En algunos casos, la imitación de queso puede ser un queso con sal o lavado con sal producido mediante procedimientos ejemplificados por el ejemplo 4.

En algunos casos, la imitación de queso puede ser un queso con corteza moldeado o madurado blando producido mediante procedimientos ejemplificados por el ejemplo 5.

10 En algunos casos, la imitación de queso puede ser una imitación de queso de cabra producida mediante procedimientos ejemplificados por el ejemplo 6.

15 En algunos casos, la imitación de queso puede tener materiales comestibles añadidos (por ejemplo hierbas, pimienta, especias) en su superficie para potenciar el sabor o sumarse al atractivo visual del producto, tal como se ejemplifica por los ejemplos 4 y 6. En algunos casos, los materiales comestibles se incrustan en la imitación de queso.

20 En algún caso, la imitación de queso puede conformarse. Por ejemplo la imitación de queso puede conformarse en un cestillo o un molde. En algunos casos, la imitación de queso se prensa, por ejemplo con un peso. El prensado puede ayudar a expulsar cualquier líquido adicional de la imitación de queso.

25 En algunos casos, la producción de la imitación de queso incluye una etapa de encerado. En un caso, el proceso de encerado es tal como sigue: cortar cera de parafina de calidad alimentaria en trozos de 1,3 cm (½ pulgada). Poner al baño maría y calentar la cera hasta 98,9°C (210°F). Poner las imitaciones de queso en un congelador convencional durante quince minutos para reducir la temperatura de las imitaciones de queso hasta 0,5°C (33°F). Usando 3 gramos de la cera fundida por trozo, cepillar la cera sobre las imitaciones de queso en un lado cada vez. Poner las imitaciones de queso enceradas sobre papel encerado limpio sobre estantes de envejecimiento. Envejecer las imitaciones de queso enceradas en la sala de envejecimiento a 2,2°C (36°F) con el 75% de humedad, por ejemplo durante seis meses. En algunos casos, la sala de envejecimiento está a entre 0,5-21,2°C (33-70°F). En algunos casos, la humedad de la sala de envejecimiento se altera para ayudar en la formación de la corteza. En algunos casos, el queso encerado se almacena durante años, por ejemplo durante 2 años o más.

35 En algunos casos, la producción de la imitación de queso incluye una etapa de ahumado. En algunos casos, la imitación de queso se ahúma en frío. En algunos casos, la imitación de queso se ahúma en la fase de cuajada o antes de la fase de cuajada. En algunos casos, la imitación de queso se ahúma después de formarse la imitación de queso. En algunos casos, el proceso de ahumado es tal como sigue: empapar virutas de madera durante seis horas. Escurrir de las virutas la totalidad del agua y poner en la unidad de ahumado. Prender el ahumador y tan pronto como hayan prendido por completo las virutas, apagar las llamas para crear una unidad llena de humo. Poner las imitaciones de queso sobre estantes en el ahumador durante cinco minutos por lado. Retirar del ahumador y poner sobre estantes de enfriamiento. Poner las imitaciones de queso en la sala de enfriamiento durante 24 horas, a 2,2°C (36°F). En diversos casos, se ajustarán los tiempos de ahumado y las temperaturas y los tiempos de enfriamiento según la imitación de queso particular y el perfil de gusto deseado particular.

45 En algunos casos, la imitación de queso se expone a o se le inyectan mohos o levaduras. En algunos casos, la imitación de queso se expone a una cepa o cepas bacterianas particulares.

50 Cuando se elabora la imitación de queso sin ningún ingrediente de leche procedente de animales, el procedimiento de producción no requiere ganadería lechera. Por consiguiente, el procedimiento para elaborar una imitación de queso es adecuado para ubicaciones en las que es difícil o costoso criar animales o almacenar leche. En algunos casos, las imitaciones de queso se producen en regiones no productoras de leche no procedente de animales. Esto reducirá la necesidad de enviar los productos. Así en algunos casos, la imitación de queso es un producto que se elabora en la misma localidad que su eventual consumo. Por ejemplo, la imitación de queso se elabora dentro de un radio de 16,1, 32,2, 80,5 ó 161 km (10, 20, 50 ó 100 millas) desde su punto de venta. El procedimiento de producción de una imitación de queso también puede ser útil en zonas remotas en las que es difícil o imposible la ganadería lechera. Por ejemplo, el procedimiento de producción de una imitación de queso podría producirse en una isla, a bordo de una plataforma petrolífera o a bordo de una estación espacial.

60 Las imitaciones de queso pueden contener además microorganismos útiles para la elaboración de queso. Así en algunos casos pueden elaborarse las imitaciones de queso mediante un procedimiento que implica cultivar con cualquier microorganismo usado para la elaboración de queso. Pueden elaborarse imitaciones de queso mediante un procedimiento que implica fermentación. En cualquier procedimiento, las proteínas pueden reticularse mediante tratamiento con una enzima, que puede ser de la familia de la transglutaminasa. Las imitaciones de queso pueden crearse a partir de cuajadas formadas mediante un tratamiento de un líquido que contiene proteína con una transglutaminasa, u otras enzimas que fomenten la gelificación, o pueden prepararse mediante un procedimiento que implica desnaturalización con calor de uno o más de los componentes proteicos en la disolución, suspensión o emulsión para inducir la formación de un gel.

En algunos casos, las imitaciones de queso comprenden *Penicillium*, *Geotrichum*, *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* o *Debaryomyces*.

5 IV. Imitaciones de queso de leche no procedente de animales

Pueden elaborarse las imitaciones de queso para el consumo o bien por seres humanos o bien por otros animales o ambos. En algunos casos, las imitaciones de queso se usan para alimentar a animales domesticados. Por ejemplo, una imitación de queso de la presente divulgación puede alimentar a un perro. En un caso particular, la imitación de queso contiene una medicación veterinaria. En otro caso la imitación de queso comprende un premio para un animal doméstico. En algunos casos, el premio para un animal doméstico se conforma como una cuña de queso tradicional. En algunos casos, el premio para un animal se colorea artificialmente para que se asemeje al queso de leche procedente de animales, por ejemplo queso *cheddar*.

15 Las imitaciones de queso incluyen productos similares al queso convencional, yogur y otros productos de leche procedente de animales. La imitación de queso puede elaborarse a partir de un extracto líquido de frutos secos u otros frutos o semillas. La presente divulgación también incluye imitaciones de queso elaboradas a partir de proteínas y grasas aisladas y enriquecidas o purificadas a partir de una o más plantas. La presente divulgación también incluye imitaciones de queso elaboradas a partir de proteínas y grasas aisladas y enriquecidas o purificadas a partir de una o más fuentes de leche no procedente de animales.

En algunos casos, la imitación de queso tiene menos del 1%, el 5%, el 10%, el 20%, el 25% o el 30% de polisacáridos.

25 En algunos casos, la imitación de queso tiene menos del 1%, el 5%, el 10%, el 20%, el 25% o el 30% de polisacáridos debido a la separación centrífuga.

En algunos casos, la imitación de queso tiene menos del 1%, el 5%, el 10%, el 20%, el 25% o el 30% de polisacáridos debido al uso de proteínas purificadas.

30 Las imitaciones de queso pueden ser adecuadas para el consumo por seres humanos o animales que no pueden tomar determinados productos animales, tales como una persona que es intolerante a la lactosa o alérgica a la leche procedente de animales. Por consiguiente, en algunos casos, la imitación de queso no contiene lactosa. Las imitaciones de queso podrían contener suficiente proteína u otros nutrientes para ser nutricionalmente equivalentes a un queso tradicional u otros productos animales.

40 Las imitaciones de queso pueden contener menos grasa, menos grasa saturada o menos colesterol que un queso o productos animales tradicionales, y pueden ser adecuadas para una dieta más saludable. Así en algunos casos, se proporciona en el presente documento un método para distribuir imitaciones de queso que comprenden las etapas de informar a una persona intolerante a la lactosa de la imitación de queso, recibir un pedido de una imitación de queso, y elaborar la imitación de queso disponible para la persona intolerante a la lactosa.

45 En algunos casos, se informa a la persona intolerante a la lactosa a través de publicidad. En algunos casos, se informa a la persona intolerante a la lactosa mediante su médico particular. En algunos casos, el pedido de la imitación de queso se envía por la persona intolerante a la lactosa. En algunos casos, la persona intolerante a la lactosa recibe la imitación de queso a través de un distribuidor que solicita el pedido. En algunos casos, las etapas de información y recepción tienen lugar en una red, por ejemplo una red informática y se ejecutan con software informático especializado almacenado en un medio legible por ordenador. En algunos casos, el método comprende además producir una imitación de queso de la presente divulgación y suministrarla a la persona intolerante a la lactosa.

50 Las imitaciones de queso se diseñan, en algunos casos, para imitar la experiencia de comer queso. El aspecto, la textura y el gusto de las imitaciones de queso pueden ser tales que sean similares o indistinguibles de los del queso. Se proporcionan en el presente documento métodos para determinar si un animal o ser humano puede distinguir las imitaciones de queso del queso. En algunos casos, una propiedad de las composiciones dadas a conocer en el presente documento es que un animal, por ejemplo un ser humano, identificará la composición como queso. En algunos casos, el ser humano identifica la composición dada a conocer en el presente documento como equivalente al queso. En algunos casos, una o más propiedades del queso son equivalentes según la percepción de un ser humano normal. Tales propiedades incluyen las propiedades que pueden someterse a prueba enumeradas a continuación. En algunos casos, un ser humano normal identifica una imitación de queso de la presente divulgación como más similar al queso que los sucedáneos de queso que se encuentran en la técnica.

65 Un método para determinar si la imitación de queso es comparable al queso es a) definir las propiedades del queso y b) determinar si las imitaciones de queso tienen propiedades similares. Las propiedades del queso que pueden someterse a prueba incluyen propiedades mecánicas tales como dureza, cohesividad, fragilidad, masticabilidad, gomosidad, viscosidad, elasticidad y adhesividad. Las propiedades del queso o una imitación de queso que pueden

5 someterse a prueba también incluyen propiedades geométricas tales como forma y tamaño de partícula, y orientación y forma de partícula. Las propiedades adicionales pueden incluir contenido de humedad y contenido de grasa. Las propiedades de la imitación de queso pueden describirse usando términos tales como “blando”, “firme” o “duro” para describir la dureza; “desmenuzable”, “crujiente”, “frágil”, “masticable”, “tierno”, “correoso”, “escueto”, “harinoso”, “pastoso” o “gomoso”, para describir la cohesividad; “poco espeso” o “viscoso” o “untable” para describir la viscosidad; “plástico” o “elástico” para describir la elasticidad; “pegajoso”, “adhesivo” o “empalagoso” para describir la adhesividad; “arenoso”, “granuloso” o “grueso” o “heterogéneo” para describir la forma y el tamaño de partícula; “fibroso”, “celular” o “cristalino” para describir la orientación y forma de partícula, “seco”, “húmedo”, “mojado” o “acuoso” para describir el contenido de humedad; u “oleoso” o “graso” para describir el contenido de grasa. En un caso, puede solicitarse a un grupo de personas que califiquen un determinado queso, por ejemplo *cheddar*, según las propiedades que describen el queso. Estas calificaciones pueden usarse como indicación de las propiedades del queso. Las imitaciones de queso de la presente divulgación pueden compararse entonces con las propiedades del queso tradicional de leche procedente de animales para determinar cómo de similar es la imitación de queso al queso de leche procedente de animales. En algunos casos, las propiedades de las imitaciones de queso se alteran entonces para elaborar la imitación de queso más similar al queso. En algunos casos, la imitación de queso tiene una propiedad o propiedades que se califican como similares a las del queso según la evaluación humana. En algunos casos, la imitación de queso es indistinguible del queso real para un ser humano. En algunos casos, la imitación de queso es distinguible por algunas propiedades del queso real para un ser humano.

20 En algunos casos, la imitación de queso se compara con queso real basándose en lecturas olfatométricas. En diversos casos, puede usarse el olfatómetro para evaluar la concentración de olor y umbrales de olor, supraumbrales de olor con comparación con un gas de referencia, puntuaciones de escalas hedónicas para determinar el grado de apreciación, o intensidad relativa de olores. En algunos casos, el olfatómetro permite la formación y evaluación automática de paneles de expertos. En algunos casos, la imitación de queso es un producto que provoca lecturas olfatométricas similares a las de un queso objetivo particular. En algunos casos, la imitación de queso es un producto que provoca lecturas olfatométricas casi similares, pero ligeramente diferentes a las de un queso objetivo particular.

30 La cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG/EM) es un método que combina las características de la cromatografía gas-líquido y la espectrometría de masas para identificar diferentes sustancias dentro de una muestra de prueba. En algunos casos, la CG/EM puede usarse para evaluar las propiedades de una imitación de queso. Por ejemplo, pueden aislarse productos químicos volátiles del espacio de cabeza alrededor del queso. Estos productos químicos pueden identificarse usando CG/EM. Se crea de ese modo un perfil de los productos químicos volátiles en el espacio de cabeza alrededor del queso. En algunos casos, cada pico de CG/EM puede evaluarse adicionalmente. Por ejemplo, un ser humano podría calificar la experiencia de oler el producto químico responsable de un determinado pico. Esta información podría usarse para refinar adicionalmente el perfil. Entonces podría usarse CG/EM para evaluar las propiedades de las imitaciones de queso. Podría usarse CG/EM para refinar la imitación de queso. En algunos casos, la imitación de queso tiene un perfil de CG/EM similar al del queso. En algunos casos, la imitación de queso tiene un perfil de CG/EM idéntico al del queso.

40 Las imitaciones de queso pueden modificarse para encajar en los tipos de quesos tradicionales, incluyendo: fresco, enmohecido, semiblando, lavado, firme, duro y azul. Puede haber procedimientos adicionales para modificar las imitaciones de queso y hacer que correspondan a cualquier categoría de tipo queso. Estas categorías también incluyen diferentes presentaciones de las imitaciones de queso, por ejemplo: en lonchas, rallado, en bloque, con corteza, sin corteza, húmedo o seco. Las imitaciones de queso pueden envejecerse, o puede crearse un método para simular el gusto de queso de leche procedente de animales envejecido de manera tradicional. Las imitaciones de queso pueden clasificarse en cuanto al gusto de la misma manera que se hace para el queso tradicional. Por ejemplo, puede ser agrio, fuerte, suave, cremoso, mantecoso, esponjoso, intenso, terroso, penetrante, aromático, con aroma a huevo, afrutado, pronunciado, seco, a caramelo, granuloso, punzante o complejo, entre otras descripciones. La divulgación incluye métodos para modificar las imitaciones de queso para encajar en cualquier categoría o descripción de gusto.

55 Las imitaciones de queso pueden modificarse para tener o no tener una corteza, pueden recubrirse con cera, y pueden tener cráteres o venas típicos del queso azul. Las imitaciones de queso pueden ser untables, tales como queso crema. Las imitaciones de queso pueden contener aditivos de sabor, por ejemplo: trufa, setas, frutos secos, hierbas, cebollino, y otros sabores.

Las imitaciones de queso pueden ser fundibles, y tener otras propiedades del queso convencional.

60 Las imitaciones de queso también pueden ser de consistencia y gusto similar al queso fresco o yogur tradicional. Las imitaciones de queso podrían aromatizarse con frutas, edulcorantes y otros aditivos de sabor. Las imitaciones de queso podrían contener bacterias para ayudar en la digestión u otros aditivos saludables. Las imitaciones de queso pueden modificarse para tener una consistencia apropiada o atractiva.

65 En diversos casos, las imitaciones de queso pueden usarse en todas las cocciones y recetas como sustituto del queso tradicional. En algunos casos, las imitaciones de queso pueden usarse en cocciones y recetas como sustituto

de sabor para el queso tradicional. En algunos casos, las imitaciones de queso pueden usarse en cocciones y recetas como sustituto funcional para el queso tradicional.

Ejemplos

5
EJEMPLO 1
SE COMPARÓ LA EFECTIVIDAD DE TRANSGLUTAMINASA EN EL CUAJADO DE DIVERSAS LECHES DE FRUTOS SECOS.

10
Se usaron anacardos, almendras, nueces de macadamia, nueces de Brasil para producir una papilla, añadiendo agua dulce en una razón en peso 3:1 a los frutos secos, luego se batió en una batidora Vitamix 4500 a alta velocidad durante 2 minutos. Dado que se encontró en experimentos preliminares que los sólidos insolubles en las leches en esta fase (papilla) inhibieron la formación de cuajadas cremosas óptimas y produjeron una imitación de queso con sensación granulosa en boca, se sometió la papilla a centrifugación a 10.000 G durante 15 minutos a 4°C para retirar los sólidos insolubles. El sobrenadante líquido, consistía en dos capas, una capa más ligera cremosa y opaca, y una capa ligeramente más densa de transparente a translúcida. Se recuperaron las capas de sobrenadante líquido y se batieron conjuntamente y se desecharon los sólidos sedimentados. Los sobrenadantes batidos se denominan "leches de frutos secos" (una leche no procedente de animales). Se evaluaron cada una de las 4 leches de frutos secos resultantes y cada batido por parejas a una combinación 1:1, para determinar si hay cuajado en presencia de transglutaminasa (TG): se añadieron 30 U de TG a 15 ml de cada leche de frutos secos o batido en un vial de vidrio de 20 ml, seguido por incubación en un baño de agua a 37,8°C (100°F). Después de 5 horas, la totalidad excepto la leche de frutos secos de anacardos puros había formado cuajadas resistentes, de manera suficiente para retener su forma cuando se invirtió el vial de vidrio. La leche de anacardo y las leches de anacardo y nuez de Brasil formaron cuajadas blandas. Las leches de nuez de macadamia y almendra formaron las cuajadas más sólidas. Las muestras de control sin transglutaminasa añadida siguieron siendo líquidas en estas condiciones.

EJEMPLO 2

30 PREPARACIÓN DE LECHES DE ALMENDRA Y NUEZ DE MACADAMIA

Blanqueo (esterilización en superficie de los frutos secos):

35 Nota: se blanquearon por separado las almendras y nueces de macadamia.

Se calentó una sartén basculante de 113,6 litros (30 galones) llena hasta media capacidad con agua dulce, hasta 100°C (212°F). Se vertieron 25 libras o bien de almendras o bien de nueces de macadamia en el baño de agua hirviendo y se dejó durante 30 segundos. Se recuperaron los frutos secos mediante escurrido en un colador y luego se sumergieron inmediatamente en agua dulce helada en una segunda sartén basculante para enfriarlos rápidamente. Después de un enfriamiento rápido, se recuperaron los frutos secos mediante escurrido en un colador y se extendieron sobre una bandeja de horno para que se secasen.

40 Se hizo avanzar directamente las nueces de macadamia al proceso de batido. Se hidrataron en primer lugar las almendras tal como se describe a continuación antes del batido.

45 Hidratación de las almendras:

Se transfirieron las almendras blanqueadas a cestillos Cambro y se añadió agua dulce hasta un nivel 5,1 cm (dos pulgadas) por encima del nivel de los frutos secos. Entonces se pusieron los cestillos a 2,2°C (36°F) durante hasta 50 horas. Después de la hidratación, se recuperaron los frutos secos mediante escurrido en un colador, se enjuagaron con agua dulce, luego se hicieron avanzar a la etapa de batido.

Batido de frutos secos:

55 Nota: se blanquearon por separado las almendras y nueces de macadamia.

Se pusieron lotes de una libra de frutos secos en una batidora Vitamix (modelo Vitaprep 3), con un litro de agua dulce y se batieron durante 5 minutos, aumentando gradualmente la velocidad de la batidora hasta alta. Se recogieron las papillas batidas de cada lote en un recipiente para baño maría de acero inoxidable que se asentaba en un gran recipiente de hielo y se agitaron con un palillo de enfriamiento congelado para que se enfriasen. Una vez que se enfrió la papilla acumulada hasta 50°F, se puso el baño maría en una nevera a 2,2°C (36°F) durante hasta 12 horas.

60 Separación de capas desnatada y de nata:

65 Conjuntos de cuatro alícuotas de 1800 ml de la papilla batida a rpm / 7480 G a 4°C durante 30 minutos en una

centrífuga Avanti J-HC de Beckman-Coulter con un rotor JS-5,0, dando como resultado la separación del producto batido en 3 capas, un sedimento denso de sólidos insolubles, una capa acuosa de transparente a translúcida (que se denomina en el presente documento “capa desnatada”), y una capa más ligera, cremosa y opaca (que se denomina en el presente documento la “capa de nata”). Se recogió cuidadosamente la capa de nata de cada cestillo usando una cuchara, y se puso en una sartén que se asentaba en un recipiente de hielo. Se vertió cuidadosamente la capa acuosa viscosa (capa desnatada) de cada cestillo en un aparato 1h-Cambro que se asentaba en un recipiente de hielo. Se mantuvieron las capas de nata y desnatada acumuladas a 2,2°C (36°F) hasta la etapa de pasteurización. Los rendimientos típicos fueron de aproximadamente 0,35 kg (0,77 lbs) de capa de nata y 0,43 kg (0,95 lbs) de capa desnatada por 0,45 kg (lb) de nueces de macadamia y aproximadamente 0,13 kg (0,29 lbs) de capa de nata y 0,73 kg (1,62 lbs) de capa desnatada por 0,45 kg (lb) de almendras.

Batido

Se combinaron las capas desnatada y de nata de las almendras en una razón especificada por la receta para la imitación de queso específica que estaba produciéndose (tabla 1), y se batieron con una batidora de inmersión. Se combinaron las capas desnatada y de nata de las nueces de macadamia en una razón especificada por la receta para la imitación de queso específica que estaba produciéndose (tabla 1), y se batieron con una batidora de inmersión. Más adelante en el presente documento se hace referencia a cada mezcla batida de capas desnatada y de nata como “leche no procedente de animales”. Entonces se batieron las dos leches no procedentes de animales en una razón especificada por la receta para la imitación de queso específica que estaba produciéndose (tabla 1).

Pasteurización:

Se pasteurizó el producto batido de leche no procedente de animales a 167°F durante 16 segundos después de que se redujera rápidamente la temperatura de la leche no procedente de animales hasta 50°C en 12 segundos mediante un sistema de enfriamiento rápido controlado. Luego se redujo adicionalmente la temperatura de la leche no procedente de animales poniendo los recipientes en un baño de agua a 2,2°C (36°F). Se almacenaron las leches no procedentes de animales pasteurizadas a 2,2°C (36°F). Se desecharon las leches no procedentes de animales si el pH de la leche no procedente de animales disminuyó por debajo de pH 6,0 durante el almacenamiento, lo que indicaba que se había estropeado.

EJEMPLO 3

PRODUCCIÓN DE UNA IMITACIÓN DE QUESO FRESCO BLANDO.

Los ingredientes y las cantidades necesarias para un lote (aproximadamente una pieza y media) de imitación de queso fresco blando se enumeran en la tabla 2. Puede ampliarse o disminuirse a escala la receta de manera proporcional.

Se preparó una imitación de queso fresco blando mediante el siguiente procedimiento:

Llevar una fórmula de leche no procedente de animales pasteurizada (véase la tabla 2) a 26,7°C (80°F) en un baño de agua.

Espolvorear el cultivo iniciador mesófilo (véase la tabla 2) sobre la fórmula de leche no procedente de animales y permitir que se hidrate el cultivo durante cinco minutos sin agitación. Agitar suavemente en el cultivo iniciador con una espátula durante dos minutos. Mantener a 26,7°C (80°F) durante una hora.

Aumentar la temperatura del baño de agua para empezar a llevar la temperatura de la leche no procedente de animales a 37,8°C (100°F).

Etapa opcional: añadir “cuajo” microbiano y/o vinagre destilado (véase la tabla 2), mezclando suavemente de arriba a abajo con una espátula. Mantener durante 15 minutos.

Diluir la transglutaminasa hidratada (véase la tabla 2) con una pequeña cantidad de fórmula de leche no procedente de animales caliente y entonces añadirla a la fórmula de leche no procedente de animales, mezclando suavemente de arriba a abajo con una espátula durante dos minutos. Permitir que la fórmula alcance 37,7°C (100°F).

Retirar el recipiente de fórmula de leche no procedente de animales del baño de agua y cubrir con una envoltura de plástico y lámina de aluminio. Permitir que coagule la fórmula de leche no procedente de animales durante doce horas a temperatura ambiente.

Cortar la cuajada en trozos en dados de 1,3 cm (½ pulgada). (figura 1). Permitir que se vuelva a pasar por la estera la cuajada durante 10 minutos. Verter la fórmula coagulada (cuajada y lactosuero) en una bolsa de escurrido y medir su peso. Colgar la bolsa y permitir que gotee la cuajada durante un mínimo de 20 minutos hasta que se logre la viscosidad y densidad apropiadas de la cuajada. La cuajada escurrida debe pesar aproximadamente el 60% del

peso de la fórmula original.

Poner la cuajada en un bol de mezclado. Añadir al queso sal (véase la tabla 2). Mezclar suavemente la cuajada durante diez minutos, o batir durante cinco minutos con una mezcladora Hobart a velocidad de baja a media.

5 Poner 390 g (13,75 onzas) de cuajada (suficiente para proporcionar 227 g (ocho onzas) después de completarse el escurrido y la adición de salmuera) en un molde microperforado (figura 2). Escurrir a temperatura ambiente durante una hora con la tapa de prensado sin colocar. Entonces colocar la tapa de prensado en el molde y añadir 600 gramos de peso a la tapa de prensado. Refrigerar a 2,2°C (36°F) durante 24 horas.

10 Precalentar la salmuera saturada hasta 10°C (50°F). Sumergir totalmente la imitación de queso, todavía en su molde, en la salmuera precalentada durante ½ hora. Después de la adición de salmuera, poner el molde sobre el estante de escurrido y devolverlo a 2,2°C (36°F) durante 24 horas.

15 Retirar la imitación de queso del molde. Poner sobre la estera de escurrido y devolverla a 2,2°C (36°F) durante 24 horas.

La imitación de queso fresco blando (figura 3) está lista ahora para su envasado y envío. El proceso de envasado incluye purga con nitrógeno y termosellado estanco.

20 EJEMPLO 4

PRODUCCIÓN DE UNA IMITACIÓN DE QUESO CON SAL

25 Los ingredientes y las cantidades necesarias para un lote (aproximadamente una pieza y media) de una imitación de queso con sal se enumeran en la tabla 2. Puede ampliarse o disminuirse a escala la receta de manera proporcional.

Llevar una fórmula de leche no procedente de animales pasteurizada (véase la tabla 2) a 26,7°C (80°F) en un baño de agua.

30 Espolvorear el cultivo iniciador mesófilo (véase la tabla 2) sobre la fórmula de leche no procedente de animales y permitir que se hidrate el cultivo durante cinco minutos sin agitación. Agitar suavemente en cultivo iniciador con una espátula durante dos minutos completos. Mantener a 26,7°C (80°F) durante una hora.

35 Aumentar la temperatura del baño de agua para comenzar a llevar la temperatura de la leche no procedente de animales a 37,7°C (100°F).

Opcional: Añadir “cuajo” microbiano y/o vinagre destilado (véase la tabla 2), mezclando suavemente de arriba a abajo con una espátula. Mantener durante 15 minutos.

40 Diluir la transglutaminasa hidratada (véase la tabla 2) con una pequeña cantidad de fórmula de leche no procedente de animales caliente y entonces añadirla a la fórmula de leche no procedente de animales, mezclando suavemente de arriba a abajo con una espátula durante dos minutos. Permitir que la fórmula alcance 37,7°C (100°F).

45 Retirar el recipiente de fórmula de leche no procedente de animales del baño de agua y cubrir. Permitir que coagule la fórmula de leche no procedente de animales durante doce horas a temperatura ambiente.

Cortar la cuajada en trozos en dados de 1,3 cm (½ pulgada). Permitir que se vuelva a pasar por la estera la cuajada durante 10 minutos. Verter la fórmula coagulada (cuajada y lactosuero) en una bolsa de escurrido y medir su peso. Colgar la bolsa y permitir que gotee la cuajada durante un mínimo de 20 minutos hasta que se logre la viscosidad y densidad apropiadas de la cuajada. La cuajada escurrida debe pesar aproximadamente el 60% del peso de la fórmula original.

55 Poner cuajada en un bol de mezclado. Opcional: Para la presentación clásica de una imitación de queso *cheddar* (figura 3), se añade colorante vegetal natural de achiote para crear el color amarillo del *cheddar*. El porcentaje de achiote distribuido uniformemente por la totalidad de la cuajada es del 0,08%. Mezclar suavemente la cuajada durante diez minutos, o batir durante cinco minutos con una mezcladora Hobart a velocidad de baja a media.

60 Poner 462 g (16,3 onzas) de cuajada (suficiente para proporcionar 227 g (ocho onzas) después de completarse el escurrido y la adición de salmuera) en un molde microperforado (véase la figura 1). Escurrir a temperatura ambiente durante una hora con la tapa de prensado sin colocar. Entonces colocar la tapa de prensado en el molde y añadir 600 gramos de peso a la tapa de prensado. Refrigerar a 2,2°C (36°F) durante 24 horas.

65 Precalentar la salmuera saturada hasta 10°C (50°F). Sumergir totalmente la imitación de queso, todavía en su molde, en la salmuera precalentada durante ½ hora. Después de la adición de salmuera, poner el molde sobre el estante de escurrido y devolverlo a 2,2°C (36°F) durante 24 horas.

ES 2 696 576 T3

Retirar la imitación de queso del molde. Poner la imitación de queso sobre una estera de escurrido y devolverla a 2,2°C (36°F) durante 24 horas.

- 5 Trasladar la imitación de queso a una sala de secado durante siete días a 12,8°C (55°F), con una humedad del 55% y mínimo flujo de aire. Girar la imitación de queso y poner sobre una nueva estera de escurrido diariamente.

Después del periodo de secado de siete días, retirar las esteras de escurrido y poner la imitación de queso con sal (figuras 4 y 5) directamente sobre un estante de envejecimiento.

- 10 Si la imitación de queso va a encerarse o ahumarse, devolver la imitación de queso a la sala de secado durante dos semanas adicionales a 12,8°C (55°F), con una humedad del 55% y mínimo flujo de aire. Entonces seguir el proceso para encerado o ahumado.

- 15 Si la imitación de queso va a hacerse rodar por una mezcla de pimentón dulce y polen de hinojo, seguir las etapas para el proceso con pimentón dulce y polen de hinojo.

Proceso con pimentón dulce y polen de hinojo:

- 20 Cepillar la imitación de queso con sal con agua fría usando un cepillo de pastelería. Hacer rodar la imitación de queso en 1,5 gramos de una mezcla de 10 partes de pimentón dulce de cultivo ecológico y 1 parte de polen de hinojo. Poner la imitación de queso recubierta sobre un estante de envejecimiento y devolverla a la sala de secado durante dos semanas a 12,8°C (55°F), con una humedad del 55% y mínimo flujo de aire, girándola diariamente.

- 25 Tras el periodo de secado, pasar la imitación de queso a 2,2°C (36°F) durante 24 horas. La imitación de queso con pimentón dulce-polen de hinojo (figura 6) está lista ahora para su envasado y envío.

Proceso de encerado:

- 30 Cortar cera de parafina de calidad alimentaria en trozos de 1,3 cm (½ pulgada) y calentar hasta 98,9°C (210°F) al baño maría.

Poner la imitación de queso en un congelador para reducir su temperatura hasta 0,6°C (33°F). Usando tres gramos de la cera fundida por pieza de imitación de queso, cepillar la cera sobre la imitación de queso por un lado cada vez.

- 35 Poner el lado encerado hacia abajo sobre papel encerado y entonces continuar cepillando el resto de la imitación de queso incluyendo los laterales y la parte superior. Poner la imitación de queso encerado (figura 7) sobre papel encerado limpio sobre un estante de envejecimiento.

- 40 Envejecer la imitación de queso encerado en la sala de envejecimiento a 2,2°C (36°F) con una humedad del 75% durante hasta seis meses. La imitación de queso encerado está lista ahora para su envasado y envío.

Proceso de ahumado:

- 45 Empapar partes iguales de virutas de madera de cerezo y manzano durante seis horas. Escurrir de las virutas la totalidad del agua y poner en una unidad de ahumado. Prender el ahumador y tan pronto como hayan prendido por completo las virutas, apagar las llamas para crear una unidad llena de humo. Poner el queso con sal sobre un estante en el ahumador durante cinco minutos por lado. Retirar el queso del ahumador y poner sobre un estante de enfriamiento.

- 50 Poner el queso a 2,2°C (36°F) durante 24 horas. El queso ahumado está listo ahora para envejecimiento a vacío o su envasado y envío.

EJEMPLO 5

- 55 PRODUCCIÓN DE UNA IMITACIÓN DE QUESO MADURADO BLANDO.

Los ingredientes y las cantidades necesarias para un lote (aproximadamente una pieza y media) de una imitación de queso madurado blando se enumeran en la tabla 2. Puede ampliarse o disminuirse a escala la receta de manera proporcional.

- 60 Llevar una fórmula de leche no procedente de animales pasteurizada (véase la tabla 2) a 32,2°C (90°F) en un baño de agua.

- 65 Espolvorear preparaciones sin lactosa de flora dánica, cultivo iniciador mesófilo, *Geotrichum candidum*, *Penicillium candidum* y *Debaromyces hansenii* (véase la tabla 2) sobre la fórmula de leche. Opcional: Añadir "cuajo" microbiano. (véase la tabla 2). Dejar que se asiente la leche durante 5 minutos. Mezclar suavemente de arriba a abajo y agitar en

ES 2 696 576 T3

la parte superior con una espátula durante dos minutos. Mantener a 32,2°C (90°F) durante 90 minutos.

Aumentar la temperatura del baño de agua para empezar a llevar la temperatura de la leche no procedente de animales hasta 37,8°C (100°F).

5 Opcional: Añadir vinagre destilado (véase la tabla 2), mezclando suavemente de arriba a abajo con la espátula. Mantener 15 minutos.

10 Diluir la transglutaminasa hidratada (véase la tabla 2) con una pequeña cantidad de fórmula de leche no procedente de animales caliente y entonces añadirla a la fórmula de leche no procedente de animales, mezclando suavemente de arriba a abajo con una espátula durante dos minutos. Permitir que la fórmula alcance 37,8°C (100°F).

15 Retirar el recipiente de fórmula de leche no procedente de animales del baño de agua y cubrir con una envoltura de plástico y lámina de aluminio. Permitir que coagule la fórmula de leche no procedente de animales durante doce horas a temperatura ambiente.

20 Cortar la cuajada en trozos en dados de 1,3 cm (½ pulgada). Permitir que se vuelva a pasar por la estera la cuajada durante 10 minutos. Verter la fórmula coagulada (cuajada y lactosuero) en una bolsa de escurrido y medir su peso. Colgar la bolsa y permitir que gotee la cuajada durante un mínimo de 20 minutos hasta que se logre la viscosidad y densidad apropiadas de la cuajada. La cuajada escurrida debe pesar aproximadamente el 60% del peso de la fórmula original.

25 Poner cuajada en un bol de mezclado. Añadir al queso sal. Mezclar suavemente la cuajada durante diez minutos, o batir durante cinco minutos con una mezcladora Hobart a velocidad de baja a media.

30 Poner 17,64 onzas (500 gramos) de cuajada (suficiente para proporcionar 227 g (ocho onzas) después de completarse el escurrido y la adición de salmuera) en un molde microperforado (figura 8) sobre una estera de escurrido. Escurrir a temperatura ambiente durante una hora con la tapa de prensado sin colocar. Entonces colocar la tapa de prensado en el molde solo tocando la imitación de queso. No añadir ningún peso adicional a la tapa de prensado. Refrigerar a 2,2°C (36°F) durante 24 horas.

35 Precalentar la salmuera saturada hasta 10°C (50°F). Sumergir totalmente la imitación de queso, todavía en su molde, en la salmuera precalentada durante ½ hora. Después de la adición de salmuera, poner el molde sobre el estante de escurrido y devolverlo a 2,2°C (36°F) durante 24 horas.

Retirar la imitación de queso del molde. Poner sobre la estera de escurrido y devolverla a 2,2°C (36°F) durante 24 horas.

40 Transferir el queso desde 2,2°C (36°F) a la sala de tratamiento con levadura seca durante tres días a 15,6°C (60°F), con una humedad del 75%.

45 Después de tres días, transferir el queso desde una estera de escurrido a una estera de envejecimiento. Poner la estera sobre un estante de envejecimiento, y trasladar a la sala de maduración a 10°C (50°F), con una humedad del 90% y flujo de aire continuo. Girar la imitación de queso y reponer la estera diariamente.

Después de siete días, transferir la imitación de queso directamente sobre un estante de envejecimiento, permitiendo una máxima aireación durante siete días más, o hasta que se complete la cobertura del molde.

50 Después de haberse moldeado meticulosamente la imitación de queso (figura 8), pasarla a 2,2°C (36°F) durante dieciséis horas. Envolver el queso en papel perforado y poner en una caja de madera para su envío.

EJEMPLO 6

PRODUCCIÓN DE UNA IMITACIÓN DE QUESO DE CABRA.

55 Los ingredientes y las cantidades necesarias para un lote (aproximadamente una pieza y media) de imitación de queso de cabra se enumeran en la tabla 2. Puede ampliarse o disminuirse a escala la receta de manera proporcional.

60 Llevar la fórmula de leche pasteurizada (véase la tabla 2) a 26,7°C (80°F) en un baño de agua.

65 Espolvorear el cultivo iniciador mesófilo (véase la tabla 2) sobre la fórmula de leche no procedente de animales y permitir que se hidrate el cultivo durante cinco minutos sin agitación. Agitar suavemente en cultivo iniciador con una espátula durante dos minutos completos. Mantener a 26,7°C (80°F) durante una hora.

Aumentar la temperatura del baño de agua para comenzar a llevar la temperatura de la leche no procedente de

ES 2 696 576 T3

animales a 37,8°C (100°F).

Opcional: Añadir "cuajo" microbiano y/o vinagre destilado (véase la tabla 2), mezclando suavemente de arriba a abajo con una espátula. Mantener durante 15 minutos.

5 Diluir la transglutaminasa hidratada (véase la tabla 2) con una pequeña cantidad de fórmula de leche no procedente de animales caliente y entonces añadirla a la fórmula de leche no procedente de animales, mezclando suavemente de arriba a abajo con una espátula durante dos minutos. Permitir que la fórmula alcance 37,8°C (100°F).

10 Retirar el recipiente de fórmula de leche no procedente de animales del baño de agua y cubrir con una envoltura de plástico y lámina de aluminio. Permitir que coagule la fórmula de leche no procedente de animales durante doce horas a temperatura ambiente.

15 Cortar la cuajada en trozos en dados de 1,3 cm (½ pulgada). Permitir que se vuelva a pasar por la estera la cuajada durante 10 minutos. Verter la fórmula coagulada (cuajada y lactosuero) en una bolsa de escurrido y medir su peso. Colgar la bolsa y permitir que gotee la cuajada durante un máximo de 24 horas hasta que se logre la viscosidad y densidad apropiadas de la cuajada. La cuajada escurrida debe pesar aproximadamente el 50% del peso de la fórmula original.

20 Poner cuajada en un bol de mezclado. Añadir al queso sal (véase la tabla 2). Usando una mezcladora Hobart a alta velocidad, mezclar y airear por completo.

25 Poner 454 g (dieciséis onzas) de cuajada (suficiente para proporcionar 227 g (ocho onzas) después de completarse el escurrido y la adición de salmuera) en un molde cilíndrico para queso de cabra (figura 9) y poner el molde en posición vertical sobre una estera de escurrido. Refrigerar a 2,2°C (36°F) durante 24 horas permitiendo que escurra la imitación de queso.

30 Precalentar la salmuera saturada hasta 10°C (50°F). Sumergir totalmente la imitación de queso, todavía en su molde, horizontalmente en la salmuera precalentada durante ½ hora.

Después de la adición de salmuera, poner el molde sobre la estera de escurrido puesto a 2,2°C (36°F) durante 24 horas. Girar el molde y cambiar la estera cada doce horas durante dos días.

35 Deslizar la imitación de queso de cabra conformada fuera del molde directamente sobre un lecho de tres gramos de pimienta molida gruesa. Hacer rodar suavemente la imitación de queso por la pimienta, cubrir de manera uniforme y por completo. Poner la imitación de queso sobre papel encerado y devolverla a 2,2°C (36°F) durante 48 horas.

La imitación de queso de cabra (figura 10) está lista ahora para su envasado y envío. El envasado incluye un proceso de sellado Cryovac.

40 EJEMPLO 7

45 GELES CULTIVADOS ELABORADOS CON EMULSIONES DE PROTEÍNAS Y GRASAS VEGETALES PURIFICADAS.

Procedimiento

50 Se montaron mezclas de proteína purificada o parcialmente purificada + glucosa + aceite y se mezclaron con una mezcladora de vórtex para crear una emulsión. Las emulsiones o bien se trataron con transglutaminasa (Ajinomoto Activa TI a una concentración final del 2% o el 4%, tal como se indique) o bien se calentaron en primer lugar hasta 85°C, se enfriaron rápidamente en hielo y entonces se trataron con transglutaminasa. Se añadió cultivo iniciador mesófilo (Danisco Choozit MA11) a una concentración del 0,01% (p/v) de manera concomitante con transglutaminasa para permitir que los cultivos fermentasen, se acidificasen y confirieran sabores y aroma a los geles. Se incubaron las reacciones durante la noche a 30°C antes de evaluar para determinar la formación y el aroma del gel.

Métodos de purificación de proteínas:

60 Se llevaron a cabo todas las etapas a 4°C siempre que fue posible. Las etapas de centrifugación fueron a 8000 g durante 20 min, 4°C. Una vez que se fraccionaron, se almacenaron las fracciones de precipitado de sulfato de amonio de interés a -20°C hasta su uso posterior. Antes de su uso en experimentos, se resuspendieron los precipitados en tampón fosfato de K 50 mM, pH 7,4 + NaCl 0,5 M y se dializaron durante la noche frente al mismo tampón para retirar el sulfato de amonio. Entonces se centrifugó la disolución dializada, a 12000 g durante 20 min para retirar el precipitado y luego se usó en experimentos. Se monitorizó la composición de proteína en etapas de fraccionamiento individuales mediante SDS-PAGE y se midieron las concentraciones de proteína mediante métodos de UV-Vis convencionales.

5 (i) Albúminas de guisante: se usó harina seca de guisantes verdes como fuente de albúminas de guisante. Se resuspendió la harina en 10 volúmenes de tampón acetato de sodio 50 mM, pH 5 y se agitó durante 1 h. Se centrifugó la papilla a 8000 g durante 20 minutos y se recogió el sobrenadante. A este extracto de proteína en bruto, se le añadió sulfato de amonio sólido hasta el 50% de saturación. Se agitó la disolución durante 1 hora y entonces se centrifugó. Al sobrenadante de esta etapa, se le añadió sulfato de amonio para llevarla al 90% de saturación. Después de agitación durante 1 hora, se agitó la disolución y entonces se centrifugó para recoger las proteínas de albúmina de guisante en el sedimento. Se almacenó el sedimento a -20°C hasta su uso adicional.

10 (ii) Globulinas de guisante: se usó harina seca de guisantes verdes para extraer proteínas globulinas de guisante. Se resuspendió la harina en 10 volúmenes de tampón fosfato de K 50 mM, pH 8 + NaCl 0,4 M y se agitó durante 1 h. Después de la centrifugación, se sometió el sobrenadante a fraccionamiento con sulfato de amonio en dos etapas al 50% y al 80% de saturación. El sedimento al 80% que contenía globulinas de interés se almacenó a -20°C hasta su uso adicional.

15 (iii) Globulinas 8S de judía mung: se usó harina de judía mung para extraer globulinas 8S resuspendiendo en primer lugar la harina en 4 volúmenes de tampón fosfato de K 50 mM, pH 7 (+NaCl 0,5 M para las purificaciones a escala de laboratorio). Después de la centrifugación, se fraccionaron las proteínas en el sobrenadante mediante adición de sulfato de amonio en 2 etapas al 50% y al 90% de saturación respectivamente. El precipitado de la fracción al 90% contenía las globulinas 8S y se guardó a -20°C hasta su uso adicional.

Se sometió a prueba la formación de gel con las siguientes fracciones de proteína:

25 (i) Albúminas de guisante (fracción al 90% de sulfato de amonio de harina de semillas secas de guisante verde)

(ii) Globulinas de guisante (fracción al 80% de sulfato de amonio de harina de semillas secas de guisante verde)

(iii) Globulina 8S de judía mung (fracción al 90% de sulfato de amonio de harina de judía mung)

30 Se dializaron las disoluciones de proteína en tampón fosfato de K 50 mM, pH 7-7,4 + NaCl 0,5 M y se usaron a concentraciones de entre 8 mg/ml y 75 mg/ml (al 0,8-7,5%) tal como se describe a continuación.

35 Se usó aceite de canola para producir emulsiones. Se prepararon disoluciones madre de transglutaminasa (Ajinomoto) al 40% en fosfato de K 50 mM, pH 7. Se usó el cultivo iniciador mesófilo (MAO I 1 de Danisco) como el cultivo bacteriano para el queso; se resuspendió el cultivo secado por congelación al 10% en tampón fosfato de K 50 mM, y se usó inmediatamente en los experimentos. Se usó glucosa (al 1%) como fuente de azúcar para el crecimiento de cultivos mesófilos; se preparó una disolución madre al 40% en agua.

Se usaron dos condiciones para formar geles:

40 (i) "Conjunto 1": el 2% de proteína + el 3% de aceite + el 4% de transglutaminasa; el resto agua. Emulsionar mediante mezclado en vórtex.

45 "Conjunto 2": el 7,5% de proteína + el 3% de aceite + el 2% de transglutaminasa; el resto agua. Emulsionar mediante mezclado por agitación en vórtex.

50 Se sometieron a prueba ambas composiciones de gel enumeradas anteriormente para determinar la formación de gel catalizada por transglutaminasa, con y sin desnaturalización con calor del componente proteico. En primer lugar se montaron todas las reacciones (volumen total de cada una, 1 ml) en tubos de microcentrífuga de 1,5 ml con los componentes de proteína + aceite + azúcar. Se produjeron emulsiones mediante agitación en vórtex de las muestras durante 30 s. Se pusieron las muestras que iban a desnaturalizarse con calor inmediatamente en un baño de agua y se calentaron a 85°C durante 30 minutos. Posteriormente se enfriaron rápidamente estas muestras en hielo durante 20 minutos. Se añadieron transglutaminasa y cultivo iniciador a todas las muestras y se mezclaron. Se agitaron en vórtex las muestras que formaron geles tras la etapa de calentamiento/enfriamiento para mezclar la enzima y los cultivos. Se retiraron todas las muestras de los tubos de reacción y se evaluaron para determinar la consistencia y el aroma del gel después de incubación durante la noche a 30°C.

Evaluación de aroma:

60 Se sometieron a prueba los siguientes geles para determinar el aroma (olor por 4 individuos):

Conjunto 1: albúmina de guisante (calentamiento/enfriamiento), judía mung (calentamiento/enfriamiento), judía mung (sin calentamiento/enfriamiento),

65 Conjunto 2: globulina de guisante (calentamiento/enfriamiento), judía mung (sin calentamiento/enfriamiento)

5 Los cuatro individuos notificaron un aroma similar al yogur/fermentado/agrio en los geles de judía mung (conjunto 1, sin calentamiento/enfriamiento). Notificaron olores similares pero en menor grado en las muestras de gel de judía mung (conjunto 2, sin calentamiento/enfriamiento) y globulina de guisante (conjunto 2, calentado). Para albúminas de guisante (conjunto 1, calentado) y judía mung (conjunto 1, calentado), se notificó un aroma muy débil o la ausencia de aroma. Uno de los cuatro degustadores notificó que el aroma de la judía mung (conjunto 2, sin calentamiento/enfriamiento) era desagradable.

Evaluación de firmeza del gel: (figura 10)

10 “Conjunto 1”: todas las muestras formaron geles. En general, estos geles eran débiles y se disgregaban fácilmente. Las albúminas de guisante (calentamiento/enfriadas) eran ligeramente más firmes a este respecto.

15 “Conjunto 2”: todas las muestras con excepción de las globulinas de guisante (sin calentamiento/enfriamiento) formaron geles. Los geles eran más resistentes en comparación con el conjunto 1 y mantuvieron su forma incluso después de la retirada de los tubos. Se formaron geles sin calentamiento/enfriamiento.

Tabla 1: FÓRMULAS DE LECHE PARA IMITACIONES DE QUESO FRESCO BLANDO, CON SAL, MADURADO BLANDO Y DE CABRA

Tipo de imitación de queso	componente de leche	Cantidad (gramos)
Fresco blando, con sal o de cabra	<i>Leche de almendra (por lote de 800 ml).</i>	
	Capa desnatada de almendras	725,0
	Grasa de almendras	75,0
Madurado blando	<i>Leche de nuez de macadamia (por lote de 660 ml)</i>	
	Capa desnatada de nuez de macadamia	328,5
	Grasa de nuez de macadamia	337,5
Madurado blando	<i>Leche de almendra (por lote de 800 ml).</i>	
	Capa desnatada de almendras	725,0
	Grasa de almendras	75,0
Madurado blando	<i>Leche de nuez de macadamia (por lote de 660 ml)</i>	
	Capa desnatada de nuez de macadamia	291,0
	Grasa de nuez de macadamia	375,0

20

Tabla 2: INGREDIENTES PARA UN LOTE DE IMITACIÓN DE QUESO

Ingredientes	Cantidad (gramos)
<i>Imitación de queso fresco blando:</i>	
Leche de almendra pasteurizada	800,0
Leche de nuez de macadamia pasteurizada	666,0
Cultivo iniciador mesófilo (conjunto directo de MA011)	0,5
Transglutaminasa (900 unidades en 15 ml de agua)	15,0
Sal para queso (interna)	2,5
<i>Imitación de queso con sal</i>	
Leche de almendra pasteurizada	800,0
Leche de nuez de macadamia pasteurizada	666,0
Cultivo iniciador mesófilo (conjunto directo de MA011)	0,5
Transglutaminasa (900 unidades en 15 ml de agua)	15,0
<i>Imitación de queso madurado blando</i>	
Leche de almendra pasteurizada	800,0
Leche de nuez de macadamia pasteurizada	666,0
Cultivo iniciador mesófilo (conjunto directo de MA011)	0,3
Flora dánica	0,2
<i>Geotrichum candidum</i>	0,1
<i>Penicillium candidum</i>	0,1
<i>Debaromyces hansenii</i>	0,1
Transglutaminasa (733 unidades en 15 ml de agua)	15,0
Sal para queso (interna)	4,2

ES 2 696 576 T3

Imitación de queso de cabra

Leche de almendra pasteurizada	800,0
Leche de nuez de macadamia pasteurizada	666,0
Cultivo iniciador mesófilo (conjunto directo de MA011)	0,5
Transglutaminasa (900 unidades en 15 ml de agua)	15,0
Sal para queso (interna)	2,5

Ingredientes opcionales

Vinagre blanco destilado	5,3
“Cuajo” microbiano:	0,2

Notas:

“Transglutaminasa” se refiere en este caso a Activa TI, 100 U/g, de Ajinomoto

“Cultivo iniciador mesófilo” se refiere en este caso a MA 11 liofilizado Choozit de Danisco

5 “*Geotrichum candidum*” se refiere en este caso a Choozit GEO 17 LYO 1OD de Danisco

“*Debaromyces hansenii*” se refiere en este caso a *Debaryomyces hansenii* LAF3 de Chr. Hansen

“Flora Danica” se refiere en este caso a “cultivo láctico secado por congelación de flora dánica para conjunto de vat. directo” de Chr. Hansen

“*Penicillium candidum*” se refiere en este caso a “*Penicillium candidum* FD PC AI” de Chr. Hansen

10 “Cuajo” microbiano se refiere en este caso a FROMASE 50, proteasa de *Rhizomicrobium mucor*

REIVINDICACIONES

- 5 1. Imitación de queso que comprende una emulsión gelificada de una o más proteínas derivadas de plantas, reticuladas, una o más grasas y una enzima de reticulación, en la que la emulsión comprende una leche no procedente de animales a la que se ha retirado al menos el 85% de sus sólidos insolubles, y en la que dichas proteínas derivadas de plantas no proceden de la soja.
- 10 2. Imitación de queso según la reivindicación 1, en la que se han retirado los sólidos insolubles mediante centrifugación, colado, filtración, permitiendo que sedimente, mediante desnatado o usando coagulantes y floculantes.
- 15 3. Imitación de queso según la reivindicación 1, en la que se han retirado los sólidos insolubles mediante centrifugación.
- 20 4. Imitación de queso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende entre el 10% y el 40% de proteínas de fuentes vegetales y entre el 0% y el 65% de grasas de fuentes vegetales.
- 25 5. Imitación de queso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la imitación de queso tiene un contenido de hidratos de carbono insolubles de menos del 5% en masa.
- 30 6. Imitación de queso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además:
 - (a) microorganismos de elaboración de queso; y/o
 - (b) un azúcar u otra fuente de carbono fermentable.
- 35 7. Imitación de queso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la enzima de reticulación es una transglutaminasa o lisil oxidasa.
- 40 8. Imitación de queso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que las proteínas derivadas de plantas y las grasas proceden de frutos secos, legumbres o semillas, opcionalmente en la que los frutos secos comprenden uno o más de almendras, anacardos, nueces de Brasil, cocos, castañas, avellanas, nueces de macadamia, cacahuètes, pacanas, pistachos o nueces.
- 45 9. Imitación de queso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que las proteínas derivadas de plantas comprenden una o más proteínas seleccionadas del grupo que consiste en una proteína ribosómica, actina, hexocinasa, lactato deshidrogenasa, fructosa bisfosfato aldolasa, fosfofructocinasas, una triosa fosfato isomerasa, una fosfoglicerato cinasa, una fosfoglicerato mutasa, una enolasa, una piruvato cinasa, una gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, una piruvato descarboxilasa, una actina, un factor de elongación de la traducción, ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (rubisco), ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa, una oxigenasa activasa (rubisco activasa), una albúmina, una glicinina, una conglucina, una globulina, una vicilina, una conalbúmina, una gliadina, una glutelina, un gluten, una glutenina, una hordeína, una prolamina, una faseolina (proteína), un proteinoplasto, una secalina, una extensina, una zeína, una proteína de reserva de semillas, una oleosina, caloleosina, una esteroleosina, proteína de reserva vegetativa A, proteína de reserva vegetativa B y globulina SS de reserva de semillas de judía mung.
- 50 10. Imitación de queso según la reivindicación 6, en la que los microorganismos de elaboración de queso se seleccionan de uno o más de los siguientes: *Penicillium camemberti*, *Penicillium candidum*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium nalgiovensis*, *Verticillium lecanii*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Debaryomyces hansenii*, *Rhodospiridium infirmominiatum*, *Candida jefer*, *Corynebacteria*, *Micrococcus* sps., *Lactobacillus* sps., *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Halomonas*, *Brevibacterium*, *Psychrobacter*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus* sps. o *Propionibacteria*.

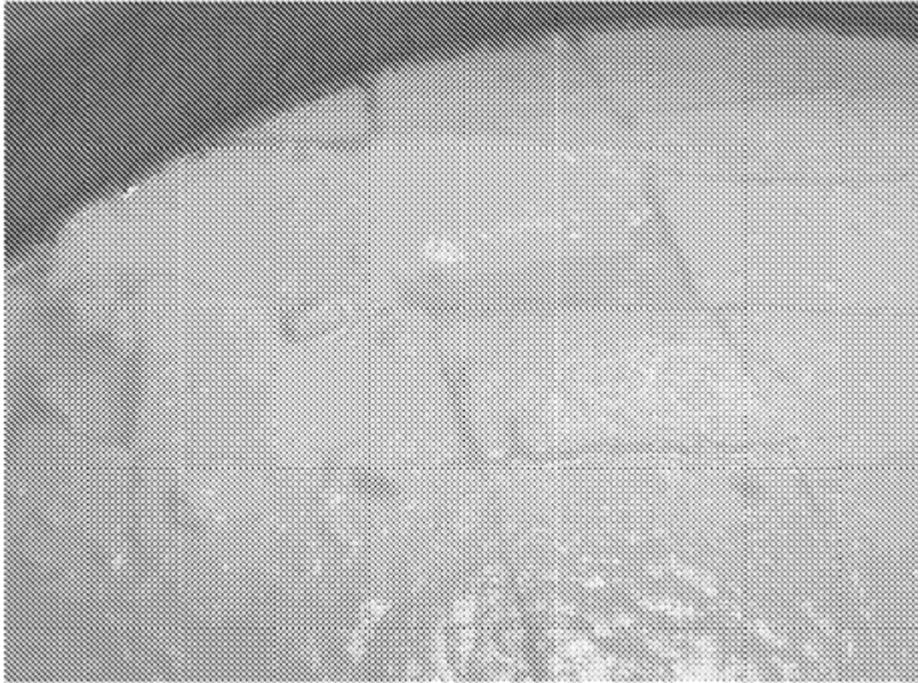


Figura 1.

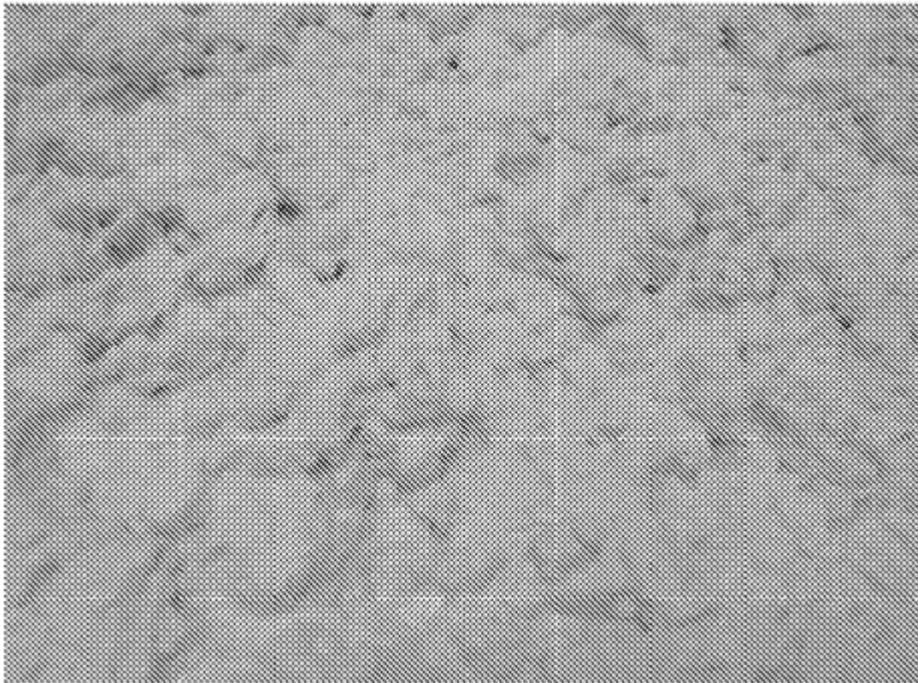


Figura 2.

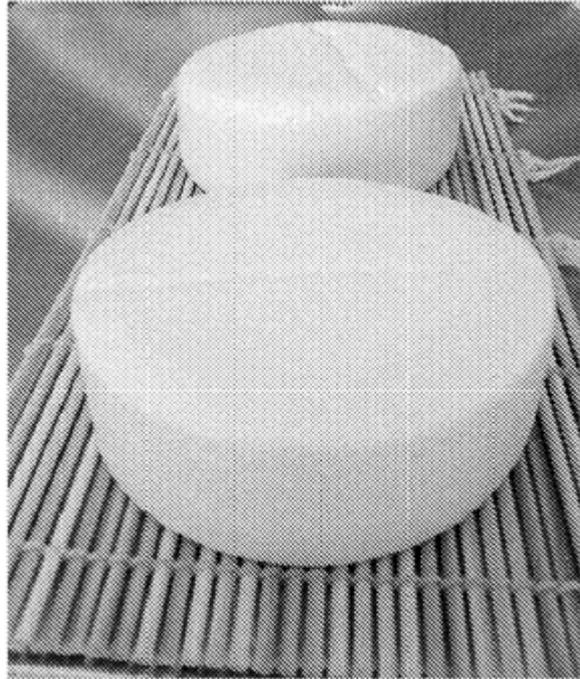


Figura 3.



Figura 4.



Figura 5.

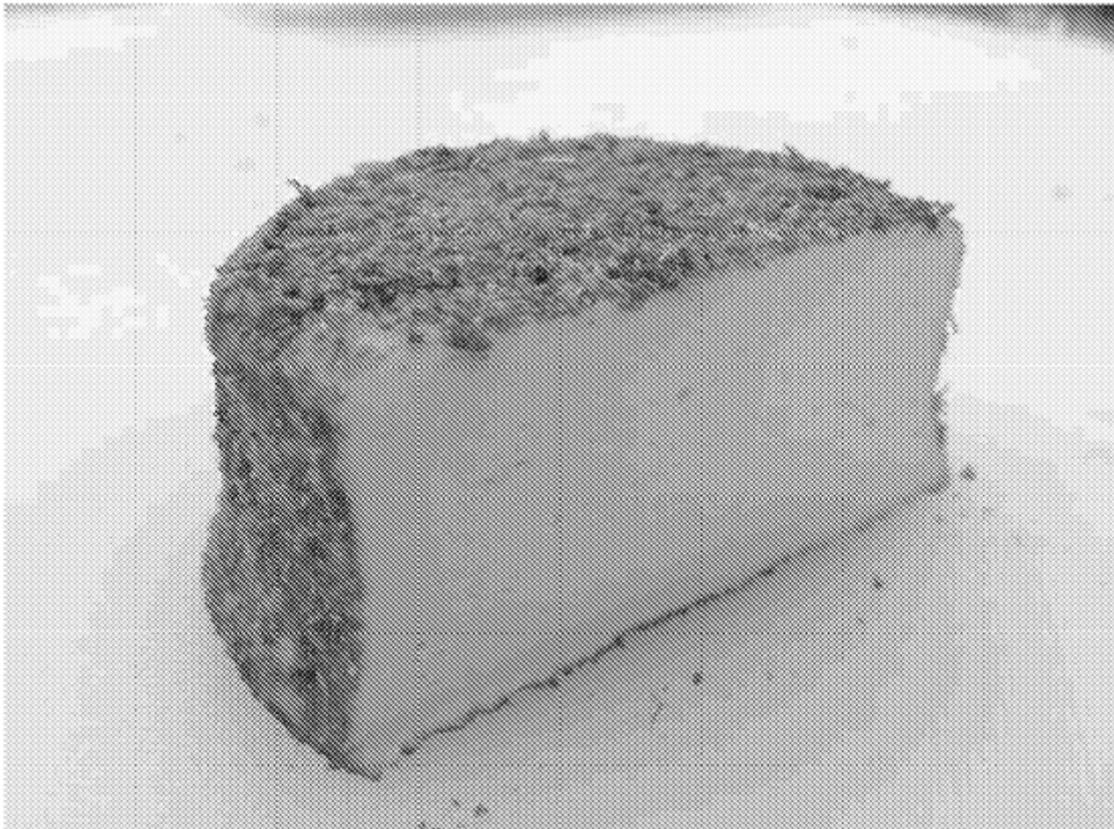


Figura 6.

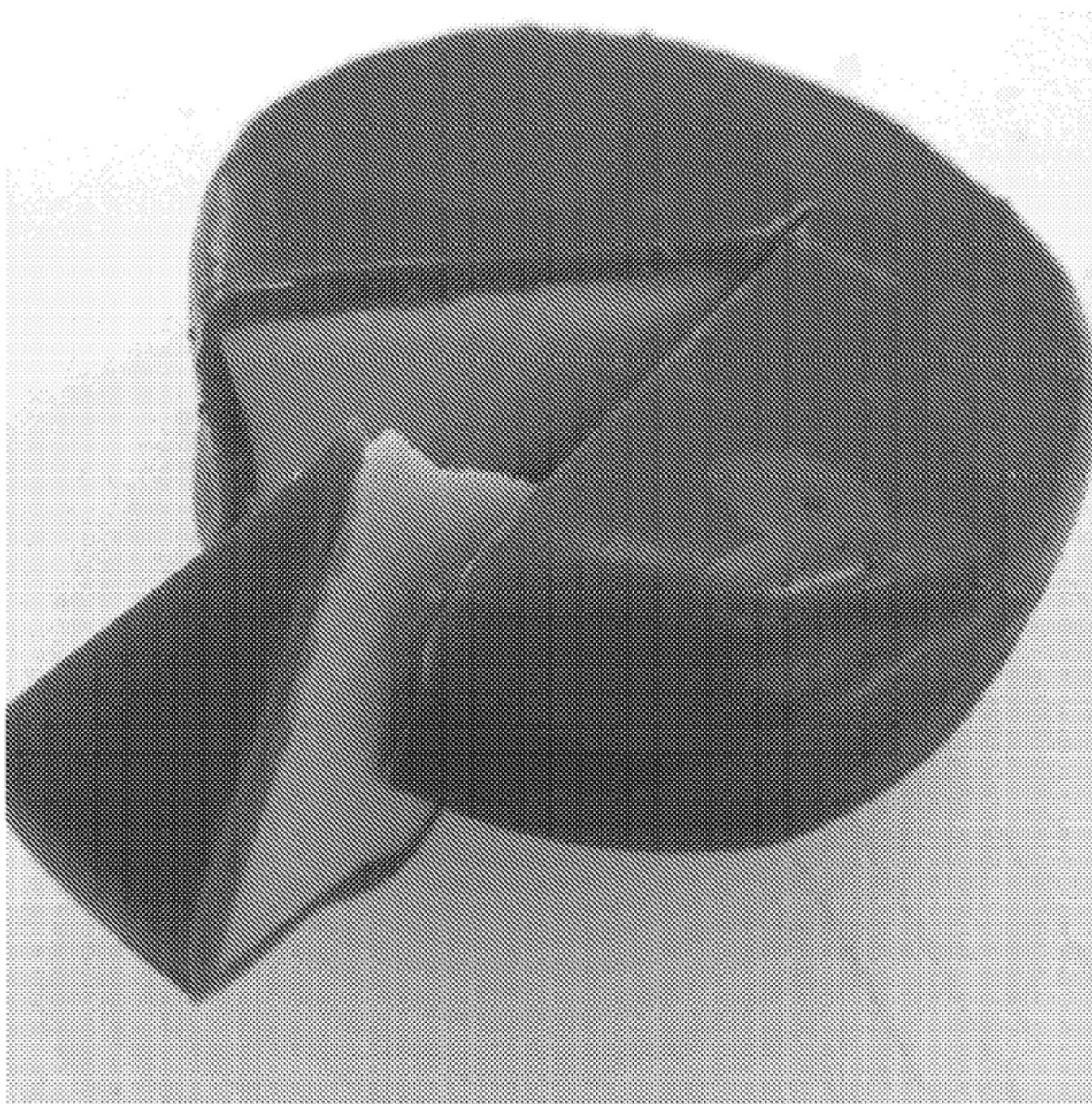


Figura 7.

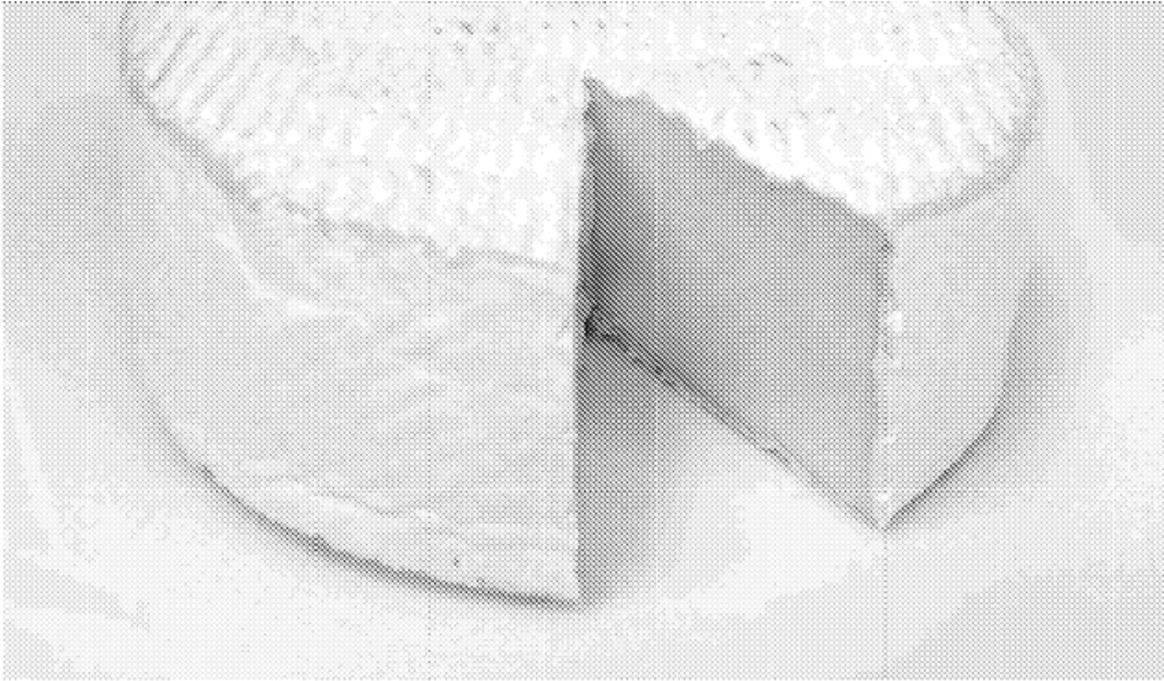


Figura 8.

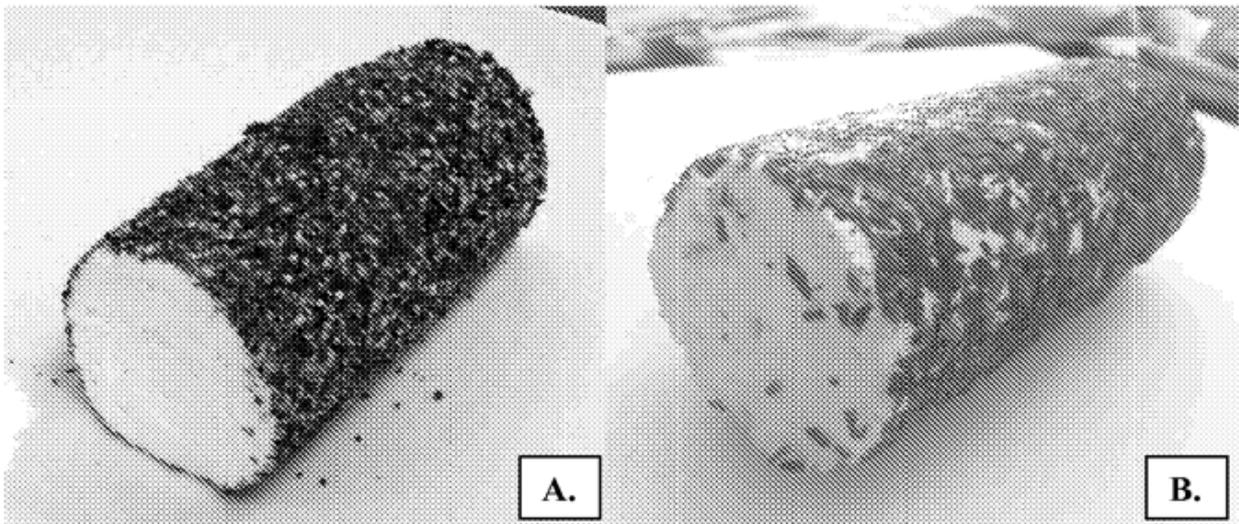


Figura 9.

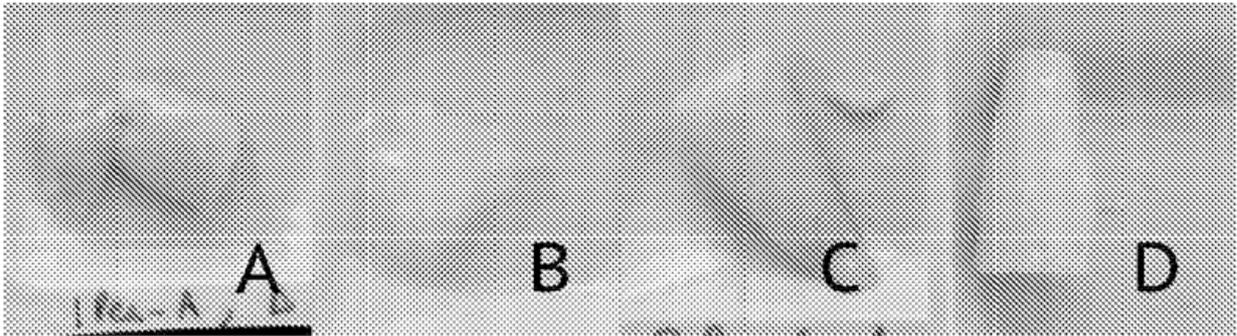


Figura 10.