

(11) Número de Publicação: **PT 1439759 E**

(51) Classificação Internacional:

A23J 1/14 (2007.10) **A23J 3/14** (2007.10)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2002.10.22**

(30) Prioridade(s): **2001.10.23 US 330479 P**
2002.04.29 US 375711 P

(43) Data de publicação do pedido: **2004.07.28**

(45) Data e BPI da concessão: **2008.08.27**
005/2009

(73) Titular(es):

BURCON NUTRASCIENCE (MB) CORP.
1388 WALLER AVENUE WINNIPEG, MANITOBA
R3T 1P9

CA
CA
CA

(72) Inventor(es):

RONALD W. MARTENS
E. DONALD MURRAY
SHELLEY HIRON

CA
CA
CA

(74) Mandatário:

ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA
R DAS FLORES 74 4 AND 1249-235 LISBOA

PT

(54) Epígrafe: **FUNCIONALIDADE II DE ISOLADO DE PROTEÍNA DE CANOLA**

(57) Resumo:

DESCRIÇÃO

"Funcionalidade II de isolado de proteína de canola"

REFERÊNCIA A PEDIDOS DE PATENTE RELACIONADOS

Este pedido de patente reivindica a prioridade ao abrigo da 35 USC 119(e) dos Pedidos de Patente Provisórios dos E.U.A. N.º 60/330 479 depositado em 23 de Outubro de 2001 e 60/375 711 depositado em 29 de Abril de 2002.

CAMPO DO INVENTO

O presente invento refere-se a um isolado de proteína de canola e à sua funcionalidade numa vasta gama de aplicações.

ANTECEDENTES DO INVENTO

Nas Patentes dos E.U.A. N.ºs 5 844 086 e 6 005 076 ("Murray II"), atribuídas ao presente cessionário e cujas revelações são aqui incorporadas por referência, descreve-se um processo para o isolamento de isolados de proteína a partir de farinha de sementes oleaginosas possuindo um teor em gordura significativo, incluindo farinha de sementes oleaginosas de canola possuindo este teor. Os passos envolvidos neste processo incluem solubilização de material proteico a partir de farinha de sementes oleaginosas, que também solubiliza a gordura na farinha, e remoção da gordura a partir da solução de proteína aquosa resultante. A solução de proteína aquosa pode ser separada da farinha residual de sementes oleaginosas antes ou após o passo de remoção de gordura. A solução de proteína desengordurada é depois concentrada para aumentar a concentração de proteína mantendo ao mesmo tempo a força iônica substancialmente constante, após o que a solução de proteína concentrada pode ser submetida a um passo adicional de remoção de gordura. A solução de proteína concentrada é depois diluída para causar a formação de uma massa tipo nuvem de moléculas de proteína altamente agregadas como gotículas de proteína discretas em forma micelar. Deixam-se as micelas de proteína sedimentar para formar uma massa de isolado de proteína, tipo glúten pegajoso, amorfa, densa, fundida, agregada, denominada

"massa micelar de proteína" ou PMM, que é separada da fase aquosa residual e seca.

O isolado de proteína tem um teor em proteína (como determinado pelo método Kjeldahl ou equivalente N x 6,25) de pelo menos cerca de 90% p/p, está substancialmente não desnaturado (como determinado por calorimetria de varrimento diferencial) e tem um teor em gordura residual baixo inferior a cerca de 1% p/p. O rendimento de isolado de proteína obtido utilizando este procedimento, em termos da proporção de proteína extraída a partir da farinha de sementes oleaginosas que é recuperada como isolado de proteína seco, foi geralmente inferior a 40% p/p, tipicamente de aproximadamente 20% p/p.

O procedimento descrito nas patentes supramencionadas foi desenvolvido como uma modificação para ajudar à melhoria do procedimento para formação de um isolado de proteína a partir de uma variedade de materiais fonte de proteína, incluindo sementes oleaginosas, como descrito na USP 4 208 323 (Murray IB). As farinhas de sementes oleaginosas disponíveis em 1980, quando a USP 4 208 323 foi publicada, não tinham os níveis de contaminação de gordura de farinhas de sementes oleaginosas de canola disponíveis na época das patentes Murray II, e, como consequência, o procedimento da Patente dos E.U.A. N.º 4 208 323 não pode produzir, a partir de farinhas de sementes oleaginosas processadas de acordo com o processo de Murray II, materiais proteicos que têm um teor em proteína superior a 90% p/p. Não existe qualquer descrição de quaisquer experiências específicas na USP 4 208 323 realizadas utilizando farinha de sementes de colza (canola) como o material de partida.

A própria USP 4 208 323 foi desenhada para ser uma melhoria no processo descrito nas Patentes dos E.U.A. N.^{os} 4 169 090 e 4 285 862 (Murray IA) pela introdução do passo de concentração antes da diluição para formar a PMM. O último passo serviu para melhorar o rendimento de isolado de proteína de aproximadamente 20% para o processo de Murray IA.

Nos Pedidos de Patente dos E.U.A. N.^{os} 60/288 415 depositado em 4 de Maio de 2001, 60/326 987 depositado em 5 de Outubro de 2001, 60/331 066 depositado em 7 de Novembro

de 2001, 60/333 494 depositado em 28 de Novembro de 2001, 60/374 801 depositado em 24 de Abril de 2002 (WO 02/089597) e 10/137 391 depositado em 3 de Maio de 2002, atribuídas ao presente cessionário e cujas revelações são aqui incorporadas por referência, são descritas melhorias adicionais a estes procedimentos de isolamento de proteína da especialidade anterior tal como são aplicados a sementes oleaginosas para obter rendimentos melhorados de produto seco de isolado de proteína em termos da proporção da proteína extraída a partir das sementes oleaginosas que é recuperado como isolado de proteína e para obter isolado de proteína de elevada pureza, usualmente pelo menos cerca de 100% p/p para uma taxa de conversão de azoto (N) Kjeldahl de N x 6,25. O procedimento é utilizado particularmente para produzir um isolado de proteína de canola.

No procedimento descrito nos Pedidos de Patente dos E.U.A. supramencionados, a farinha de sementes oleaginosas é extraída com uma solução salina aquosa de grau alimentar. A solução de extracto de proteína resultante, após um tratamento inicial com um adsorvente de corante, se desejado, é reduzida em volume utilizando membranas de ultrafiltração para proporcionar uma solução de proteína concentrada possuindo um teor em proteína superior a cerca de 200 g/L. A solução de proteína concentrada é depois diluída em água gelada com uma temperatura inferior a cerca de 15°C, resultando na formação de uma nuvem branca de micelas de proteína que se deixam separar. Após remoção do sobrenadante, a massa pegajosa, viscosa, precipitada (PMM) é seca.

Numa concretização do processo descrito no Pedido de Patente dos E.U.A. supramencionado N.º 60/288 415 (WO 02/089 597), como é aplicado a isolado de proteína de canola e como descrito nos Pedidos de Patente dos E.U.A. N.^{os} 60/326 987, 60/331 066, 60/333 494, 60/374 801 e 10/137 391 (WO 02/089597), o sobrenadante do passo de sedimentação de PMM é processado para recuperar um isolado de proteína compreendendo proteína seca a partir da PMM húmida e de sobrenadante. Isto pode ser efectuado inicialmente por concentração do sobrenadante utilizando membranas de ultrafiltração, mistura do sobrenadante concentrado com a PMM húmida e secagem da mistura. O isolado de proteína de canola resultante tem uma pureza elevada de pelo menos cerca

de 90% p/p de proteína, preferivelmente pelo menos cerca de 100% p/p, para uma taxa de conversão Kjeldahl de N x 6,25. Este último produto é denominado "Puratein" pelos requerentes.

Nos Pedidos de Patente dos E.U.A. N.^{os} 60/331 646 depositado em 20 de Novembro de 2001 e 60/383 809 depositado em 30 de Maio de 2002 (WO 03/043439), atribuídas ao presente cessionário e cujas revelações são aqui incorporadas por referência, é descrito um processo contínuo para produção de isolados de proteína de canola. De acordo com este processo, farinha de sementes oleaginosas de canola é misturada continuamente com uma solução salina de grau alimentar, a mistura é transportada através de uma tubagem extraindo ao mesmo tempo proteína a partir da farinha de sementes oleaginosas de canola para formar uma solução de proteína aquosa, a solução de proteína aquosa é continuamente separada da farinha de sementes oleaginosas de canola residual, a solução de proteína aquosa é transportada continuamente através de uma operação de membrana selectiva para aumentar o teor em proteína da solução de proteína aquosa até pelo menos cerca de 200 g/L mantendo ao mesmo tempo a força iônica substancialmente constante, a solução de proteína concentrada resultante é continuamente misturada com água gelada para causar a formação de micelas de proteína, e deixam-se as micelas de proteína sedimentar continuamente enquanto o sobrenadante é continuamente extravasado até a quantidade desejada de massa micelar de proteína se ter acumulado no vaso de decantação. A massa micelar de proteína é removida do vaso de decantação e pode ser seca. A massa micelar de proteína tem um teor em proteína de pelo menos cerca de 100% p/p conforme determinado pelo azoto Kjeldahl (N x 6,25). Como no caso dos Pedidos de Patente dos E.U.A. pendentes supramencionados, o sobrenadante extravasado pode ser processado para recuperar um isolado de proteína compreendendo proteína seca a partir da PMM húmida e de sobrenadante. Este procedimento pode também ser efectuado numa base semi-contínua.

Como descrito no Pedido de Patente dos E.U.A. N.^o 60/332 165 depositada em 15 de Abril de 2002 (WO 03/088760), atribuída ao presente cessionário e cuja revelação é aqui incorporada por referência, a PMM sedimentada e a proteína obtida a partir do sobrenadante têm diferentes proporções

relativas das proteínas 12S, 7S e 2S de proteína de canola. O isolado de proteína derivado, possuindo um teor em proteína de pelo menos cerca de 90% p/p, preferivelmente pelo menos cerca de 100% p/p, tem um teor em componente de proteína de cerca de 60 a cerca de 98% p/p de proteína 7S, cerca de 1 a cerca de 15% p/p de proteína 12S e 0 a cerca de 25% p/p de proteína 2S. O isolado de proteína de canola obtido a partir de sobrenadante possuindo um teor em proteína de pelo menos cerca de 90% p/p, preferivelmente pelo menos cerca de 100% p/p, tem um teor em componente de proteína de 0 a cerca de 5% p/p de proteína 12S, cerca de 5 a cerca de 40% p/p de proteína 7S e cerca de 60 a cerca de 95% p/p de proteína 2S.

Na WO 02/089597, cuja revelação é relevante apenas para a novidade do presente invento, são revelados isolados de proteína de canola, obtidos tanto a partir de PMM como de sobrenadante da formação de PMM, com ambos os isolados possuindo um teor em proteína superior a cerca de 100% p/p ($N \times 6,25$). A PMM húmida pode ser combinada com sobrenadante concentrado antes de secar as correntes combinadas. Não são reveladas quaisquer composições alimentares compreendendo um produto alimentar e um isolado de proteína.

Um artigo intitulado "Potential global source of high quality plant protein" em Asia Pacific Food Industry, Abril 2001, págs. 30-34, descreve um isolado de proteína de canola obtido a partir de micelas possuindo um teor em proteína de 107% p/p ($N \times 6,25$) que possui uma ampla variedade de propriedades funcionais. A utilização de sobrenadante da formação de micelas não é mencionada.

O processamento do sobrenadante do passo de sedimentação de PMM para remover um isolado de proteína compreendendo proteína seca a partir da PMM húmida e de sobrenadante é então uma mistura dos isolados obtidos a partir das fontes respectivas e exibe um teor em componente de proteína compósito.

A canola é também denominada colza ou sementes oleaginosas de colza.

SUMÁRIO DO INVENTO

Constatou-se agora que o isolado de proteína de canola misturado de elevada pureza produzido pelo procedimento dos pedidos de patente pendentes supramencionados ("Puratein") tem uma funcionalidade geral em produtos alimentares, única entre materiais proteicos. A capacidade de utilizar uma proteína que é de origem vegetal em produtos alimentares permite proporcionar produtos alimentares verdadeiramente vegetarianos em casos onde se tem utilizado proteína de clara de ovo e/ou de origem animal na ausência de qualquer substituto disponível.

O presente invento proporciona, um método de formação de uma composição alimentar, que compreende:

extracção de uma farinha de sementes oleaginosas de canola com uma solução salina aquosa para formar uma solução de proteína aquosa;

redução do volume da solução de proteína aquosa utilizando membranas de ultrafiltração para proporcionar uma solução de proteína concentrada possuindo um teor em proteína superior a 200 g/L;

diluição da solução de proteína concentrada em água gelada com uma temperatura inferior a cerca de 15°C para formar uma nuvem de micelas de proteína;

sedimentação das micelas de proteína para formar uma massa pegajosa, viscosa, e um sobrenadante;

concentração do sobrenadante;

mistura do sobrenadante concentrado com a massa pegajosa, viscosa;

secagem da mistura resultante para proporcionar um isolado de proteína de canola substancialmente não desnaturado possuindo um teor em proteína de pelo menos 90% p/p preferivelmente pelo menos 100% p/p ; e

produção de uma composição alimentar compreendendo um produto alimentar e o referido isolado de proteína de canola substancialmente não desnaturado como um componente proporcionando funcionalidade na referida composição alimentar.

Preferivelmente, o referido isolado de proteína proporciona funcionalidade à composição alimentar como proteína solúvel ou para proporcionar uma funcionalidade de formação de espuma, formação de película, ligante de água, coesão, espessante, gelificante, elasticidade, emulsificação, ligante de gordura ou de formação de fibra.

Preferivelmente, o referido isolado de proteína é incorporado na referida composição alimentar em substituição de clara de ovo, proteínas do leite, ovos inteiros, proteínas de carne ou gelatina.

O isolado de proteína de canola pode ser utilizado em aplicações convencionais de isolados de proteína, tais como reforço de proteína de alimentos processados, emulsificação de óleos em água, formadores de corpo (*body formers*) em bens cozidos e agentes de formação de espuma em produtos que aprisionam gases. O isolado de proteína de canola tem também funcionalidades não exibidas pelo material de origem e propriedades isoeléctricas. O isolado de proteína de canola tem certas funcionalidades em comum com os produtos descritos nas patentes Murray I da especialidade anterior, incluindo a capacidade de ser formado em fibras de proteína e a capacidade de ser utilizado como um substituto ou extensor de clara de ovo em produtos alimentares, onde se utiliza clara de ovo como ligante. Como aqui descrito, o isolado de proteína de canola tem outras funcionalidades.

A funcionalidade de proteína pode ser categorizada em várias propriedades. A Tabela I seguinte lista estas funcionalidades, produtos alimentares onde esta funcionalidade de proteína é proporcionada e proteína geralmente utilizada para este fim:

Tabela I

Propriedade	Produto alimentar	Proteína
1. Solubilidade	Bebidas	Proteínas de ovo e de soro do leite
2. Viscosidade	Molhos, sobremesas	Gelatina
3. Ligação de água	Salsichas, bolos	Proteína de carne, proteína de ovo
4. Gelificação	Iogurtes, sobremesas, queijo	Proteínas de ovo e leite, gelatina
5. Coesão/adesão	Carnes, salsicha, pasta	Proteínas de ovo e de soro do leite
6. Elasticidade	Carnes, produtos cozidos	Proteínas de ovo e de soro do leite, proteína de carne
7. Emulsificação	Salsichas, molhos	Proteínas de ovo e leite
8. Formação de espuma	Coberturas, nogados, gelado	Proteínas de ovo e leite
9. Ligação de gordura	Produtos cozidos, donutes	Proteínas de ovo e leite, glúten
10. Formação de película	Pães de passas e pães	Proteína de ovo, glúten
11. Formação de fibra	Análogos de carne	Proteína de carne

(* Esta Tabela I é obtida em parte a partir de Food Chemistry, Third Edition, 1996, Ed. Owen Fennema, Marcel Dekkar Inc., pág. 366).

Como se pode observar da Tabela I, a proteína de ovo tem uma vasta gama de funcionalidades mas não tão larga como o isolado de proteína de canola do presente invento. No entanto, o isolado de proteína de canola pode ser utilizado em cada uma destas aplicações para substituir a proteína geralmente utilizada para proporcionar as propriedades funcionais específicas. Em geral, o isolado de proteína de canola pode substituir ou acrescentar o produto de proteína existente, proporcionando ao mesmo tempo a funcionalidade desejada, especialmente para produtos vegetarianos ou produtos do tipo vegetariano, de um modo muito mais barato. Adicionalmente, o isolado de proteína de canola tem um perfil de aminoácidos de elevada qualidade, um perfil de sabor suave e não possui características de sabor nem factores nutricionais nocivos que afectem adversamente a sua utilização em aplicações de produtos alimentares.

Nas funcionalidades enumeradas na Tabela I, certas funcionalidades são similares e possivelmente complementares, pelo que as funcionalidades podem ser classificadas em categorias, como se segue:

Grupo Categorias

- A #8 Formação de espuma e #10 Formação de película
- B #1 Solubilidade e #3 Ligação de água
- C #5 Coesão/Adesão
- D #2 Viscosidade (espessamento), #4 Gelificação e #6 Elasticidade
- E #7 Emulsificação e #9 Ligação de gordura
- F #11 Formação de fibra

DESCRIÇÃO GERAL DO INVENTOSolubilidade:

Como mencionado anteriormente, uma das funções que o isolado de proteína de canola possui é a solubilidade em meios aquosos, tais como água. O isolado de proteína de canola é altamente solúvel em água na presença de cloreto de sódio, sendo menos solúvel na ausência de cloreto de sódio. A solubilidade da proteína altera-se a vários níveis de pH, temperaturas e concentrações de sódio. O leite é uma dispersão de proteínas contendo cerca de 4% p/p de proteína dispersa na fase aquosa. A clara de ovo líquida, utilizada numa variedade de aplicações alimentares, contém cerca de 10% p/p de proteínas de ovo.

Um exemplo onde estes alimentos de proteína podem ser utilizados, na concentração apropriada, é numa bebida proteica.

Viscosidade:

Como acima mencionado, uma das funções que o isolado de proteína de canola possui é a capacidade para actuar como agente espessante para aumentar a viscosidade em vários produtos alimentares. O isolado de proteína de canola pode ser utilizado como um substituto para gelatina, amidos e gomas de xantano geralmente utilizadas para este propósito, por exemplo, em queijos moles, molhos, sobremesas, tais como pudim Jello®, e molhos.

Ligaçāo de água:

As propriedades de ligação de água de proteínas são utilizadas em salsichas e bolos para reter humidade no produto cozinhado. O isolado de proteína de canola pode ser utilizado para substituir, parcialmente ou totalmente, o ovo e as proteínas de origem animal geralmente utilizadas para este propósito nestes produtos.

Gelificação:

As propriedades de gelificação de proteínas são utilizadas em iogurtes, sobremesas e queijo bem como em vários análogos de carne, tais como um análogo de bacon. Proteínas de ovo e leite bem como gelatina, geralmente utilizadas para este propósito, podem ser substituídas, parcialmente ou totalmente, pelo isolado de proteína de canola aqui proporcionado.

Coesão/Adesão:

Uma variedade de carnes, salsichas e massa utilizam proteína de ovo e/ou proteína de soro do leite para estas propriedades na sua formulação para aglutinar os componentes do alimento e depois são coaguladas ao serem aquecidas. O isolado de proteína de canola pode substituir, parcialmente ou totalmente, estas proteínas geralmente utilizadas e proporcionar as funções requeridas.

Uma aplicāção destas propriedades é um hambúrguer vegetariano, onde clara de ovo, geralmente utilizada para proporcionar coesão/adesão do substituto de carne moída pode ser substituída pelo isolado de proteína de canola. Outras possibilidades são o rolo de carne e as almôndegas, outra vez como um substituto da proteína de ovo.

Elasticidade:

O isolado de proteína de canola pode substituir, parcialmente ou totalmente, as proteínas de ovo e de carne em carnes, utilizadas para estes propósitos. Um exemplo do substituto de carne é num hambúrguer vegetariano.

Emulsificação:

Clara de ovo, gema de ovo e proteínas de leite são geralmente utilizadas para esta propriedade em salsichas, análogos de carne, tecido adiposo simulado, cremes para barrar de queijo e molhos para saladas, para conseguir a emulsificação de gorduras e óleos presentes nestes produtos. O isolado de proteína de canola pode ser utilizado como um substituto, parcialmente ou totalmente, para as proteínas de ovo e leite para proporcionar a propriedade.

Formação de espuma:

As propriedades de formação de espuma de clara de ovo e de proteína de leite para proporcionar uma estrutura arejada estável, utilizada em produtos tais como gelado, nogados, macaroons e merengues, podem ser reproduzidas por utilização do isolado de proteína de canola.

Ligaçāo de gordura:

Proteínas de ovo e leite têm sido geralmente utilizadas em produtos cozidos e donutes para propriedades de ligação de gordura. O isolado de proteína de canola pode substituir estes materiais, parcialmente ou totalmente, e proporcionar a propriedade requerida. Esta propriedade pode ser utilizada em misturas para bolachas.

Formação de película:

O isolado de proteína de canola pode ser utilizado pelas suas propriedades de formação de película em pães e pães de passas. As propriedades de formação de película podem também ser utilizadas para proporcionar revestimentos comestíveis em frutas, tais como maçãs.

Formação de fibra:

O isolado de proteína de canola pode ser formado em fibras de proteína por um procedimento de formação de fibra, tal como descrito nas Patentes dos E.U.A. N.^{os} 4 328 252, 4 490 397 e 4 501 760. Estas fibras de proteína podem ser utilizadas pela sua textura dura numa variedade de análogos de carne, tal como um análogo de lanche de carne, salsicha

de pequeno-almoço isenta de carne, um análogo de bacon, tecido adiposo simulado e um análogo de marisco, tal como análogos de camarão e de caranguejo, bem como outros produtos alimentares.

Assim, o isolado de proteína de canola proporciona um substituto para uma variedade de ingredientes alimentares (tanto proteicos como não proteicos) para proporcionar um largo espectro de funcionalidade não anteriormente observado. O isolado de proteína de canola substitui clara de ovo, gema de ovo, proteína de soja, goma de xantano, gelatina e proteína de leite numa variedade de produtos alimentares. O isolado de proteína de canola tem um sabor suave e não necessita de ser utilizado com aromas fortes ou especiarias.

EXEMPLOS

O invento é ilustrado pelos Exemplos seguintes:

Exemplo 1:

Este Exemplo ilustra a preparação de amostras de isolado de proteína de canola para testar a funcionalidade da proteína.

Adicionaram-se 'a' kg de farinha de canola comercial a 'b' L de solução de NaCl 0,15 M à temperatura ambiente, agitou-se 'c' minutos para proporcionar uma solução de proteína aquosa possuindo um teor em proteína de 'd' g/L. Removeu-se a farinha de canola residual e lavou-se sobre uma tela de filtro de vácuo. A solução de proteína resultante foi clarificada por centrifugação para produzir uma solução de proteína clarificada possuindo um teor em proteína de 'e' g/L seguindo-se a adição de 1% p/p de Carvão Activado em Pó (PAC, "Powdered Activated Carbon").

A solução de extracto de proteína ou uma alíquota 'f' da solução de extracto de proteína a partir do passo de tratamento com PAC foi reduzida em volume num sistema de ultrafiltração utilizando membranas de corte de peso molecular 30 000 (A09-13) ou 50 000 (A10-04, A10-05) dalton. A solução de proteína concentrada resultante tinha um teor em proteína de 'g' g/L.

Um sólido concentrado a 'h' °C foi diluído 1: 'i' em água da torneira a 4°C. Formou-se de imediato uma nuvem branca e deixou-se sedimentar. Removeu-se a água de diluição de cima e reduziu-se em volume por ultrafiltração utilizando uma membrana de 3 000 dalton por um factor de redução de volume de 'j' para proporcionar uma concentração de proteína de 'k' g/L. Adicionou-se o concentrado à massa pegajosa, viscosa, precipitada e secou-se a mistura. A proteína seca que se formou tinha um teor em proteína de 'l'% de proteína (N x 6,25 d.b.). Ao produto foi dada a designação CPI 'm'.

Os parâmetros específicos 'a' a 'm' para cinco amostras diferentes de isolado de proteína de canola (CPI) são apresentados na Tabela II seguinte:

TABELA II

m	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
A09-13	300	2000	30	20,4	18,8	(1)	219	20	10	12		99,3
A10-04	300	2000	30	28,4	27,6	(1)	186	28	10	11		100,3
A10-05	300	2000	30	27,7	21,9	(1)	281	27	15	21		102,3
A11-01	300	2000	30	23,7	20,7	400	200,2	32	15		104,7	102,8
BW-AL011-121-01A	1200	8000	30	24,5	17,8	(1)	284,7	31	10		279,2	100,5

(1) Foi processada toda a solução de extracto de proteína.

Exemplo 2:

Este Exemplo ilustra a utilização do isolado de proteína de canola numa bolacha (*trail mix cookie*) para ilustrar a ligação de gordura em vez da clara de ovo convencionalmente utilizada.

Prepararam-se bolachas a partir da formulação apresentada na Tabela III:

TABELA III

Ingrediente	Peso (g)	Percentagem (%)
Açúcar branco	104,6	11,3
Açúcar amarelo	88,3	9,6
Manteiga de amendoim espessa	208,5	22,6
Margarina	50,3	5,4
Baunilha	2,9	0,3
CPI A10-05	12,5	1,4
Água	91,6	9,9
Aveia moída	241,3	26,2
Bicarbonato de sódio	4,8	0,5
Sal	1,1	0,1
Aparas de chocolate	70,6	7,7
Passas	46,3	5,0
Total	922,8	100,0

Misturaram-se açúcar branco, açúcar amarelo e isolado de proteína de canola em pó num misturador de taça Hobart. Adicionaram-se a manteiga de amendoim e a margarina e mexeu-se durante 1,5 min na velocidade 1. Adicionaram-se a seguir baunilha e água e mexeu-se durante 1 minuto na velocidade 1. Pré-misturaram-se aveia moída, sal e bicarbonato de sódio e adicionaram-se à taça Hobart, mexeu-se a mistura durante 1 min na velocidade 1. Adicionaram-se aparas de chocolate e passas e mexeu-se durante 30 s na velocidade 1. A massa foi distribuída sobre uma forma de forno não aderente. O forno estava pré-aquecido a 350°F (175°C) e as bolachas foram cozidas durante 16 minutos no forno.

As bolachas (*trail mix cookies*) tinham uma cor castanha alourada e um aspecto robusto, espesso, similar ao controlo. A textura era dura, branda e molhada. Não foram detectados quaisquer odores e aromas estranhos.

Exemplo 3:

Este Exemplo ilustra a utilização do isolado de proteína de canola num nogado doce *light* para ilustrar a

formação de espuma em vez da clara de ovo convencionalmente utilizada.

Preparou-se uma barra de nogado doce *light* a partir da Formulação apresentada na Tabela IV seguinte:

TABELA IV

Ingrediente	Peso (g)	Percentagem (%)
Açúcar	655,6	47,7
Xarope de milho, <i>light</i>	338,4	24,6
Água (1)	226,3	16,5
CPI A9-13	11,7	0,9
Água de hidratação (2)	85,5	6,2
Aparas de chocolate	56,7	4,1
Sal	0,5	0,04
Total	1374,7	100,0

Isolado de proteína de canola, proteína, água (2) e sal foram batidos durante 1 minuto na velocidade 1 e depois 3 minutos na velocidade 3 utilizando um acessório batedor num misturador de taça Hobart e guardou-se no frigorífico até ser necessário. Uma espátula de borracha, o interior de uma caçarola grande e uma forma de bolo foram revestidos com uma pulverização culinária não aderente. O açúcar, xarope de milho e água (1) foram adicionados à caçarola e levou-se a mistura à ebulação sobre aquecimento médio. Cobriu-se a mistura e ferveu-se durante 3 minutos. Removeu-se a cobertura e limparam-se os lados da caçarola utilizando um pincel de pasteleiro mergulhado em água fria. Continuou-se a cozinhar e a agitar até se atingir uma temperatura de 270°F (130°C). Mediu-se a temperatura inclinando a panela e medindo a temperatura da solução. Removeu-se a caçarola do calor e arrefeceu-se a solução na caçarola num suporte de arrefecimento até 260°F (125°C). Verteu-se a mistura quente sobre a mistura de proteína batida enquanto se mexia utilizando o acessório de pá na velocidade 1 durante 3 minutos. Continuou-se a mexer a mistura durante 16 minutos adicionais. Adicionaram-se aparas de chocolate enquanto se mexia durante 1 minuto na velocidade 1 para permitir que as aparas se fundissem na mistura. Transferiu-se a mistura para

a forma de bolo e moldou-se em forma plana até uma altura de $\frac{3}{4}$ de polegada e congelou-se. A placa congelada foi cortada em quadrados e congelada sobre um tabuleiro de forno. Os quadrados de nogado congelados foram colocados num saco de congelador para armazenamento.

O nogado tinha um aspecto cremoso e uma cor de caramelo alourada. A textura era lisa, dura e branda. O nogado tinha um sabor doce e sem odores estranhos. O nogado doce era comparável em características de aroma, cor, textura e odor a um controlo à base de ovo.

Exemplo 4:

Este Exemplo ilustra a utilização do isolado de proteína de canola num merengue cozido para ilustrar a formação de espuma em vez da clara de ovo utilizada convencionalmente.

Preparou-se um merengue cozido a partir da formulação apresentada na Tabela V seguinte:

TABELA V

Ingrediente	Peso (g)	Percentagem (%)
CPI A10-05	11,6	3,5
Água	85,2	26,0
Sal	0,4	0,1
Açúcar superfino (1)	161,7	49,3
Açúcar granulado (2)	55,3	17,0
Amido de milho	8,9	2,7
Sumo de limão	4,7	1,4
Total	327,8	100,0

O isolado de proteína de canola foi disperso em água num misturador de taça Hobart. Mexeu-se a mistura na velocidade 3 durante 2,0 minutos (picos firmes). Adicionou-se gradualmente o açúcar superfino enquanto se mexia na velocidade 3 durante 2 minutos e 45 segundos. Rasparam-se os lados da taça e mexeu-se a mistura durante 5 segundos adicionais.

O açúcar normal e o amido de milho foram pré-misturados manualmente e a mistura seca resultante e o sumo de limão foram integrados na mistura de proteína com uma espátula de borracha (cerca de 20 voltas).

Porções de uma colher da mistura foram colocadas sobre um tabuleiro de forno forrado a papel culinário e cozidas num forno a 200°F (95°C) durante 3 horas. Desligou-se o forno e deixaram-se os merengues no forno de um dia para o outro.

Os merengues cozidos exibiam um aspecto e textura estaladiça, leve, arejada.

Exemplo 5:

Este Exemplo ilustra a utilização do isolado de proteína de canola num molho para salada para ilustrar a emulsificação em vez de ovo inteiro ou de gomas convencionalmente utilizados.

Preparou-se um molho para salada a partir a formulação apresentada na Tabela VI seguinte:

TABELA VI

Ingrediente	Peso (g)	Percentagem (%)
CPI A10-05	1,2	0,5
Vinagre, ácido acético a 5%	31,0	14,0
Óleo de canola	147,0	66,2
Açúcar, fino granulado	19,9	9,0
Sal	0,5	0,2
Pimenta	0,4	0,2
Água	22,0	9,9
Total	222,0	100,0

Isolado de proteína de canola, açúcar, sal e pimenta foram colocados num misturador de taça Hobart. Adicionaram-se depois vinagre e água. Mexeu-se a mistura na velocidade 3 utilizando o acessório batedor durante 30 segundos. Rasparam-se depois os lados e o fundo da taça. Mexeu-se a

mistura na velocidade 3 durante mais 5 minutos adicionando lentamente o óleo.

O molho emulsionado para salada tinha uma cor alourada leve típica de molho de vinagrete comercial. As partículas de pimenta estavam suspensas através da emulsão. O molho tinha um sabor a vinagre aceitável e uma textura arejada leve. Não foram detectados quaisquer odores e aromas estranhos.

Exemplo 6:

Este Exemplo ilustra a utilização do isolado de proteína de canola em pães de passas com cobertura (*glazed hot cross buns*) em vez de clara de ovo ou de ovo inteiro convencionalmente utilizados e ilustrando as propriedades de formação de película.

Prepararam-se os pães de passas com cobertura a partir da formulação apresentada na Tabela VII seguinte:

TABELA VII

Formulação para pão de passas		
Ingrediente	Lote Produzido (g)	Percentagem (%)
Mistura para pão de passas preparada no dia	340,8	49,5
Água	170,4	24,8
Levedura (acção rápida)	6,3	0,9
Passas	85,2	12,4
Mistura de frutas (mistura cristalizada para bolos)	85,2	12,4
Total	687,9	100,0
Formulação para a cobertura		
Ingrediente	Lote Produzido (g)	Percentagem (%)
CPI A10-02	12,0	21,3
Sal	0,3	0,7
Água	44,0	78,0
Total	56,3	100,0

Mistura para pão de passas, levedura e água foram colocados num misturador de taça Hobart e misturou-se com o

acessório de pá na velocidade 1 durante 3 minutos. A massa foi amassada sobre uma tábua de cozinha até estar firme, não pegajosa e elástica. Pesaram-se as passas e a mistura de frutas numa taça e adicionou-se 1 colher de chá de farinha. Misturaram-se manualmente a fruta e a farinha para revestir levemente a superfície da fruta. Em seguida, adicionou-se a fruta à massa no misturador de taça Hobart e mexeu-se na velocidade 1 durante 1 minuto. Removeu-se a pá e arredondou-se ligeiramente a massa. Cobriu-se a massa com um pano de louça e deixou-se fermentar durante 20 minutos. Pesou-se a massa sobre uma tábua de cozinha em porções de 50 g, cobriu-se com um pano de louça e deixou-se em repouso durante 15 minutos. Arredondou-se a massa e enformou-se numa forma para bolos, cobriu-se a massa com um pano de louça e fermentou-se durante 90 minutos colocando a forma sobre uma placa de fogão aquecida.

Preparou-se um banho de proteína por mistura do isolado de proteína de canola, sal e água. Revestiu-se a superfície da massa quatro vezes com banhos de proteína utilizando um pincel de pasteleiro. Depois cozeu-se a massa a 380°F (195°C) durante 17 minutos.

A superfície dos pães de passas estava de cor alourada e brilhante com uma película exterior firme. Não foram detectados quaisquer odores e aromas estranhos.

Exemplo 7:

Este Exemplo ilustra a utilização da proteína de canola em pães de leite com cobertura (*glazed dinner rolls*) em vez de clara de ovo convencionalmente utilizada e ilustrando propriedades de formação de película.

Prepararam-se pães de leite com cobertura a partir da formulação apresentada na Tabela seguinte VIII:

TABELA VIII

Formulação de pão de leite		
Ingrediente	Lote produzido (g)	Percentagem (%)
Água, da torneira	265,0	33,0
Farinha	430,0	53,5
Leite em pó desnatado	9,9	1,2
Açúcar	46,6	5,8
Sal	5,1	0,6
Manteiga	40,0	5,0
Levedura (seca de acção instantânea)	7,2	0,9
Total	803,8	100,0
Formulação para a cobertura		
Ingrediente	Lote produzido (g)	Percentagem (%)
CPI A10-05	12,0	21,3
Sal	0,3	0,7
Água	44,0	78,0
Total	56,3	100,0

Adicionou-se água tépida a uma forma de pão (Westbend Automatic Bread and Dough Maker). Adicionaram-se a farinha, leite em pó, açúcar e sal à forma de pão e bateu-se suavemente na forma de pão para nivelar os ingredientes. Cortou-se a manteiga em 4 pedaços e colocaram-se em cada canto da forma de pão. Formou-se uma cova nos ingredientes secos (impedindo a exposição de açúcar à levedura) e adicionou-se a levedura ao interior da cova. Ajustou-se a máquina de pão para "Massa" (1 hora, 20 minutos) e a máquina começou a trabalhar e trancou-se. Após terminar, removeu-se a massa e colocou-se sobre uma tábua de cozinha polvilhada com farinha, cobriu-se e deixou-se repousar 15 minutos. Moldou-se a massa em pães (18), que foram colocados num tabuleiro de forno, cobriram-se e deixaram-se levedar (até duas vezes o seu tamanho) num ambiente aquecido sem correntes de ar (60 minutos).

Preparou-se um banho de proteína por mistura do isolado de proteína de canola, sal e água. Pincelaram-se os topos dos pães quatro vezes com o banho de proteína utilizando um

pincel de pasteleiro. Os pães foram depois cozidos a 350°F (195°C) durante 18 minutos.

A superfície dos pães de leite era brilhante, lustrosa e castanha alourada com uma película exterior firme. Não foram detectados quaisquer odores e aromas estranhos.

Exemplo 8:

Este Exemplo ilustra a utilização do isolado de proteína de canola num molho de caramelo, em vez do amido de milho convencionalmente utilizado, e ilustrando as propriedades de viscosidade do isolado.

Preparou-se um molho de caramelo a partir da formulação apresentada na Tabela IX seguinte:

TABELA IX

Ingrediente	Tamanho de lote produzido (g)	Percentagem (%)
Leite evaporado, 2% m.f	407,6	66,1
GPI A10-05	6,0	1,0
Açúcar amarelo	75,6	12,3
Açúcar branco	106,3	17,2
Margarina	15,0	2,4
Extracto de baunilha, puro	5,9	1,0
Total	616,4	100,0

Combinaram-se o leite evaporado e o isolado de proteína de canola numa caçarola e agitou-se com uma espátula de borracha até estarem dissolvidos. Adicionaram-se margarina, baunilha, açúcar branco e açúcar amarelo e agitou-se a mistura com um batedor, e cozinhou-se com um aquecimento médio até a mistura atingir 85°C (185°F) e depois manteve-se durante 20 minutos.

O molho de caramelo parecia cremoso, consistente e tinha uma cor de caramelo alourada e um ligeiro odor a caramelo. A textura era consistente e uniforme similar a um molho de caramelo de controlo espessado com amido de milho.

O molho tinha um sabor a caramelo, rico, doce, com um ligeiro gosto amanteigado.

Exemplo 9:

Este Exemplo ilustra a utilização do isolado de proteína de canola numa maionese em vez da gema de ovo convencionalmente utilizada e ilustrando a emulsificação.

Preparou-se uma maionese a partir da formulação apresentada na Tabela X seguinte:

TABELA X

Ingrediente	Lote produzido (g)	Percentagem (%)
CPI A10-04	2,6	1,0
Leite em pó desnatado, baixa temp.	1,8	0,7
Água	38,3	14,6
Mostarda em pó	1,6	0,6
Açúcar, branco granulado fino	4,4	1,6
Óleo de canola (1)	38,6	14,7
Vinagre, ácido acético a 5%	10,9	4,2
Óleo de canola (2)	159,4	60,8
Sumo de limão	4,8	1,8
Total	262,4	100,0

O isolado de proteína de canola e o leite em pó desnatado foram colocados num misturador de taça Hobart. Adicionou-se a água à taça Hobart e mexeu-se manualmente a mistura para molhar os ingredientes secos. Adicionaram-se o açúcar e a mostarda em pó aos ingredientes misturados e mexeu-se durante 2 minutos utilizando o acessório batedor na velocidade 3. Parou-se a mistura e rasparam-se os lados e o fundo da taça. Adicionou-se uma primeira quantidade de óleo de canola (1) e mexeu-se durante 30 segundos. Raspou-se a taça. Adicionou-se o vinagre e mexeu-se durante 30 segundos. Raspou-se a taça. Colocou-se a segunda quantidade de óleo de canola (2) num saco estilo Ziploc selado e efectuou-se uma abertura, do tamanho do furo de uma agulha, num canto do saco. Adicionaram-se simultaneamente o óleo de canola e o sumo de limão mexendo durante 5 minutos na velocidade 3.

Raspou-se a taça e mexeu-se a mistura durante 30 segundos adicionais na velocidade 3.

A maionese tinha uma sensação na boca cremosa, suave, e uma cor amarela-clara leve. A maionese era espalhável com uma faca e tinha uma textura similar à do produto de controlo preparado com gema de ovo. Não foram detectados quaisquer odores e aromas estranhos.

Exemplo 10:

Este Exemplo ilustra a utilização do isolado de proteína de canola em donutes em vez do ovo inteiro convencionalmente utilizado e para ilustrar a propriedade de absorção de gordura reduzida.

Prepararam-se donutes a partir da formulação apresentada na Tabela XI seguinte:

TABELA XI

Ingrediente	Peso (g)	Percentagem (%)
Farinha	480,6	47,0
Açúcar, fino granulado	217,7	21,3
Fermento em pó	16,2	1,6
Sal	3,0	0,3
Canela	2,3	0,2
Manteiga, salgada	23,6	2,3
CPI A9-13	12,3	1,2
Água	90,3	8,8
Leite, 2%	176,5	17,3
Total	1022,5	100,0

Açúcar, fermento em pó, sal, canela, isolado de proteína de canola e metade da farinha foram colocados uma taça de mistura Hobart. Misturaram-se os ingredientes a seco com um garfo até todos os ingredientes secos estarem uniformemente dispersos. Em seguida, adicionaram-se à taça manteiga, água e leite. Mexeu-se a mistura durante 30 segundos na velocidade 1 utilizando o acessório de pá. Rasparam-se o fundo e os lados da taça e a pá, e mexeu-se a

mistura durante 2 minutos na velocidade 2. Durante a mistura, parou-se o misturador após 1 minuto e rasparam-se o fundo e os lados da taça e a pá. Adicionou-se a restante farinha enquanto se mexia na velocidade 1 durante 1 minuto.

Colocou-se a massa resultante sobre uma tábua de cozinha polvilhada com farinha, amassou-se numa bola, polvilhou-se com farinha a superfície da bola e depois estendeu-se até meia polegada de espessura. Cortou-se a folha de massa com um cortante de dónute e colocaram-se os donutes e os centros sobre papel culinário.

Uma fritadeira (SEB Safety Super Fryer Model 8208) foi pré-aquecida a uma temperatura regulada de 374°F (190°C). Colocaram-se os dónutes no cesto da fritadeira e fritaram-se durante 60 segundos de cada lado. Os dónutes fritos foram colocados sobre suportes de grelhador cobertos com papel de cozinha.

Os dónutes tinham uma cor castanha alourada e uma superfície exterior uniforme, lisa. A textura era do tipo bolo com uma superfície ligeiramente estaladiça. Os dónutes tinham um sabor a canela doce e não exibiam quaisquer aromas ou odores estranhos em comparação com o controlo.

Prepararam-se dónutes como acima descrito utilizando isolado de proteína de canola A10-05 e comparou-se o teor em gordura dos donutes com o de donutes preparados utilizando ovo em vez do isolado de proteína de canola. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela XII seguinte:

TABELA XII

Proteína	Gordura %		
	Dónute cru	Dónute frito	Diferença
Ovo inteiro fresco	5,0	22,2	+17,2
Ovo inteiro seco	5,0	22,9	+17,9
Puratein A10-05 a 100%	4,0	16,8	+12,8
Puratein e ovo inteiro seco 50/50	3,0	17,2	+14,2
Puratein e ovo inteiro seco 75/25	4,4	16,4	+12,0

Estes resultados mostram uma menor absorção de gordura utilizando o isolado de proteína de canola em comparação com produtos de ovo inteiro.

Exemplo 11:

Este Exemplo ilustra a utilização do isolado de proteína de canola em vegetais e peixes albardados (*battered*) em vez de ovo inteiro convencionalmente utilizado, ilustrando propriedades de adesão.

Vegetais e peixes albardados foram preparados a partir da formulação apresentada na Tabela XIII seguinte:

TABELA XIII

Ingrediente	Peso (g)	Percentagem (%)
Farinha	128,0	32,3
Fermento em pó	2,5	0,6
Açúcar	4,8	1,2
Sal	2,7	0,7
Leite, desnatado	182,6	46,0
CPI A9-13	6,2	1,6
Água	45,8	11,5
<i>Shortening</i>	24,1	6,1
Óleo de canola para fritar	-	-
Total	396,7	100,0

Descascaram-se as cebolas e cortaram-se em fatias de $\frac{1}{4}$ de polegada e separaram-se em anéis. Lavaram-se cogumelos e curgetes e depois cortaram-se as curgetes em fatias de $\frac{1}{4}$ de polegada. Cortou-se o peixe em tiras de 2 polegadas.

Misturou-se a farinha manualmente com proteína, fermento em pó, sal e açúcar. Mexeu-se a mistura a seco exaustivamente com um garfo. Derreteu-se a *shortening* num forno de microondas durante 45 segundos no nível 8. Combinaram-se leite, água e *shortening* derretida e adicionaram-se aos ingredientes secos. Mexeu-se a mistura manualmente até à consistência.

Mergulharam-se os pedaços de vegetais e de peixe na mistura de farinha. Baixou-se o cesto da fritadeira até à imersão em óleo de canola pré-aquecido a 374°F (190°C) e colocaram-se os pedaços albardados dentro do óleo de fritar. Fritaram-se os pedaços de ambos os lados (anéis de cebola e peixe - 30 a 45 segundos de cada lado, curgetes e cogumelos - 1 minuto de cada lado) e depois retiraram-se da fritadeira. Colocaram-se os alimentos sobre papel de cozinha para absorver o óleo.

Os pedaços de vegetais e peixe albardados e acabados de fritar eram de cor castanha alourada e estaladiços. A mistura de farinha aderiu bem aos pedaços. Os produtos albardados e os produtos de controlo preparados utilizando ovo inteiro eram similares em características sensoriais e de manipulação. Não foram detectados quaisquer odores ou aromas estranhos.

Exemplo 12:

Este Exemplo ilustra a utilização do isolado de proteína de canola na formação de proteína de canola texturada ou fiada.

As propriedades de formação de fibra de isolado de proteína de canola foram ilustradas na preparação de proteína de canola texturada. A proteína de canola texturada foi preparada utilizando isolado de proteína de canola produzido por molhagem de isolado seco por pulverização, utilizando as concentrações apresentadas na Tabela XIV seguinte:

TABELA XIV

Ingrediente	Quantidade (g)	Percentagem (%)
CPI A11-01	20,0	58,0
Água	14,5	42,0
Total	34,5	100,00

Isolado de proteína de canola seco por pulverização e água foram colocados numa taça. A proteína foi dispersa agitando manualmente a solução com uma colher até toda a proteína estar molhada. Adicionou-se esta mistura líquida a

uma seringa de 5 cm³ e depois extrudiu-se para dentro de água mantida entre 95°C e 99°C. Formaram-se fibras longas do tipo esparguete através da superfície da água. Os fios longos de proteína foram virados manualmente de modo a facilitar o tratamento térmico uniforme de ambos os lados do produto. Removeram-se os fios longos da água e removeu-se o excesso de água utilizando panos absorventes.

Os isolados de proteína de canola formaram fibras elásticas longas, de cor amarela alourada.

Exemplo 13:

Este Exemplo ilustra a solubilidade do isolado de proteína de canola.

Combinaram-se 10 g de isolado de proteína de canola seco BW-AL011-I21-01A, preparado como descrito no Exemplo 1, com 400 ml de água destilada num copo de 600 ml para preparar uma solução de proteína a 2,5% p/p. Mexeu-se a solução de proteína por homogeneização durante 2 minutos a 4500 rpm, até se formar uma lama consistente. Determinou-se o pH da solução de proteína e dividiu-se a solução em volumes iguais para ajustamento de pH, um para ajustamento alcalino e o outro para ajustamento ácido.

Ajustou-se o pH da solução de proteína a 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5 e 8,0 com NaOH 0,1 M ou HCl a 5%. Colheu-se uma pequena amostra de cada solução de pH ajustado para determinação da proteína. Verteram-se 30 ml das soluções de pH ajustado em frascos de centrifugadora de 45 ml e centrifugou-se durante 10 minutos a 10 000 rpm. Após centrifugação, determinou-se a concentração de proteína no sobrenadante para cada uma das amostras de pH ajustado.

A % de Solubilidade da proteína foi determinada a partir da relação:

$$\% \text{ de Solubilidade} = \frac{\% \text{ de proteína após centrifugação}}{\% \text{ de proteína antes da centrifugação}} \times 100$$

Os resultados obtidos são apresentados na Tabela XV seguinte:

TABELA XV

pH	% de proteína média antes da centrifugação ($\pm 0,2\%$)	% de proteína média após centrifugação ($\pm 0,2\%$)	% de Solubilidade média
4,0	2,05	1,80	87,80
4,5	2,04	1,94	95,01
5,0	1,92	1,79	93,23
5,5	1,49	1,33	89,26
6,0	1,18	1,04	88,14
6,5	1,73	1,28	73,99
7,0	1,81	1,43	78,45
7,5	1,78	1,46	82,03
8,0	1,90	1,81	95,26

Como se pode observar a partir dos resultados na Tabela XV, o isolado de proteína de canola era bastante solúvel para todos os pH testados, mas tem a menor solubilidade à volta de pH neutro (6,5 a 7,0).

Exemplo

Este Exemplo ilustra as propriedades de formação de espuma do isolado de proteína de canola.

Colocaram-se 3,75 g de solução de proteína de canola BW-AL011-I21-01A, preparada como descrito no Exemplo 1, num copo de 150 ml. Adicionaram-se 60 ml de solução de NaCl 0,075 M à proteína, fazendo inicialmente uma pasta para dissolver a proteína com alguns ml de líquido. Mexeu-se a mistura utilizando uma barra de agitação magnética durante 10 minutos. Ajustou-se o pH da solução a 7,00 com NaOH 0,1 M, e agitou-se a solução durante mais 10 minutos. Reajustou-se o pH a 7,00 e acertou-se o volume de líquido a 75 ml com a quantidade requerida de NaCl 0,075 M, para proporcionar uma solução de proteína a 5% p/v. Verteram-se os 75 ml de solução numa taça de misturador Hobart e registrou-se o peso combinado de solução, taça e acessório batedor. Bateu-se a solução de proteína na velocidade 3 durante 5 minutos.

Retirou-se gentilmente espuma suficiente para encher duas chávenas taradas de 125 ml utilizando uma espátula de borracha. O excesso de espuma foi raspado utilizando o lado liso de uma faca grande, para nivelar o topo da espuma mesmo com o topo da chávena de medição, e registou-se o peso da espuma. Colocou-se de novo a espuma gentilmente na taça de mistura e bateu-se durante outros 5 minutos. Repetiu-se depois este procedimento. Colocou-se de novo a espuma gentilmente na taça de mistura e bateu-se durante 5 minutos adicionais num total de 15 minutos. Repetiu-se de novo o procedimento.

A expansão (overrun) foi calculada a partir da equação seguinte:

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

Testou-se também a estabilidade da espuma. Preparou-se a solução de proteína do mesmo modo como descrito para a medição da % de expansão, excepto que a solução de proteína foi batida durante 15 minutos no nível 3. Utilizando uma espátula de borracha, transferiu-se cuidadosamente a espuma para dentro de um funil de gargalo comprido de 1 litro colocado por cima de uma proveta graduada de 250 ml. Colocou-se uma pequena quantidade de lã de quartzo na parte de cima do bico do funil, antes de transferir a espuma para impedir que a espuma escorresse permitindo ainda assim a drenagem do líquido.

Mediu-se o volume de líquido que foi recolhido no cilindro graduado aos 5, 10 e 15 minutos. O volume retido na lã foi adicionado ao volume final.

Repetiram-se as experiências para comparação com albumina de ovo, um isolado de proteína de soro de leite (da NZHP) e um isolado de proteína de soja (da ADM). Os resultados obtidos são apresentados nas Tabelas XVI, XVII, XVIII e XIX seguintes:

TABELA XVI

pH da solução de proteína após agitação		
Amostra de proteína	pH após 10 minutos de agitação	pH após 20 minutos de agitação
Albumina de ovo	6,88	6,95
Soro de leite	6,49	6,98
Soja	7,13	7,01
Puratein	5,73	6,94

TABELA XVII

Peso médio de espuma			
Amostra de proteína	5 minutos (g)	10 minutos (g)	15 minutos (g)
Albumina de ovo	10,16	6,42	6,57
Soro de leite	17,35	13,48	9,76
Soja	63,26*	58,53*	49,74*
Puratein	11,86	10,20	9,73

* Apenas pôde ser obtido um peso porque não bateu bem.

TABELA XVII

% de Expansão (overrun) média			
Amostra de proteína	5 minutos (%)	10 minutos (%)	15 minutos (%)
Albumina de ovo	1130,32	1847,04	1802,59
Soro de leite	620,46	827,30	1180,74
Soja	97,60	113,57	151,31
Puratein	953,96	1125,49	1184,69

* Assumir que o peso de 125 ml de solução de proteína é 125 g.

TABELA XIX

Volume de solução de proteína recolhida no funil			
Amostra de proteína	Drenagem aos 5 min (ml)	Drenagem aos 10 min (ml)	Drenagem aos 55 min (ml)
Albumina de ovo	0,0	1,0	5,0
Soro de leite	2,0	13,0	24,0
Soja	N/A*	N/A*	N/A*
Puratein	3,0	14,5	33,5

* A soja não espumou bem. Entupiu a lâ com uma substância gelatinosa quando vertida no funil, e não drenou. Assumir que todos os 75 ml seriam drenados de imediato.

Como se pode observar a partir dos resultados destas Tabelas, o isolado de proteína de canola criou uma boa espuma. Existe muito pouca diferença na % de expansão entre os 10 e 15 minutos para albumina de ovo e o isolado de proteína de canola, indicando que estas proteínas atingiram a sua capacidade de formação de espuma máxima numa quantidade de tempo mais curta. A quantidade considerável de drenagem a partir da espuma após 15 minutos indicou uma falta de estabilidade da espuma para o isolado de proteína de canola.

Exemplo 15:

Este Exemplo ilustra a capacidade de retenção de óleo do isolado de proteína de canola.

Utilizou-se a receita apresentada na Tabela XX para preparar a emulsão:

TABELA XX

Ingrediente	Percentagem de Receita (%)	Peso adicionado (g)
Proteína	0,11	0,50
Vinagre (Sem nome, ácido acético a 5%)	12,27	55,22
Óleo de canola (CSP Foods)	Desconhecido	Desconhecido
Açúcar (Rogers granulado fino)	9,10	4,095
Sal (Sifto)	0,27	1,22
Água destilada	11,65	52,43

O açúcar, sal e isolado de proteína de canola, BW-AL011-DI21-01A, preparado como descrito no Exemplo 1, foram misturados a seco num copo de 600 ml. Misturaram-se a água e o vinagre e adicionaram-se à proteína alguns ml de cada vez. Após cada adição, a solução de proteína foi mexida à mão para criar inicialmente uma pasta que foi diluída lentamente numa solução totalmente suspensa. Colocou-se depois a mistura sobre um agitador magnético e mexeu-se durante 5 minutos. Encheu-se um copo de 2000 ml com óleo de canola e registrou-se o peso. Colocou-se uma mangueira de aspiração no óleo.

A extremidade de distribuição da mangueira foi ligada a um homogeneizador e a bomba foi engodada com óleo utilizando

a posição #1 para entregar aproximadamente 40 a 50 ml/min. Ao mesmo tempo, ligou-se o homogeneizador (Silverson LHRT) a 5000 rpm e ligou-se a bomba para dispersar o óleo. Observou-se visualmente o ponto para o qual a emulsão era mais viscosa. No ponto de inversão, a bomba e homogeneizador foram então desligados imediatamente. A extremidade da mangueira de aspiração foi apertada com um clipe para manter o óleo dentro desta e determinou-se o peso de óleo que ficou no copo de 200 l.

Repetiu-se a experiência utilizando gema de ovo, goma de xantano (da Kelco Biopolymers) e isolado de proteína de soja (da ADM). Determinou-se a capacidade média de retenção de óleo das emulsões para as várias fontes de proteína e os resultados obtidos são apresentados na Tabela XXI seguinte:

TABELA XXI

Amostra	Peso de óleo adicionado (g)	Volume de óleo adicionado (ml)	mL de óleo/100 mg de proteína
Gema	163,07	146,93	58,77
Goma de xantano	88,09	79,37	31,75
Soja	91,50	82,44	32,98
Puratein	175,63	158,23	63,29

Como se pode observar a partir dos resultados apresentados na Tabela XXI, o isolado de proteína de canola teve um desempenho significativamente melhor do que a goma de xantano e a soja, para a capacidade de retenção de óleo, e o desempenho do isolado de proteína de canola é muito similar ao da gema de ovo.

SUMÁRIO DA REVELAÇÃO

Como sumário desta revelação, o presente invento proporciona uma variedade de produtos alimentares onde proteínas utilizadas para proporcionar uma vasta variedade de funcionalidades são substituídas, totalmente ou parcialmente, por um isolado de proteína de canola altamente puro.

Lisboa, 2008-12-23

REIVINDICAÇÕES

1. Método de formação de uma composição alimentar, que compreende:

extracção de uma farinha de sementes oleaginosas de canola com uma solução salina aquosa para formar uma solução de proteína aquosa;

redução do volume da solução de proteína aquosa utilizando membranas de ultrafiltração para proporcionar uma solução de proteína concentrada possuindo um teor em proteína superior a 200 g/L;

diluição da solução de proteína concentrada em água gelada com uma temperatura inferior a 15°C para formar uma nuvem de micelas de proteína;

sedimentação das micelas de proteína para formar uma massa pegajosa, viscosa, e um sobrenadante;

concentração do sobrenadante;

mistura do sobrenadante concentrado com a massa pegajosa, viscosa;

secagem da mistura resultante para proporcionar um isolado de proteína de canola substancialmente não desnaturado possuindo um teor em proteína de pelo menos 90% p/p; e

produção de uma composição alimentar compreendendo um produto alimentar e o referido isolado de proteína de canola substancialmente não desnaturado como um componente proporcionando funcionalidade na referida composição alimentar.

2. Método como reivindicado na reivindicação 1, onde o referido isolado de proteína proporciona funcionalidade à composição alimentar como proteína solúvel ou para proporcionar uma funcionalidade de formação de espuma, formação de película, ligante de água, coesão, espessante, gelificante, elasticidade, emulsificação, ligante de gordura ou formação de fibra.

3. Método como reivindicado na reivindicação 2, onde o referido isolado de proteína é incorporado na referida composição alimentar em substituição de clara de ovo, proteínas do leite, ovos inteiros, proteínas de carne ou gelatina.

4. Método como reivindicado em qualquer uma das reivindicações 1 a 3, onde o referido isolado de proteína de canola tem um teor em proteína de pelo menos 100% p/p (N x 6,25).

Lisboa, 2008-12-23

RESUMO

"Funcionalidade II de isolado de proteína de canola"

Um isolado de proteína de canola possuindo um teor em proteína de pelo menos cerca de 90% p/p ($N \times 6,25$) é utilizado como um substituto pelo menos parcial para pelo menos um componente proporcionando funcionalidade numa composição alimentar. O isolado de proteína de canola é uma mistura de isolado de proteína de canola na forma de uma massa de proteína amorfa formada por sedimentação da fase sólida de uma dispersão de micelas de proteína e mistura da massa amorfa com sobrenadante concentrado a partir do passo de sedimentação e secagem da mistura.