

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 772938 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 772938

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
A23J

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 05.10.1977

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 05.10.1977

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 14.04.1978

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 12.06.2019

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

13.10.1976 US 732018

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Pfizer Inc., 235 East 42nd Street, New York, NY 10017, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Jolly, Ramesh Chander, Canada, KANADA, (CA)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Toiminnallisen proteiinin valmistusmenetelmä

Förfarande för framställning av ett funktionellt protein

Pfizer Inc., 235 East 42nd Street, New York, N.Y., Yhdysvallat.

Toiminnallisen proteiinin valmistusmenetelmä - Förfarande för framställning av ett funktionellt protein

Tämä keksintö käsittelee proteiineja. Tarkemmin se käsittelee luonnollisten proteiinien mukailemista niiden toiminnallisuuden parantamiseksi ja täten niiden hyödyllisyyden lisäämiseksi ruokaseoksissa.

Ravintoarvo on pääasia maailman uusien proteiininlähteiden etsinnässä, mutta huomiota on myös annettava proteiinin toiminnallisille ja makuominaisuuksille. Sillä vaikka ravinnollisesti tasapainoisia ruokia voidaan valmistaa laajasta joukosta lähteitä, sellaisten ruokien hyväksyttävyyttä riippuu niiden aistittavista ominaisuuksista, kuten mausta ja rakenteesta. Proteiinin, jolla korvataan perinteelliset proteiinit, tulisi sen vuoksi säilyttää tai parantaa niiden ruokatuotteiden laatua ja hyväksyttävyyttä, joihin sitä käytetään. Tämä edellyttää, että uusi proteiini ei vain ole ravinto-ominaisuuksiltaan tyydyttävä, vaan myös aromiltaan, väriltään ja muilta toiminnallisilta ominaisuuksiltaan, kuten liukoisuudelta, lämpökestävyydeltä, emulgoitumiselta, vaahtoamiselta ja rakeneominaisuuksiltaan.

Samanaikaisesti ruokateollisuus etsii halvempia proteiineja käytettäväksi nykyaikaisten elintasoruokien valmistuksessa. Tällaisessa käytössä proteiinilla täytyy usein olla erikoisia toiminnallisia ominaisuuksia. Esimerkiksi proteiinin kahvin rasvasekoitteessa ei pitäisi saostua kahviin lisättäessä ja hiilihappoisissa virvoitusjuomissa käytettävän proteiinin pitää olla happoliukoinen.

Sen vuoksi esillä olevan keksinnön ensisijainen kohde on antaa käytettäväksi yksinkertainen ja halpa menetelmä toiminnallisen proteiinin valmistamiseksi käytettäväksi suuressa joukossa erilaisia ruokaseoksia.

Aikaisempiin yrityksiin tällaisen kohteen saavuttamiseksi kuuluvat:

1. Luonnollisten proteiinien suora entsymaattinen proteolyysi, jollainen opetetaan U.S. patenteissa 2,489,208 ja 3,889,001. Tässä lähestymistavassa käytetään tavallisesti alhaisia entsyymitasoja pidennettyinä reaktioaikoina. Liukoisen toiminnallisen proteiinin saanto tällaisista menetelmistä on yleensä pieni ja tuotteen aromi tavallisesti kehno.

2. Entsymaattinen käsittely luonnolliselle proteiinille, johon aluksi on kohdistettu suuri leikkausvoima proteiinin rakenteen mukailemiseksi. Kuten esimerkein on osoitettu U.S. patentissa 3,694,221, esikäsitellyn proteiinin proteolyysi saadaan aikaan korkeilla entsyymitasoilla lyhyinä reaktioaikoina ja sen mukaisesti antaa helposti kostutettavan ja dispergoituvan tuotteen, joka on hyvä maistuvuudeltaan.

3. Lämpökäsitellyn proteiinin entsymaattinen käsittely, kuten U.S. patenteissa 3,957,966 ja 3,876,806. U.S. patentissa 3,857,966 lämpösaostettuun ja erotettuun proteiiniin kohdistetaan ensin emäksinen hydrolyysi korotetussa lämpötilassa ja sitten jaksottainen proteolyyttinen hydrolyysi, joka käyttää sekä mikrobista emäksistä että neutraalia proteaasia ja kasviproteaasia noin kahden tunnin pituisena ajanjaksona. U.S. patenttiin 3,876,806 kuuluu menetelmä, jossa rasvattoman kasvinsiemenproteiinin vesilietettä aluksi lämpökäsitellään kasvusolujen hävittämiseksi ja sitten suoritetaan sille entsymaattinen proteolyysi liukenevan proteiinin tuottamiseksi. Veteen liukenemattoman aineen erottaminen tehdään proteolyysin jälkeen mieluummin kuin ennen sitä, ja tuote sisältää sen vuoksi ei ainoastaan liukoista proteiinia vaan myös vesiliu-

koiset epäpuhtaudet, jotka olivat alkuperäisessä proteiiniaineessa.

Nyt on keksitty, että entsymaattista proteolyysiä voidaan käyttää yksinkertaisella tavalla liukenemattoman lämpödenaturoidun proteiinin muuttamiseksi erittäin toiminnalliseksi ja miellyttäväksi tuotteeksi edellyttäen, että käytetty entsyymitaso on riittävä kehittämään halutun toiminnallisuuden noin 30 minuutissa tai vähemmässä. Vastaavasti esillä oleva keksintö antaa käytettäväksi menetelmän toiminnallisen proteiinin valmistamiseksi, johon kuuluu:

(a) epäpuhtaan luonnollisen proteiinin, joka on valittu joukosta, jonka muodostavat hera, mikrobinen proteiini ja kasviproteiini, saattaminen lämpötilaan noin välille 40° - 150° vesiliuoksessa, kunnes tapahtuu oleellinen proteiinin saostuminen;

(b) mainitun saostuneen proteiinin erottaminen mainitusta väliaineesta;

(c) mainitun erotetun proteiinin käsitleminen vesiliuoksessa proteolyyttisellä entsyymillä lämpötilassa noin alueella $20-65^{\circ}\text{C}$ korkeintaan 30 minuutin ajan kunnes liukeneminen tapahtuu; ja

(d) mainitun entsyymin deaktivointi, mainittua entsyymiä käytettäessä tasolla, grammaa kohti mainittua erotettua proteiinia kuiva-ainepohjalla, vähintään noin

240 hemoglobiiniyksikköä tyrosiinipohjalla (HUT), jossa mainittu entsyymi on mikrobinen hapan proteaasi,

300 bakteerista proteaasiyksikköä (PC), jossa mainittu entsyymi on mikrobinen neutraali proteaasi;

2300 Delf'in yksikköä, jossa mainittu entsyymi on mikrobinen emäksinen proteaasi,

130,000 N.F. papaiiniyksikköä (N.F. PU), jossa mainittu entsyymi on kasviproteaasi, ja

150 pepsiiniyksikköä, jossa mainittu entsyymi on eläinproteaasi.

Keksinnön edullisissa sovellutuksissa toiminnallisen proteiini on johdettu herasta tai hiivasta, joka on valittu joukosta, jonka muodostavat *S. cerevisiae*, *S. fragilis* ja *C. utilis*, ja proteolyttinen entsyymi on johdettu *B. subtilis*:sta tai *B. licheniformis*:sta.

Tämän keksinnön mukaisella toiminnallisella proteiinilla on käyttöä laajalti ruokaseoksissa, koska se voi joko täydentää seosta tai tehokkaasti korvata oleellisen osan seoksen tavallisesta proteiinisäällöstä, erikoisesti rasvattoman kuivamaidon, natriumkaseinaatin, gelatiinin ja munanvalkuaisen.

Oheinen keksintö antaa käytettäväksi yksinkertaisen ja halvan tavan monesta luonnollisesta proteiinilähteestä peräisin olevan proteiinin erottamiseksi vesiliukoisista aineosista ja vuorostaan erotetun proteiinin muuttamiseksi vesiliukoiseen muotoon, joka toiminnallisuudeltaan on korkeaa luokkaa. Hankalat ja kalliit eristys- ja puhdistusmenetelmät, joita aikaisemmin käytettiin liukoisen proteiinisäällön uuttamiseksi näistä lähteistä, vältetään täten, ja saadaan suuremmalla saannolla, kuin niillä menetelmillä proteiini, jolla on parempi happoliukoisuus ja lämpökestävyys.

Ruokaan käytettäväksi aiotun annetun proteiinin toiminnallisuuden määrittämiseksi on käytettävissä joukko menetelmiä. Niihin kuuluu liukoisuuteen, emulgoitumiseen, vaahtoamiseen, viskositeettiin ja geelilytymisominaisuuksiin perustuvia menetelmiä. Oheisen keksinnön mukaista proteiinia arvioidaan sen kahvin rasvasekoite reseptikäyttöön soveltuvuuden perusteella. Tällainen käyttö ei ainoastaan anna viitettä proteiinin lämpökestävyydestä ankarissa olosuhteissa, vaan myös heijastaa sen liukoisuutta, happokestävyyttä, viskositeettia ja emulgoitumisominaisuuksia. Termin "toiminnallinen proteiini" tässä käytettynä on tarkoitus sisältää sellaiset proteiinit, jotka käytettyinä jäljessä kuvatun esimerkin 16 koereseptissä, ulottavat kahvin rasvasekoitteen, jossa ei esiinny raidoitumista (proteiinin saostumista tai koaguloitumista) ja jonka rasvan erottuminen ei ole suurempi kuin vertailureseptin lisättynä kuumaan kahviin, kuten esimerkissä on kuvattu. Lisäksi toiminnallisella proteiinilla on miellyttävä maku ilman epämiellyttävää kitkeryyttä tai suolaisuutta.

Toiminnallisen proteiinin lähteisiin kuuluvat hera, mikrobiininen proteiini ja kasviproteiini. "Heralla" tarkoitetaan juustoheraa, maidon vetistä osaa, joka erotetaan juoksutetusta maidosta juuston valmistusprosessissa. Hera voi olla joko makeaa heraa tai hapanta heraa ja tuoreen heran, kondensoidun heran tai herakuiva-aineen muodossa. Vaikka esillä oleva keksintö on erikoisesti sovel-

lettavissa näille epäpuhtaille heraproteiininimuodoille, voidaan myös käyttää osittain puhdistettua heraa, kuten väkevöitteitä ultrasuodauksesta (UF), käänteisosmoosista, elektrodialyysistä tai geelisuodauksesta.

Mikrobisen proteiinin lähde voi olla hiiva, bakteerit tai sienet. Edullisia hiivoja ovat sukuihin *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula* ja *Pichia* kuuluvat, erikoisesti lajien *S. cerevisiae*, *S. fragilis* ja *C. utilis* hiivat. Edullisia bakterisukuja ovat *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Hydrogemonas* ja *Aerobacter*, erikoisesti lajien *P. methylophila*, *L. Bulagricus* ja *S. lactis* bakteerit. Edullisia sieniä ovat sukujen *Trichoderma*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Neurospora* ja *Endomycopsis* sienet, erikoisesti lajien *T. viride*, *F. solani* ja *A. oryzae*. Mikrobisolut rikotaan aluksi ja solun proteiinisäältä erotetaan solukuonasta tavallisilla menetelmillä ennen prosessia.

Sopiviin kasviproteiinilähteisiin kuuluvat esimerkiksi soijapavut, vehnän gluteeni, pellavansiemenet, okra, maissigluteeni, maaphäkinät, perunat, sinimailanen, kaurat, riisi, rapsin siemenet, seesamin siemenet ja auringonkukan siemenet. Edullisia lähteitä ovat soijapavut, vehnägluteeni, ja pellavansiemenet. Erikoisen edullisia ovat soijapavut sellaisina muotoina kuin karkeana soijajauhona, liuottimella uutettuina soijapapuhiutaleina, soijajauhoina, alkoholilla käsiteltyinä soijahiutaleina, soijaväkevöitteinä ja soijaherana. Proteiinilähde yleensä lietetään veteen, kaikki liukenematon aine erotetaan ja nestefaasi käytetään prosessiin. Kasviproteiinihera, kuten juustohera, voidaan käyttää sellaisenaan.

Vesipitoisen epäpuhtaan proteiinin sisääntulovirta on tavallisesti liuos, mutta se voi myös olla suspensio edellyttäen, että seuraava jäljessä kuvattu proteolyyttinen hydrolyysi tuottaa samean tai kirkkaan liuoksen. Tämä virta säädetään haluttuun pH:hon, lämmitetään lämpötilaan välille noin 40-150°C ja pidetään tässä lämpötilassa, kunnes tapahtuu oleellinen denaturoidun proteiinin saostuminen. "Oleellisella" tarkoitetaan vähintään 50 % käytetyssä lämpötilassa ja pH:ssa mahdollisesti proteiinin lopullisesta saostumisesta. Raan proteiinin proteiinisäältä on tavallisesti noin 1 - 60 paino-% kuiva-aineesta, kun taas raakaproteiinin taso

sisääntulovirrassa on mukavasti välillä noin 1 - 25 paino-%. Vaikka pH täällä askeleella ei ole kriittinen, suoritetaan saostaminen tavallisesti pH:ssa välillä noin 0,5 - 9. Kovin paljon pH 9 yläpuolella tai pH 0,5 alapuolella voi tapahtua ylimääräistä proteiinin hajoamista. Saostaminen suoritetaan edullisesti suunnilleen proteiinin isoelektrisessä pH:ssa saannon maksimoimiseksi. Tämä pH vaihtelee proteiinilähteen mukaan ja on tavallisesti välillä noin 4-7. Annetussa lämpötilassa oleellinen saostuminen yleensä tapahtuu yhden sekunnin ja 60 minuutin välisenä aikana. Lämpötiloissa paljon alapuolella 40°C on saostumisnopeus liian hidas ol- lakseen käytännöllinen. Lämpötiloissa paljon yläpuolella 150°C proteiini voi muodostaa aromivirheitä. Edullisesti lämpötila on välillä 70-95°C, jossa oleellinen saostuminen tapahtuu noin kahden sekunnin ja 10 minuutin välisenä aikana.

Saostunut lämpödenaturoitu proteiini erotetaan vesiliuoksesta millä tahansa sopivalla menetelmällä, kuten suodattamalla tai sentrifugoimalla, jälkimmäisen ollessa edullinen. Erotettu sakka pestään edullisesti vedellä vesiliukoisten epäpuhtauksien minimoimiseksi sakassa. Näihin epäpuhtauksiin kuuluvat esimerkiksi laktoosi ja suola heraproteiinin tapauksessa ja ribonukleiinihappo mikrobiproteiinin tapauksessa. Erotettu sakka voidaan myös pestä vesiliukoisella ravintolaatuisella alkoholilla, kuten etanolilla, ennen vesipesua, mikäli halutaan. Märkä lämpödenaturoitu proteiini-kuiva-aine voidaan kuivata tavallisilla tavoilla haluttaessa, tai se voidaan käyttää suoraan seuraavalla prosessiaskeleella.

Lämpödenaturoitu proteiini lietetään veteen ja muutetaan toiminnalliseksi proteiiniksi proteolyyttisen entsyymin avulla. Mikä tahansa mikrobista, kasvi- tai eläinalkuperää oleva hapan, neutraali tai emäksinen proteaasi on sopiva. Edullisia ovat bakterialkuperää olevat mikrobiset proteaasit, kuten lajeista *B. Subtilis* ja *B. licheniformis* johdetut ja sienialkuperäiset, kuten lajeista *A. oryzae*, *A. flavus*, *A. niger* ja *S. griseus* johdetut; kasviproteaasit, kuten papaiini, fysiini ja bromelaiini; ja eläinproteaasit kuten pepsini, trypsiini, kymotrysiini ja renniini. Erikoisen sopivia ovat lajeista *B. licheniformis* ja *B. subtilis* johdetut proteaasit. Tällaisten proteaasien yhdistelmiä tai proteaasien ja peptidaasien yhdistelmiä voidaan myös käyttää.

Ainoa vaatimus on, että proteaasia on läsnä riittävä määrä varmistamaan denaturoidun proteiinin muuttuminen toiminnalliseksi proteiiniksi 30 minuutin kuluessa, ilman että lopulliseen proteiinituotteeseen muodostuu vastenmielistä kitkeryyttä.

Proteolyyttisen aktiivisuuden minimitason ollessa kriittinen esilläolevan keksinnön onnistumiselle määräävät maksimitason pelkästään taloudelliset seikat. Täten voisi käytännöllinen toiminta-alue proteolyyttisen entsyymin tasolle olla lausuttuna proteolyyttisen entsyymin yksikköinä grammaa kohti denaturoitua proteiinia:

240 - 1200 HUT mikrobiselle happamalle proteaasille;

300 - 1500 PC mikrobiselle neutraalille proteaasille;

2300 - 24,000 Delf'in yksikköä mikrobiselle emäksiselle proteaasille;

130,000 - 1,200,000 N.F. PU kasviproteaasille ja

150 - 750 pepsiniyksikköä eläinproteaasille.

Tässä käytetyt yksiköt yllämainittujen proteaasiluokkien aktiivisuuden ilmaisemiseksi ovat alalla hyvin tunnettuja ja ne on selvästi määriteltä viitekirjallisuudessa, kuten the First Supplement to the Food Chemical Codex, 2nd Edition, 1974.

Denaturoidun proteiinin väkevyys vesilietteessä ei ole kriittinen ja se on yleensä välillä noin 1-20 paino-% kuiva-aineesta. Hydrolyysin lämpötila ja pH riippuvat hydrolysoitavan proteiinin luonteesta ja käytetystä proteolyyttisestä entsyymistä, ja ne valitaan optimoimaan denaturoidun proteiinin muuttuminen toiminnalliseksi proteiiniksi. Sopivat lämpötilat ovat alueella noin 20-65°C. Paljon alla 20°C hydrolyysi edistyy melko hidasta tahtia, kun taas lämpötiloissa paljon yli 65°C entsyymi saattaa deaktivoitua. Optimaalämpötila on yleensä noin 50°C.

Reaktion päättyessä saatua samean ja kirkkaan välillä olevaa toiminnallisen proteiinin liuosta käsitellään entsyymin deaktivoimiseksi. Käsittelymenetelmä riippuu entsyymien luonteesta, mutta deaktivointi saadaan yleensä aikaan lämmittämällä reaktioliuosta noin 80 - 100°C:ssa noin 1-20 minuutin ajan. Riippuen käytetystä entsyymistä voidaan tällaisen käsittelyn ohella käyttää pH:n säätöä.

Entsyymien deaktivoinnista seuraava toiminnallisen proteiinin liuos jäähdytetään yleensä noin huoneen lämpötilaan, säädetään pH:hon 6-8 ja sitten käytetään suoraan ruokaseoksiin tai kuivataan tavallisilla tavoilla, kuten sumutus- tai pakastekuivaamalla ennen käyttöä. "Ruokaseoksella" tarkoitetaan seosta, jonka eläimet

ihmiset mukaan lukien nauttivat nälän tai janon sammuttamiseksi. Sopivia ruokaseoksia ovat ne, jotka sisältävät esillä olevan keksinnön mukaisen menetelmän toiminnallista proteiinia ja vähintään yhtä jäsentä, joka on valittu joukosta, jonka muodostavat hiilihydraatti, rasva, toinen proteiininlähde, muu kuin toiminnallisen proteiini, vitamiinit ja kivennäisaineet.

Esillä olevan keksinnön mukaisella menetelmällä valmistetut toiminnalliset proteiinit ovat hyödyllisiä näin laajalla ruokaseosalueella, koska niistä puuttuu kitkeruus ja ne ovat erinomaisen toiminnallisia, johon kuuluu liukoisuus laajalla pH-alueella, lämpökestävyys, pieni viskositeetti liuoksessa ja erinomainen dispergoituvuus, hiilihapolla kyllästyvyys-, emulgoitumis- ja rakenneominaisuudet. Vaikka nämä proteiinit ovat sopivia ravintoa täydentämään, jolloin ne voivat olla ruokaseoksen ainoa proteiininlähde, on niiden pääasiallinen käyttö korvaamassa oleellista osaa (vähintään 20 prosenttia painosta) monista kalliimmista liukoisista proteiineista, joita perinteellisesti käytetään ruo'issa, erikoisesti rasvatonta kuivamaitha, natriumkaseinaattia, munanvalkuaisista ja gelatiinia. Useissa tapauksissa, kuten esimerkeissä on osoitettu, tällaisesta korvauksesta on seurauksena parempi ruokatuote.

Niin toteamme toiminnallisen proteiinin happoliukoisuutensa vuoksi helposti sopivaksi käytettäväksi happamissa ruokaseoksissa, kuten hiilihappoisissa ja happamissa hiilihapottomissa virvoitusjuomissa, joissa perinteellisiä proteiineja ei voida käyttää. Toiminnallinen proteiini voi korvata kahdesti painonsa rasvatonta kuivamaitha monissa ruokaseoksissa mukaan lukien leipomotuotteet, kuten hiivalla kohotettu leipä, sokerileipurituotteet, kuten kuorrutukset ja maitonougat, jälkiruoat kuten vanukkaat ja jäätelö, pika-aamiaisruoat, lihajalosteet, kuten lihamureke, kastikkeet, kuten salaattikastike ja majoneesi ja käytetyt maitotuotteet kuten jogurtti. Natriumkaseinaatti korvataan kokonaan sellaisissa ruokaseoksissa, kuten kahvin rasvasekoitteet, ei meijerituotteet, kuten kermajuusto, ei meijerissä jalostettu juusto ja ei meijeri valmisteiset levitejuustot, vatkatut kuorrutukset ja hapan kerma samoin kuin sekä maito- että sitrussyypissä pika-aamiaisissa ja lihajalostetuotteissa. Gelatiini voidaan korvata kokonaan sellaisissa ruokaseoksissa kuin pikapakastevanukas ja leipurin

marshmallow, kun taas munanvalkuainen korvataan kokonaan tai osittain sellaisissa tuotteissa kuin marengit, makeiset, kuten sisältä pehmeät karamellit, valkuaiskakku, kasviproteiinijalosteet, pasta ja makaronit. Toiminnallinen proteiini voi myös korvata luonnollisten proteiinien yhdistelmiä, esimerkiksi rasvattoman kuivamaidon ja munan valkuaisen kemiallisesti kohotetuissa leipomotuotteissa, kuten kakut, rasvattoman kuivamaidon ja munankeltuaiset salaatin kastikkeissa; rasvattoman kuivamaidon, munakuiva-aineen ja soija-proteiinin välipalaruoissa, kuten taikinoidut sipulirenkaat; munanvalkuaisen ja soijaproteiinin paljon proteiinia sisältävissä aamiaisruoissa; gelatiinin ja Hyfoama⁽¹⁾:n leipurin marshmallow'ssa; ja gelatiinin ja soijaproteiinin sitruunavaahtopiiraassa.

Seuraavat esimerkit ainoastaan kuvaavat esilläolevan keksinnön mukaista menetelmää ja keksinnön mukaisen toiminnallisen proteiinituotteen käyttöä ruokaseoksissa, eikä niitä pidä tulkita rajoittamaan keksintöä, jonka kohteet on määriteltä liitteenä olevissa vaatimuksissa.

(1) Lederink & Co:n New York, Ne York, tuottaman proteiinipitoisen vatkauspapua-aineen rekisteröity tavaramerkki.

Esimerkki 1

Tuore, makea juustoheranäyte (94,6 litraa) säädettiin pH:hon 5,0, lämmitettiin 90°C:seen ja pidettiin tässä lämpötilassa viiden minuutin ajan. Saatu liete jäähdytettiin huoneen lämpötilaan ja sentrifugoitiin. Sentrifugisakka pestiin vedellä, jolloin saatiin 1415 g märkää lämpödenaturoitua heraproteiinikuiva-ainetta (436 g kuivaa).

Annos (32,7 g) märkää lämpödenaturoitua heraproteiinikuiva-ainetta (10,1 g kuivaa) dispergoitiin 100 ml:aan vettä. Lite säädettiin pH:hon 8,5 ja 50°C:seen, 20 mg Alcalase (1) S-6 (2970 Delf'in yksikköä/g proteiinia) lisättiin, ja seosta sekoitettiin 50°C:ssa ja pH:ssa 8,5 30 minuutin ajan, pH säilytettiin lisäämällä 1 N NaOH. Saatu liuos lämmitettiin 80°C:seen kahden minuutin ajaksi lisätyn entsyymin deaktivoimiseksi. Sitten liuos jäähdytettiin huoneen lämpötilaan, säädettiin pH:hon 7,0 1 N HCl:llä ja pakastekuivattiin. Kuiva tuote suoritui proteiinin toiminnallisuuskokeesta ja sillä oli hyväksyttävä maku, jossa ei ollut vastenmielistä kitkeryyttä tai suolaisuutta.

Tuore hera voidaan myös säätää pH:hon 4,0 ja 40°C:seen tai pH:hon 7,0 ja 150°C:seen, pH:hon 0,5 ja 100°C:seen tai pH:hon 9,0 ja 120°C:seen ja pitää siinä sopiva aika heraproteiinikuiva-aineen oleelliseksi saostamiseksi.

Lämpödenaturoidun heraproteiinikuiva-aineen proteolyysi voidaan myös suorittaa 20°C:ssa tai 65°C:ssa käyttäen 2300 Delf'in yksikköä tai enemmän Alcalase S-6 grammaa kohti kuivaa proteiinia proteiinin liukenemisen 30 minuutissa varmistamiseksi.

(1) Novo Enzyme Corp., Mamaroneck, New York tuottama B. licheniformis'n mikrobisen emäksisen proteaasijohdannaisen rekisteröity tavaramerkki.

Esimerkki 2

UF heräväkevöitenäyte (600 g; 40 paino-% kuiva-ainetta)⁽¹⁾ laimennettiin 2400 g:ksi vedellä, säädettiin pH:hon 4,8, lämmitettiin 90°C:seen ja pidettiin tässä lämpötilassa kahden minuutin ajan. Saatu liete jäädytettiin huoneen lämpötilaan ja sentrifugoitettiin. Sentrifuugisakka pestiin vedellä ja pakastekuivattiin, jolloin saatiin 112,5 g lämpödenaturoitua heraproteiinikuiva-ainetta.

Annos (10 g) lämpödenaturoitua heraproteiinikuiva-ainetta dispergoitiin 90 ml:aan vettä. Liete säädettiin pH:hon 9,5 ja 50°C:seen, 25 mg Alcalase S-6 (3750 Delf'in yksikköä/g proteiinia) lisättiin ja seosta sekoitettiin 50°C:ssa 15 minuutin ajan pitäen pH:n lisäämällä 1 N NaOH. Saatu liuos lämmitettiin 80°C:seen kahdeksi minuutiksi lisätyn entsyymin deaktivoimiseksi ja sitten liuos jäädytettiin huoneen lämpötilaan, säädettiin pH:hon 7,0 1N HCl:llä ja pakastekuivattiin. Kuiva tuote suoriutui proteiinin toiminnallisuuskokeesta ja sillä oli hyväksyttävä maku eikä vastenmielistä kitkeryyttä eikä suolaisuutta.

Käytettäessä 7,5 mg Alcalase S-6 (11,250 Delf'in yksikköä)/g proteiinia ylläkuvatussa entsyymikäsittelyssä saatiin samoin toiminnallinen maultaan hyväksyttävä proteiini. Vertailukelpoinen tuote saatiin myös seurattaessa ylläkuvattua prosessia sillä erotuksella, että sentrifuugisakka lämpösaostusaskeleelta pestiin aluksi etanolilla ja sitten vedellä, ja entsyymikäsittely oli 5,0 mg:lla (7500 Delf'in yksikköä)/g proteiinia.

(1) Crowley Cheese Company, Binghamton, New York

Esimerkki 3

Esimerkin 2 entsyymikäsittely toistettiin toisella 10 g annoksella samaa lämpödenaturoitua heraproteiini-kuiva-ainetta, mutta käyttäen 15 mg Alcalase S-6 (2250 Delf'in yksikköä/g proteiinia), jatkaen käsittelyä, kunnes 1 N NaOH kulutus oli tasoissa kulutuksen kanssa käytettäessä 25 mg Alcalase S-6. Tähän kului 36 minuuttia. Kuiva tuote ie suoriutunut proteiinin toiminnallisuuskokeesta ja sen maku oli kehnohko ja siinä hiukan luotaantyöntävä kitkeruus.

Esimerkit 4-7

Esimerkin 2 entsyymikäsittely toistettiin lämpödenaturoidulle heraproteiini-kuiva-aineelle, joka oli valmistettu UF heraväkevöitteestä kuten siinä esimerkissä, mutta suorittaen käsittelyssä seuraavat muunnelmät:

Esimerkki	4	5	6	7
Proteiiniliete				
proteiini, g	10	25	25	25
vesi, ml	90	225	225	225
Entsyymikäsittely				
entsyymi				
luonne	subtilisiini ⁽¹⁾	papaiini ⁽²⁾	pepsiini ⁽³⁾	sieniproteaasi ⁽⁴⁾
määrä, mg	50	250	250	250
yksikköä/g proteiinia ⁽⁵⁾	7500	162,000	200	310
Lämpötila °C	50	50	37	50
pH	8,5	8,5	2,5	7,0
Aika, min	5	30	30	30
Deaktivointi				
lämpötila °C	80	80	95	80
Aika, min	2	10	10	2

(1) Lajista *B. subtilis* johdettu mikrobinen emäksinen proteaasi tuottaja Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri

(2) kasviproteaasi, tuottaja Wallerstein Co., Division Travenol Labs, Inc., Morton Grove, Illinois

(3) eläinproteaasi, tuottaja Worthington Biochemical Corp., Freehold, New Jersey

(4) *A. oryzae* -lajista johdettu mikrobinen neutraali proteaasi, tuottaja Wallerstein Co.

(5) Esimerkki 4 - Delf'in yksiköt; Esimerkki 5 - N.F. PU; Esimerkki 6 - pepsiiniyksiköt; Esimerkki 7 - PC

Jokaisen ajon tuloksena saatu pakastekuivattu tuote suoriutui proteiinin toiminnallisuuskokeesta, ja niiden maut olivat hyvät, ilman vastenmielistä kitkeryyttä tai suolaisuutta.

Esimerkki 8

S. cerevisiae hiivasoluja (800 g märkänä, 172 g kuivana) dispergoitiin 1000 ml:aan vettä ja lietteen pH säädettiin 9,5:een lisäämällä 1 N NaOH. Solut homogenisoitiin 9000 psi:ssä (533 kg/cm^2) ja 30°C:ssa 80 minuutin ajan. Saatu seos sentrifugoitiin ja neste kaadettiin pois. Jäljelle jäänyt kuiva-aine sekoitettiin uudelleen 1000 ml:aan vettä ja sentrifugoitiin uudelleen. Nesteet yhdistettiin, säädettiin pH:hon 6,0, kuumennettiin 70°C:seen ja pidettiin tässä lämpötilassa 1 minuutin ajan. Saatu liete sentrifugoitettiin ja sentrifuugisakka pestiin vedellä, jolloin saatiin 392 g märkää lämpödenaturoitua hiivaproteiini-kuiva-ainetta (72 g kuivana).

Annos (50 g) märkää lämpödenaturoitua hiivaproteiini-kuiva-ainetta (9,2 g kuivana) dispergoitiin 200 ml:aan vettä. Liete säädettiin pH:hon 8,5 ja 50°C:seen, 100 mg subtilisiinia (16,300 Delf'in yksikköä/g proteiinia) lisättiin ja seosta sekoitettiin 50°C:ssa ja pH:ssa 8,5 30 minuutin ajan, säilyttäen pH:n lisäämällä 1 N NaOH. Saatu liuos lämmitettiin 80°C:seen 5 minuutiksi lisätyn entsyymin deaktivoimiseksi, ja sitten liuos jäähdytettiin huoneen lämpötilaan, säädettiin pH:hon 7,0 1 N HCl:llä ja pakastekuivattiin. Tuote suoriutui proteiinin toiminnallisuuskokeesta ja sen maku oli hyväksyttävä, eikä siinä ollut vastenmielistä kitkeryyttä eikä suolaisuutta.

Hydrolyysi voidaan toistaa käyttämällä sieniproteaasia (1) tasolla 240 HUT/g proteiinia 50°C:ssa ja pH:ssa 5,0 30 minuutin ajan, jolloin saadaan hyväksyttävän makuinen toiminnallinen proteiini,

Korvattaessa *S. fragilis*- tai *C. utilis*-hiivasoluilla, *P. methylotropha*-, *L. bulgaricus*- tai *S. lactis*-bakteerisolulla, tai *T. viride*-, *F. solani*- tai *A. oryzae*-sienisolulla *S. cerevisiae* solut tässä valmistuksessa saadaan myös toiminnallinen proteiini, joka on hyväksyttävän makuinen.

(1) Miles Laboratories, Inc., Elkhart, Indiana, tuottama mikrobinen hapan proteaasi.

Esimerkki 9

200 g näyte kuivaa lämpödenaturoitua *S. cerevisiae* hiiva-proteiinikuiva-ainetta ⁽¹⁾ lietettiin 1000 ml:aan etanolia, suodatettiin ja pestiin vedellä. Pesty suodatinsakka lietettiin 100 ml:aan vettä, liete säädettiin pH:hon 8,5 ja 50°C:seen, 2,0 g Alcalase S-6 (15,000 Delf'in yksikköä/g proteiinia) lisättiin ja seosta sekoitettiin 50°C:ssa ja pH:ssa 8,5 30 minuutin ajan. Saatu liuos kuumennettiin 80°C:seen 3 minuutiksi lisätyn entsyymin deaktivoimiseksi, ja sitten liuos jäähdytettiin huoneen lämpötilaan, säädettiin pH:hon 7,0 1N HCl:llä ja pakastekuivattiin. Tuote suoriutui proteiinin toiminnallisuuskokeesta ja sen maku oli hyväksyttävä eikä siinä ollut vastenmielistä kitkeryyttä eikä suolaisuutta.

(1) Leipurin hiivaproteiini, tuottaja Anheuser-Busch, Inc., St. Louis, Missouri, saostettu 50°C:ssa, pH:ssa 6,0 mekaanisesti rikotuista soluista.

Esimerkki 10

Seosta, joka sisälsi 100 g liuottimella uutettuja soiijapapuhiutaleita ⁽¹⁾ ja 1400 ml vettä, sekoitettiin kahden tunnin ajan 60°C:ssa ja suodatettiin sitten seulojen läpi. Saadut hiutaleet lietettiin uudelleen 1100 ml:aan vettä 10 minuutiksi 29°C:ssa ja suodatettiin seulojen läpi. Yhdistetyt nesteet kirkastettiin suodattamalla, säädettiin pH:hon 5,0, kuumennettiin 95°C:seen ja pidettiin tässä lämpötilassa 10 minuutin ajan. Saatu liete jäähdytettiin huoneen lämpötilaan ja sentrifugoitiin, ja sentrifugoisakka pestiin vedellä, jolloin saatiin 100 g märkää lämpödenaturoitua soiijaproteiinikuiva-ainetta (25 g kuivaa).

Märkä lämpödenaturoitu soiijaproteiinikuiva-aine lietettiin 300 ml:aan vettä. Liete säädettiin pH:hon 9,5 ja 50°C:seen, 125 mg Alcalase S-6 (7500 Delf'in yksikköä/g proteiinia) lisättiin ja seosta sekoitettiin 50°C:ssa ja pH:ssa 9,5 15 minuutin ajan, säilyttämällä pH:n lisäämällä 1 N NaOH. Saatu liuos lämmitettiin 85°C:seen kahdeksi minuutiksi lisätyn entsyymin deaktivoimiseksi ja sitten liuos jäähdytettiin huoneen lämpötilaan, säädettiin pH:hon 7,0 ja pakastekuivattiin. Kuiva tuote suoriutui proteiinin toiminnallisuuskokeesta, ja sen maku oli hyväksyttävä eikä siinä ollut vastenmielistä kitkeryyttä eikä suolaisuutta.

Liuottimella uutetut soiijapapuhiutaleet voidaan korvata soiijajauhoilla, alkoholikäsitellyillä soiijahiutaleilla, soijaväkevöitteellä tai karkeilla soiijajauhoilla.

(1) Central Soya Inc., Chicago, Illinois

Esimerkki 11

50 g näyte kuivaa soijaherakuiva-ainetta⁽¹⁾ liuotettiin 150 ml:aan vettä. Liuos säädettiin pH:hon 5,0, kuumennettiin 95°C:seen ja pidettiin tässä lämpötilassa 5 minuutin ajan. Saatu liete jäädytettiin huoneen lämpötilaan ja sentrifugoitiin, ja sentrifuugisakka pestiin vedellä, jolloin saatiin 32 g märkää lämpödenaturoitua soijaheraproteiini-kuiva-ainetta (8 g kuivaa). Märkä sakka lietettiin uudelleen 75 ml:aan vettä. Liete säädettiin pH:hon 9,0 ja 50°C:seen, 50 mg Alcalase S-6 (9375 Delf'in yksikköä/g proteiinia) lisättiin, ja seosta sekoitettiin 50°C:ssa ja pH:ssa 9,0 15 minuutin ajan, säilyttäen pH:n lisäämällä 1 N NaOH. Saatu liuos lämmitettiin 80°C:seen kolmeksi minuutiksi lisätyn entsyymin deaktivoimiseksi, ja sitten liuos jäädytettiin huoneen lämpötilaan, säädettiin pH:hon 7,0 ja pakastekuivattiin. Kuiva tuote suoriutui proteiinin toiminnallisuuskokeesta, ja sen maku oli hyväksyttävä eikä siinä ollut vastenmielistä kitkeryyttä eikä suolaisuutta.

(1) Central Soya Inc.

Esimerkki 12

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiini-kuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuutta korvaamaan rasvaton kuivamaito (NFDM) osa hiivalla kohotetuissa leivonnaisissa kokeiltiin käyttäen seuraavia ainesuhteita tavalliselle valkealle leivälle:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
Jauhot, yleistarkoituksiin	250,0	250,0
kuiva hiiva	6,25	6,25
sirotesokeri	20,00	20,00
rasvaton kuivamaito (NFDM)	5,00	-
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	2,50
suola	5,75	5,75
kalsiumfosfaatti (yksiemäksinen)	0,50	0,50
kasvirasva	8,25	8,25
atsodikarbamidi (0,1 % liuos)	2,83	2,83
kaliumbromaatti (0,45 % liuos)	2,50	2,50
vesi	165,0	165,0
stearyyli-2-laktylaatti emulgaattori	0,50	0,50
laktoosi	-	2,50

Jokaisen reseptin aineosat sekoitettiin ja saatu taikina siirrettiin rasvattuihin vuokiin, annettiin nousta 5 tunnin ajan 50°C:ssa ja paistettiin 221°C:ssa.

Koereseptit, joissa proteiinin korvaus oli joko toiminnallista heraproteiinikuiva-ainetta tai 1:1 toiminnallista heraproteiinikuiva-ainetta: lämpödenaturoitua heraproteiinikuiva-ainetta, tuotti hyvän laatuksen, maultaan, rakenteeltaan ja tilavuudeltaan erinomaisen leivän. Korvaus pelkällä lämpödenaturoidulla heraproteiinikuiva-aineella tuotti leivän, joka maultaan oli verrattavissa vertailuun, mutta rakenteeltaan oli huonompi ja pienempi tilavuudeltaan.

Toiminnallisella hiivaproteiinikuiva-aineella, valmistettu kuten esimerkissä 8, voidaan korvata toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine tässä reseptissä.

Esimerkki 13

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiinikuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuus korvaamaan NFDM-sisältö salaattikastikkeissa kokeiltiin käyttäen seuraavia reseptejä:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
etikka	20,0	20,0
sinihomejuusto	12,0	12,0
NFDM	5,0	-
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	2,5
pikatärkkelys	3,0	3,0
munankeltuainen	1,0	1,0
sirotesokeri	4,0	4,0
suola	4,0	4,0
kasviöljy	15,0	15,0
kuiva sinappi	0,4	0,4
sipulijauhe	0,2	0,2
valkosipulijauhe	0,2	0,2
mononatriumglutamaatti	0,1	0,1
vesi	35,1	35,1

Kunkin reseptin tärkkelys yhdistettiin veteen ja etikkaan sekoittimessa, jota käytettiin keskinopeudella. Jäljelle jääneet kuivat aineosat lisättiin etukäteen sekoitettuihin, sitten lisättiin munankeltuainen, kasviöljy ja lopuksi sinihomejuusto. Seos sekoitettiin sileäksi ja jäädytettiin.

Koeressepti, jossa proteiini korvattiin toiminnallisella heraproteiini-kuiva-aineella, tuotti hyvänlaatuisen maultaan, viskositeetiltaan ja veden erottumiseltaan parantuneen salaattikastikkeen. Korvaus lämpödenaturoidulla heraproteiinilla antoi kastikkeen, joka oli maultaan huonompi ja viskositeetiltaan pienempi ja jossa myös esiintyi veden erottumista.

Kastikkeen valmistus esitetyllä tavalla, jossa 3,5 g toiminnallista heraproteiinia korvasi vertailureseptin sekä 5,0 g NFDM että 1,0 g munankeltuasta tuotti tuotteen, joka oli viskositeetiltaan ja maultaan parantunut eikä osoittanut taipumusta veden erottumiseen.

Esimerkki 14

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiini-kuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuutta korvaamaan NFDM-sisältö sokerileivonnaisissa kokeiltiin käyttämällä seuraavia reseptejä suklaakuorrutukselle:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
Kasvirasva	26,6	26,6
sirotesokeri	60,1	60,1
tapiokatärkkelys	0,5	0,5
NFDM	3,8	-
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	1,9
kaakoa	5,8	5,8
vanilliini	0,1	0,1
suola	0,08	0,08
suklaaväri	0,04	0,05
vesi (kiehuva)	56,9	56,9.

Kiehuva vesi lisättiin esisekoitettuihin kuiviin aineosiin ja seosta vatkattiin (15-20 minuuttia), kunnes saatiin haluttu ti-lavuus. Saatu kuorrutus säilytettiin jäädytettynä.

Koeresepti, jossa proteiini oli korvattu toiminnallisella heraproteiinikuiva-aineella, tuotti hyvänlaatuisen, maultaan parantuneen suklaakuorrutuksen. Korvaus lämpödenaturoidulla heraproteiinilla antoi myös hyvänlaatuisen kuorrutuksen, mutta maultaan huonomman.

Toiminnallisesta heraproteiinikuiva-aineesta ja gelatiinista valmistettiin seos, jossa 2,1 g gelatiinia liuotettiin 200 ml:aa vettä 50°C:ssa ja liuos yhdistettiin 43,7 g:aan toiminnallista heraproteiinikuiva-ainetta, 3,4 g:aan natriumheksametafosfaattia ja 1,7 g:aan kaliumalumiinisulfaattia, säädettiin tämä pH:hon 5,0 ja pakastekuivattiin. Tämän seoksen käyttö proteiinikorvikkeena koereseptissä tuotti erinomaisen suklaakuorrutuksen, jolla oli suuresti parantunut maku, levittyvyys, kuivan pinnan kiilto ja huippuominaisuudet.

Toiminnallisella hiivaproteiinikuiva-aineella, valmistettu kuten esimerkissä 8, voidaan korvata toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine tässä reseptissä.

Esimerkki 15

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiinikuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuutta korvaamaan NFDM sisältö jäädytetyissä jälkiruoissa kokeiltiin käyttäen seuraavia suklaajäätelöresepetejä:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
paksua kermaa	25,0	25,0
NFDM	9,95	-
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	4,97
sirotesokeri	18,0	18,0
latoosi	-	4,98
gelatiini	0,5	0,5
kaakaojauhe	3,0	3,0
vesi	43,05	43,05
vaniljauute	0,5	0,5

Gelatiini liuotettiin pieneen annokseen vettä 63-66°C:ssa ja lisättiin jatkuvasti sekoittaen etukäteen sekoitettuihin loppuihin aineosiin, paitsi aromiaineeseen, samassa lämpötilassa. Saatua seosta pastöroitiin 20-30 minuutin ajan 74°C:ssa ja lisättiin aromiaine. Sitten seos homogenisoitiin 2-vaiheisessa homogenisaattorissa, jäähdytettiin nopeasti 4°C:seen ja jäähdytettiin tavallisilla jäätelön jäädytysmenetelmillä.

Koeresepti, jossa proteiinikorvike oli toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine, tuotti hyvänlaatuisen jäätelön, joka tilavuudeltaan, maultaan, rakenteeltaan ja maistuvuudeltaan oli erinomainen. Korvaus lämpödenaturoidulla heraproteiini-kuiva-aineella antoi tilavuudeltaan, maultaan, rakenteeltaan ja maistuvuudeltaan huonomman jäätelön.

Toinnallista hiivaproteiini-kuiva-ainetta, valmistettu kuten esimerkissä 8, voidaan käyttää korvaamaan toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine tässä reseptissä.

Esimerkki 16

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiini-kuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuutta korvaamaan natriumkaseinaatti ei meijerivalmisteisissa kahvin rasvasekoitteissa kokeiltiin käyttämällä seuraavia reseptejä:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
kasvirasva	20,0	20,0
maissisiirappikuiva-aine 42 D.E.	20,0	20,0
natriumkaseinaatti	6,0	-
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	6,0
Carrageenan	0,4	0,4
Span ⁽¹⁾ 60	0,5	0,5
Polysorbaatti 60	0,3	0,3
Kaliumdivetyfosfaatti	0,4	0,4
vesi	152,0	152,0

(1) ICI United States, Inc., Wilmington, Delaware'n tuottaman emulgaattorin rekisteröity tavaramerkki

Vesi ja rasva lämmitettiin 60°C:seen ja natriumkaseinaatti tai sen proteiinikorvike mukanaan etukäteen sulatetut emulgaattorit, carrageenan ja maissisiirappikuiva-aine lisättiin sekoittaen.

Sitten seos lämmitettiin 71°C :seen, homogenisoitiin kuumana 2-vaiheisessa homogenisaattorissa, säädettiin tarvittaessa pH:hon 7,0, jäähdytettiin ja säilytettiin 4°C :ssa.

Jokainen saatu nestemäinen kahvin rasvasekoite arvioitiin lisäämällä 10 ml rasvasekoitetta 80 ml:aan liuosta, joka sisälsi 2 paino-% pakastekuivattua kahvia vedessä 74°C :ssa ja sitten kuumentamalla saatu seos 91°C :seen.

Koeresepti, jossa proteiinikorvike oli toiminnallinen heraproteiini, käyttäytyi samalla tavalla kuin vertailu siinä, ettei kummassakaan, ei vertailu- eikä koekahvissa, esiintynyt raidoittumista (proteiinin koaguloitumista tai saostumista) ja niissä esiintyi vain lievästi öljyn erottumista lämmitettäessä ne 74°C :sta 91°C :seen. Päinvastoin, kahvissa, jonka koereseptissä käytettiin lämpödenaturoitua heraproteiinia, esiintyi huomattavaa raidoittumista ja öljyn erottumista lämmityksen aikana.

Toiminnalliset hiiva- ja bakteeriproteiinkuiva-aineet, valmistetut kuten esimerkeissä 8 ja 9 ja toiminnalliset soijaproteiinkuiva-aineet, valmistetut kuten esimerkeissä 10 ja 11, korvasivat toiminnalliset heraproteiinkuiva-aineet tässä reseptissä vertailukelpoisin tuloksin.

Esimerkki 17

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiinkuiva-aineiden, valmistetut, kuten esimerkissä 2, tehokkuutta korvaamaan NFDM-sisältö pika-aamiaisruoassa kokeiltiin käyttämällä seuraavia reseptejä:

Aineosa, grammoja	<u>Suklaa</u>		<u>Appelsiini</u>	
	vertailu	koe	vertailu	koe
NFDM	9,0	-	10,6	-
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	4,5	-	5,3
laktoosi	-	4,5	-	5,3
sirotesokeri	6,0	6,0	6,0	6,0
maissisiirappikuiva-aine	2,0	2,0	2,0	2,0
kaakao	1,6	1,6	-	-
appelsiiniaromi (ml)	-	-	0,6	0,6
appelsiininiväri (ml) ⁽¹⁾	-	-	3,0	3,0
suola	0,06	0,06	0,02	0,02
carregeenan	0,2	0,2	0,2	0,2
Span 60	0,25	0,25	-	-
Polysorbaatti 60	0,15	0,15	-	-
Vettä	100,0	100,0	100,0	100,0

(1) 1 % FDC No. 5 -liuos ja 0,2 % FDC No. 6 -liuos

Kunkin reseptin aineosat yhdistettiin ja saatu seos pastöroitiin 60°C:ssa 10 minuutin ajan, homogenisoitiin 2-vaiheisessa homogenisaattorissa ja pakastekuivattiin.

Pika-aamiaiset valmistettiin lisäämällä 5 g suklaaseoskuiva-ainetta 100 ml:aan maitoa ja sama määrä appelsiiniseoskuiva-ainetta appelsiinimehuun.

Hyvänlaatuisen pika-aamiaiset saatiin sekä suklaa- että appelsiinikoeresepteillä käyttäen toiminnallisia heraproteiini-kuiva-aineita.

Toiminnallisella hiivaproteiini-kuiva-aineella, valmistettu kuten esimerkissä 8, voidaan korvata toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine näissä resepteissä.

Esimerkki 18

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiini-kuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuutta korvaamaan natriumkaseinaatti ei meijerivalmisteisessa kermajuustossa kokeiltiin käyttäen seuraavia reseptejä:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>koe</u>
natriumkaseinaatti	9,5	-
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	9,5
maissisiirappikuiva-aine	3,8	3,8
suola	0,15	0,15
Atmos ⁽¹⁾ 150	0,40	0,40
agar	2,00	2,00
kasvirasva	30,5	30,5
Vesi	54,0	54,0

(1) ICI United States, Inc.'n tuottaman emulgaattorin rekisteröity tavaramerkki

Kuivat aineosat sekoitettiin veden kanssa. Sulatettu rasva ja emulgaattori lisättiin ja seos säädettiin sitten pH:hon 4,0-5,0, pastöroitiin 65°C:ssa 15 minuutin ajan, homogenisoitiin yksivaiheisessa homogenisaattorissa ja jäähdytettiin 4°C:seen.

Koeresepti, jossa proteiini-kuiva-aine oli heraproteiini-kuiva-aine, tuotti erinomaisen kermajuuston, jonka rakenne ja maistuvuus oli erinomainen. Sopivan juuston valmistus sekä natriumkaseinaattia sisältävällä vertailureseptillä että lämpödenaturoitua heraproteiini-kuiva-ainetta sisältävällä koereseptillä epäonnistui, koska

hapan seos juoksettui pastöroitaessa.

Valmistusten toistaminen käyttäen korvaavina toiminnallista hiivaproteiini-kuiva-ainetta ja lämpödenaturoitua hiivaproteiini-kuiva-ainetta, valmistetut kuten esimerkissä 9, antoi vertailukelpoiset tulokset.

Esimerkki 19

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiini-kuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuutta korvaamaan NFDM-sisältö lihajalosteissa kokeiltiin käyttäen seuraavia reseptejä lihamurekkeelle:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
Tuoretta jauhettua naudanlihaa	400	400
ruskistettua sipulia	16,0	16,0
tomaatti ketsuppia	5,0	5,0
suola	3,0	3,0
NFDM	48,0	-
Toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	24,0
valkopippuri	0,25	0,25
jauhettu laakerinlehti	1,0	1,0
Worcestershire-kastike	3,0	3,0

Aineosat sekoitettiin, siirrettiin vuokaan ja paistettiin 191°C:ssa 45 minuutin ajan.

Koeresepti, jossa proteiini-kuiva-aine oli toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine, tuotti rakenteeltaan ja aromiltaan parantuneen murekkeen. Korvaus lämpödenaturoidulla heraproteiini-kuiva-aineella antoi huonomman keuhnomman makuksen murekkeen.

Makkaroita ja Frankfurttin makkaroita voidaan valmistaa sopivia reseptejä ja samoja menetelmiä käyttäen.

Toiminnallisella hiivaproteiini-kuiva-aineella, valmistettu kuten esimerkissä 8, voidaan korvata toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine tässä reseptissä ja sopivissa resepteissä muille lihajalosteille, kuten makkaroille ja Frankfurttin makkaroille, joissa mukailtu heraproteiini-kuiva-aine voi korvata lihajalosteen NFDM- tai natriumkaseinaattisisällön.

Esimerkki 20

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiini-kuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuutta korvaamaan natriumkaseinaatti vatkatussa kuorrutuksessa kokeiltiin käyttäen seuraavia reseptejä:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
kasvirasva	79,9	79,9
natriumkaseinaatti	1,0	-
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	1,0
carrageenan	1,41	1,41
Guar gum	0,94	0,94
polysorbaatti 60	2,11	2,11
Span 60	0,84	0,84
sirotesokeri	70,0	70,0
vanilja-aromi	2,5	2,5
vesi	146,0	146,0

Vesi ja kasvirasva yhdistettiin, lämmitettiin 71°C:seen ja sekoitettiin natriumkaseinaatin tai sen korvikkeen kanssa. Yhdistetyt carrageenan, Guar gum, Polysorbaatti 60 ja Span 60 lämmitettiin 49°C:seen ja lisättiin seokseen. Sokeri ja aromi lisättiin sitten ja saatu seos homogenisoitiin kuumana 2-vaiheisessa homogenisaattorissa, jäähdytettiin 10°C:seen ja säilytettiin 4°C:ssa 4 tunnin ajan. Jäähdytetty seos vatkattiin 150-250 %:iin tilavuudestaan käyttäen nopeaa sekoitinta typpiruiskein, ja vatkattu tuote pakattiin ja jäähdytettiin.

Koeresepti, jossa proteiini-kuorvike oli toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine, antoi erinomaisen vatkatun kuorrutuksen, jonka tilavuus oli parantunut, kun taas se, jossa kuorvike oli lämpödenaturoitu heraproteiini-kuiva-aine, ei suostunut vatkoutumaan, tilavuus suureni vähemmän kuin 50 %.

Kuorrutusvalmistus toistettiin käyttäen toiminnallista hiivaproteiini-kuiva-ainetta ja lämpödenaturoitua hiivaproteiini-kuiva-ainetta, valmistetut kuten esimerkissä 8. Laajeneminen oli toiminnallisella proteiinilla vielä suurempi, kun taas denaturoitua proteiinia sisältävä resepti jälleen kieltäytyi vatkoutumasta.

Esimerkki 21

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiinikuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuutta korvaamaan gelatiini jäädytetyissä maitopikajälkiruoissa kokeiltiin käyttäen seuraavia respetejä:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
Sirotesokeri	42,5	42,5
Kaorich ⁽¹⁾ helmiä	16,5	16,5
NFDM	14,5	14,5
Kaokreme ⁽²⁾	13,0	13,0
pikatärkkelys	10,0	10,0
suola	1,0	1,0
vanilja	1,0	1,0
gelatiini	1,0	-
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	1,0
dekstriini	-	1,0
vesi (kiehuva)	100,5	100,5

(1) SCM Corporation, New York, New York'n tuottaman kasvirasvan rekisteröity tavaramerkki

(2) SCM Corporation'n tuottaman kasvirasvan tavaramerkki

Kuivat aineosat sekoitettiin sekoittimessa, kiehuva vesi lisättiin hitaasti annoksittain ja sekoittaen seokseen ja saatu seos pakattiin ja jäädytettiin.

Koeresepti, jossa proteiinikorvike oli toiminnallinen heraproteiinikuiva-aine, tuotti hyvänlaatuisen, maultaan parantuneen jäädytetyn jälkiruoan. Korvaus lämpödenaturoidulla heraproteiinikuiva-aineella antoi huonomman makuisen jälkiruoan. Koeresepti, jossa proteiinikorvike oli toiminnallisen heraproteiinikuiva-aineen ja gelatiinin seos, valmistettu kuten esimerkissä 14, antoi erinomaisen, maultaan suuremmoisen jäädytetyn jälkiruoan.

Toiminnallisella hiivaproteiinikuiva-aineella, valmistettu, kuten esimerkissä 8, voidaan korvata toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine tässä reseptissä.

Esimerkki 22

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiinikuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, ja toiminnallisen hiivaproteiinikuiva-aineen, valmistettu kuten esimerkissä 9, tehokkuutta korvaamaan gelatiini ja Hyfoama leipurin marshmallow'ssa kokeiltiin

käyttäen seuraavia reseptejä:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
<u>Osa A</u>		
Hyfoama	3,0	-
toiminnallinen tai denaturoitu proteiini	-	3,0
vesi	15,0	15,0
pölysokeri	15,0	15,0
<u>Osa B</u>		
gelatiini	1,0	-
toiminnallinen tai denaturoitu proteiini	-	1,0
vesi	3,0	3,0
<u>Osa C</u>		
sirotesokeri	91,0	91,0
glukoosi	11,0	11,0
Vesi	31,0	31,0

Osan A aineosat sekoitettiin ja vatkattiin sitkeäksi vaahdoksi. Gelatiini tai sen korvike liuotettiin osan B veteen ja liuos lisättiin sekoittaen osaan A. Osan C aineosat yhdistettiin, kuumennettiin kiehuvaaksi ja sekoitettiin yhdistettyihin osiin A ja B. Saatua seosta vatkattiin, kunnes saatiin halutut huiput.

Koereseptit, joissa proteiinikorvike oli joko toiminnallinen heraproteiinikuiva-aine tai toiminnallinen hiivaproteiinikuiva-aine, tuottivat hyvänlaatuisen maultaan vertailukelpoisen marshmallow'n. Korvaus lämpödenaturoidulla heraproteiinikuiva-aineella antoi tuotteen, joka ei vatkaantunut ja oli maultaan paljon huonompi. Koeresepti, jossa proteiinikorvike oli toiminnallisen heraproteiinikuiva-aineen ja gelatiinin seos, valmistettu kuten esimerkissä 14, antoi erinomaisen, maultaan suuremman marshmallow'n.

Esimerkki 23

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiinikuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkeissä 2 ja 9, vastaavasti, tehokkuutta korvaamaan munanvalkuainen marengissa kokeiltiin käyttäen seuraavia reseptejä:

<u>Ainseosa, grammoina</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
Munanvalkuainen	55,0	16,5
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	5,8
vesi	-	32,7
viinikivi	0,8	0,8
sirotesokeri	77,0	77,0
vaniljauute (teelusikallisia)	1/4	1/4

Munanvalkuainen, tai sen korvike, varkattiin vaahdoksi. Viinikivi, sokeri ja vanilja lisättiin vatkaton ja vatkaamista jatkettiin, kunnes muodostui vahvoja huippuja. Sitten marenki levitettiin sitruunatäytteen päälle esikypsennettyyn piiraskuoreen ja piirasta paistettiin 204°C:ssa 5-10 minuutin ajan.

Koereseptit, joissa proteiinikorvike oli joko toiminnallinen heraproteiinikuiva-aine tai toiminnallinen hiivaproteiinikuiva-aine, tuottivat hyvänlaatuisia marenkeja, jotka olivat samoja maultaan, parempia rakenteeltaan ja ilman veden synereesiä. Korvaus lämpödenaturoidulla hera- tai hiivaproteiinikuiva-aineella ei onnistunut saamaan aikaan marenkia.

Esimerkki 24

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen hiivaproteiinikuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 9, tehokkuutta korvaamaan munanvalkuainen valkuaiskakussa kokeiltiin käyttäen seuraavia reseptejä:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
tuoreita munanvalkuaisia	102	81,6
toiminnallinen tai denaturoitu hiivaproteiini	-	2,75
kakku jauhot	30	30
sirotesokeri	97,0	97,0
suola	0,3	0,3
viinikivi	1,75	1,75
vaniljauute (teelusikallisia)	3/8	3/8
manteliuute (teelusikallisia)	1/8	1/8
vesi	-	18,0.

Jauhot ja puolet sokerista sekoitettiin etukäteen. Munanvalkuaiset, viinikivi ja suola yhdistettiin ja vatkattiin vaahdoksi. Toinen puoli sokerista lisättiin sitten hitaasti ja vatkaamista jatkettiin kunnes muodostui sitkeä marenki. Aromit, joita seurasi jauho-sokeriseos, sekoitettiin varovasti marenkiin ja saatu taikina siirrettiin voitelemattomaan rengasvuokaan ja paistettiin.

Koeresepti, jossa proteiinikorvike oli toiminnallinen hiivaproteiini-kuiva-aine, tuotti hyvänlaatuisen valkuaiskakun, joka maultaan oli hiukan heikompi. Korvaus lämpödenaturoidulla hiivaproteiini-kuiva-aineella antoi myös kakun, joka maultaan oli hiukan heikompi ja myös tilavuudeltaan pienempi.

Esimerkki 25

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiini-kuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuutta korvaamaan munanvalkuainen piparminttukaramelleissa ja muissa sisältä pehmeissä makeisissa kokeiltiin käyttäen seuraavia reseptejä makeisen mazettosan valmistamiseen:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
maissisiirappi	58,19	58,19
sirotesokeri	29,09	29,09
vesi	10,9	10,9
munanvalkuaiskuiva-aine	1,82	-
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	1,82

Aineosat yhdistettiin, keitettiin 114°C:seen, vatkattiin kuumana maksimitilavuuteen ja jäädytettiin.

Koeresepti, jossa proteiinikorvike oli toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine, tuotti hyvänlaatuisen mazettan, jonka untuvaisuus oli parantunut ja joka maultaan oli hiukan vertailua huonompi.

Toiminnallisella hiivaproteiini-kuiva-aineella, valmistettu kuten esimerkissä 8, voidaan korvata toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine tässä reseptissä.

Esimerkki 26

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiini-kuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuutta korvaamaan munanvalkuainen kasviproteiinijalosteiden sideaineena kokeiltiin käyttäen seuraavia reseptejä soijaproteiinijalosteelle:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
hydratoitu soiijaproteiinijaloste	100	100
kasvirasva	20	20
munanvalkuaiskuiva-aine	5	-
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	5
soijajauho	10	10
vehnägluteeni	10	10
vesi	25	25

Hydratoitu soiijaproteiinijaloste valmistettiin sekoittamalla 125 g soiijaproteiinijalostetta, 300 g vettä, 25 g liha-aromia, 8 g mononatriumglutamaattia, 12,5 g suolaa ja 0,5 g valkopippuria ja antamalla seoksen seistä huoneen lämpötilassa yli yön.

Kasvirasva sulatettiin ja yhdistettiin veteen, munanvalkuaiseen tai sen korvikkeeseen, soijajauhoihin ja vehnägluteeniin. Tämä seos sekoitettiin sitten 100 g:aan hydratoitua soiijaproteiinijalostetta. Seoksen annettiin seistä 1-3 tunnin ajan ja sitten siitä valmistettiin lihapiiraita ja ne paistettiin 191°C:ssa 15 minuutin ajan.

Koeresepti, jossa proteiinikorvike oli toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine, tuotti hyvänlaatuisen paistetun piiraan, samanlaisen kuin vertailu kiinteytensä, emulgoitumisensa ja aistittavien ominaisuuksiensa suhteen. Korvaus lämpödenaturoidulla heraproteiini-kuiva-aineella antoi huonomman piiraan, jonka kiinteytys, emulgoituminen ja aistittavat ominaisuudet olivat heikommät.

Toiminnallisella bakteeriproteiini-kuiva-aineella, valmistettu kuten esimerkissä 8, voidaan korvata toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine tässä reseptissä tai reseptissä, jossa proteiinin korvaus koskee jalostetun proteiinituotteen soiijajauho- tai vehnägluteenisäältä.

Esimerkki 27

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiini-kuiva-aineiden valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuutta hiilihappoisten virvoitusjuomien vahvistamiseen kokeiltiin lisäämällä 0,5 - 2 g kuiva-ainetta 100 ml:aan kaupallista hiilihappoista appelsiinijuomaa tai inkivääriolutta. Toiminnallisen heraproteiini-kuiva-aineen lisääminen ei vaikuttanut juoman kirkkauteen eikä makuun. Lämpödenaturoidun heraproteiini-kuiva-aineen lisääminen tuhosi juoman kirkkauden aikaansaaden proteiinin saostumisen.

Toiminnallisella hiivaproteiini-kuiva-aineella, valmistettu kuten esimerkissä 8, tai toiminnallisella soijaproteiini-kuiva-aineella, valmistettu kuten esimerkeissä 10 tai 11, voidaan korvata toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine vahvistettaessa tällaisia hiilihappoisia virvoitusjuomia.

Esimerkki 28

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiini-kuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuutta korvaamaan NFDM suklaamaidossa kokeiltiin käyttäen seuraavia reseptejä:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
NFDM	6,6	-
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	3,3
täysmaito	25,0	25,0
laktoosi	-	3,3
sirotesokeri	9,2	9,2
carrageenan	0,04	0,04
kaakoa	1,02	1,02
vanilja	0,15	0,15
vesi	58,0	58,0

Aineosat sekoitettiin, pastöroitiin 65°C:ssa 10 minuutin ajan, homogenisoitiin 2-vaiheisessa homogenisaattorissa ja jäähdytettiin 4°C:seen.

Koeresepti, jossa proteiini-kuiva-aine oli toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine, tuotti hyvänlaatuisen suklaamaidon, jonka maku oli vain hiukan huonompi kuin vertailun. Korvaus lämpödenatroidulla heraproteiini-kuiva-aineella oli tehoton, koska kuiva-aine ei liuennut.

Toiminnallisella hiivaproteiini-kuiva-aineella, valmistettu kuten esimerkissä 8, voidaan korvata toiminnallinen heraproteiini-kuiva-aine tässä reseptissä.

Esimerkki 29

Toiminnallisten ja lämpödenaturoitujen heraproteiini-kuiva-aineiden, valmistetut kuten esimerkissä 2, tehokkuutta korvaamaan NFDM, munakuiva-aine ja soijaproteiini välipalaruuoissa kokeiltiin käyttäen seuraavia reseptejä taikinoiduille sipulirenkaille:

<u>Aineosa, grammoja</u>	<u>Vertailu</u>	<u>Koe</u>
NFDM	8,0	-
toiminnallinen tai denaturoitu heraproteiini	-	7,2
soijaproteiini	2,2	-
vehnä jauho	32,6	32,6
suola	0,78	0,78
munakuiva-aine	0,30	0,15
kasvirasva	2,33	2,33
1:1 Atmos 300:Tween (1) 60	0,30	0,30
vesi	54,0	54,0

(1) ICI United States, Inc. tuottaman emulgaattorin tavaramerkki

Kaikki aineosat emulgaattoreita ja rasvaa lukuunottamatta sekoitettiin huolellisesti. Emulgaattorit ja rasva yhdistettiin, sulatettiin ja lisättiin seokseen. Viipaloidut sipulirenkaat kas-
tettiin saatuun taikinaan ja kypsennettiin kasvirasvassa 163°C:ssa.

Koeresepti, jossa proteiinikorvike oli toiminnallinen heraproteiinikuiva-aine, tuotti paremman laatuista sipulirenkaita, jotka olivat mureita ja hiukan rasvaisen makuista ja aromiltaan hyviä. Korvaus lämpödenaturoidulla heraproteiinikuiva-aineella antoi suunnilleen saman laatuista renkaita kuin vertailu.

Toiminnallisella hiivaproteiinikuiva-aineella, valmistettu kuten esimerkissä 8, voidaan korvata toiminnallinen heraproteiinikuiva-aine tässä reseptissä.

Patenttivaatimukset.

1. Menetelmä toiminnallisen proteiinin valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että:

(a) epäpuhtas luonnollinen proteiini, joka on valittu joukosta, jonka muodostavat hera, mikrobinen proteiini ja kasviproteiini, saatetaan alttiiksi lämpötilalle noin 40-150°C vesiväliaineessa, kunnes tapahtuu oleellinen proteiinin saostuminen;

(b) mainittu saostettu proteiini erotetaan mainitusta väliaineesta;

(c) mainittua saostettua proteiinia väliaineessa käsitellään proteolyttisellä entsyymillä lämpötilassa alueella noin 20-65°C korkeintaan 30 minuutin ajan kunnes liukeneminen tapahtuu; ja

(d) mainittu entsyymi deaktivoidaan, jolloin mainittua entsyymiä käytetään tasolla, grammaa kohti mainittua erotettua proteiinia kuiva-ainepohjalla, vähintään noin

240 HUT, jossa mainittu entsyymi on mikrobinen hapan proteaasi,

300 PC, jossa mainittu entsyymi on mikrobinen neutraali-proteaasi,

2300 Delf'in yksikköä, jossa mainittu entsyymi on mikrobinen emäksinen proteaasi,

130,000 N.F. PU, jossa mainittu entsyymi on kasviproteaasi,

150 pepsiiniyksikköä, jossa mainittu entsyymi on eläinproteaasi.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että mainittu toiminnallinen proteiini on heran johdannainen.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että mainitun mikrobinen proteiinin lähde on *S. cerevisiae*, *S. fragilis* tai *C. utilis*.

4. Jonkun edeltävän patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että askeleella (a) mainittu lämpötila on noin 70-95°C ja mainitun vesiväliaineen pH on noin 4-7.

5. Jonkun edeltävän patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että mainittu proteolyttinen entsyymi on lajien *B. subtilis* tai *B. licheniformis* johdannainen.

Patentkrav:

1. Förfarande för framställning av funktionell protein, k ä n n e t e c k n a t därav, att man

(a) utsätter orent naturellt protein, som valts bland vassla, mikrobiellt protein och vetetabiliskt protein för en temperatur av ca. 40-150°C i vattenhaltigt medium tills väsentlig utfällning av protein sker;

(b) separerar nämnda utfällda protein från nämnda medium;

(c) behandlar nämnda separerade protein i vattenmedium med proteolytiskt enzym vid en temperatur från ca. 20-65°C under en tid av upp till 30 min till lösning sker;

(d) deaktiverar nämnda enzym,

varvid nämnda enzym används vid en nivå av åtminstone ca. 240 HUT då nämnda enzym är ett mikrobiellt surt proteas,

300 PC då nämnda enzym är ett mikrobiellt neutralt proteas,

2300 Delf enheter då nämnda enzym är ett mikrobiellt alkaliskt proteas,

130,000 N,F,PU då nämnda enzym är ett växtproteas, och

150 Pepsin enheter då nämnda enzym är ett animalt proteas,

per gram av nämnda separerade protein på torrmaterialbasis.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att nämnda funktionella protein deriverats från vassla.

3. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att källan för nämnda mikrobiellaprotein är *S. cerevisiae*, *S. fragilis* eller *C. utilis*.

4. Förfarande enligt något av förgående patentkrav, k ä n n e t e c k n a t därav, att temperaturen i steg (a) är ca. 70-95°C och pH-värdet för nämnda vattenlösning är ca 4-7.

5. Förfarande enligt något av föregående patentkrav, k ä n n e t e c k n a t därav, att nämnda proteolytiska enzymderiverats från *B. subtilis* eller *B. licheniformis*.