

P - 10.688

15/13/981-Gluten Case 6

207519



ENE 1953 207519

31 ENE. 1953

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar

P A T E N T E D E I N V E N C I O N

en

E S P A Ñ A

por VEINTE años

a nombre de PERCIVAL SYDNEY JEWELL y JAMES GORDON TRAVIS KING, de nacionalidad británica, residentes el 1º en 139 Queen Edith's Way y el 2º en 79º Whitehill Road, ambos en Cambridge, Inglaterra, por:

"UN PROCEDIMIENTO DE PREPARAR UNA EMULSION ACUOSA ESTABLE DE GLUTEN".

- 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 -

Este invento se refiere a perfeccionamientos relativos a la preparación de un material que es particularmente adecuado para su empleo como alimento y es una mo-



31515

207519

dificación del procedimiento para la producción de emulsiones acuosas estables de gluten, descrita en las solicitudes números 201.339, 201.619 y 207.473.

En la solicitud No. 201.339 se describe
5 un procedimiento para la producción de una emulsión acuosa estable de gluten, que comprende tratar gluten en suspensión en agua con levadura a una temperatura dentro de la gama de 28 a 36°C durante un tiempo suficiente para producir una emulsión cremosa. Se dice además que la gama
10 de temperatura preferida es de 31 a 33°C. En la solicitud número 201.619, se describe un procedimiento para producir una emulsión similar en el cual se trata gluten con emulsión de inoculación, que puede ser una emulsión preparada por la acción de levadura sobre gluten o una emulsión preparada usando en lugar de levadura una cantidad de una
15 emulsión preparada por una operación anterior de ese procedimiento. En este caso se dice también que el tratamiento debe realizarse a una temperatura dentro de la gama de 28 a 36°C y, con preferencia, entre 31 y 33°C. Además, en
20 nuestra solicitud No. 207.473, se describe una modificación del procedimiento de la solicitud No. 201.619, en la cual harina de trigo o de centeno se trata en presencia de agua a una temperatura de 28 a 36°C, con preferencia desde 31 a 33°C, con una emulsión de inoculación según
25 se define en las solicitudes citadas. En todas estas solicitudes anteriores, la gama de temperatura de 28 a 36°C se da como límite operativo del procedimiento, siendo de-



207519

terminado el límite inferior por el hecho de que por debajo
de esta temperatura el procedimiento no opera económicamente
y el límite superior por el hecho de que por encima de 36°C,
ocurren indeseadas reacciones secundarias, particularmente
5 la formación de olores desagradables que son debidos, po-
siblemente, a la formación de ácido butírico.

Hemos descubierto ahora que la ocurrencia
de las reacciones secundarias indeseables, que conducen a
la formación de olores desagradables, es debida a la infec-
10 ción del gluten (o de la harina) usado por micro-organismos,
y aun cuando no deseamos vernos limitados por consideracio-
nes teóricas creemos que el organismo principal afectado
es una cepa de B. subtilis aunque pueden estar presentes
otros organismos y pueden dar también reacciones secunda-
15 rias indeseadas. Hemos descubierto también que es posible
realizar los procedimientos descritos en nuestras citadas
solicitudes por encima de 36°C con tal que de que se tomen
medidas para impedir la acción de dichos organismos conta-
minadores. Ha de observarse que la palabra "levadura" según
20 se emplea en esta Memoria designa una levadura de panadería,
es decir, un agente que puede usarse en la preparación del
pan, en oposición, por ejemplo, con las levaduras de cerve-
za o de vino.

El límite superior de la gama de temperatu-
25 ras en la cual puede operarse el procedimiento del presen-
te invento depende de si se usa emulsión de inoculación o
levadura, y en el último caso, de la naturaleza de la leva-

31 EN



207519

dura. Este límite superior parece depender de la cantidad del factor (cuya naturaleza nos es desconocida, pero que puede ser un enzima) que degrada el gluten para dar la emulsión, inicialmente presente. Dicho factor es formado, aparentemente, en el proceso. El límite superior de la temperatura de operabilidad es la temperatura a la cual la rapidez de su descomposición térmica excede de la rapidez de su formación y este límite sólo puede ser determinado por ensayos preliminares en cualquier caso dado. Hemos descubierto, por ejemplo, que para levaduras ordinarias, el límite superior es de aproximadamente 65°C, mientras que para algunas emulsiones de inoculación el límite es de 75°C. Las temperaturas a las cuales el procedimiento puede operar se denominan en esta Memoria "temperaturas de formación de la emulsión".

De acuerdo con el presente invento, por consiguiente, creamos un procedimiento para preparar una emulsión acuosa estable de gluten en el cual gluten o harina que contiene gluten se trata en presencia de agua con levadura o con una emulsión de inoculación como se define en esta Memoria a una temperatura de formación de la emulsión por encima de 36°C, en condiciones tales que el crecimiento y/o la acción de micro-organismos presentes que dan origen a la formación de olores fuertes indeseados, se inhiben en tal medida que dichos olores no son evidentes.

La expresión "emulsión de inoculación"

207519

31 EN



usada en esta Memoria tiene el significado que se le ha
dado en dicha solicitud No. 201.619, a saber, una emulsión
preparada por la acción de levadura sobre gluten o una
emulsión preparada por la acción de una emulsión previamen-
5 te preparada sobre gluten. Dependiendo del número de incuba-
ciones ~~partir~~ de una emulsión original preparada a partir
de levadura, podemos hablar de una emulsión de inoculación
de cuarta o quinta generación. En general, se encuentra que
la potencia emulgente de las emulsiones de inoculación
10 aumenta con el número de generaciones a partir de un proce-
so original con levadura.

Por experimentos que hemos realizado parece
que los organismos contaminadores comúnmente presentes en
el gluten son más activos en la gama de temperaturas de
15 36°C a 42°C. La magnitud del olor en esta gama depende de
un número de factores, de los cuales los más importantes
son (a) magnitud de la infección original, (b) la natura-
leza y magnitud del sustrato original, (c) rapidez de
formación y destrucción del factor que forma la emulsión,
20 y que probablemente es un enzima, (d) cantidad de dicho
factor usado como emulsión de inoculación y rapidez de des-
trucción y (e) presencia de otros factores diversos, por
ejemplo, carbohidratos, tales como dextrina, que pueden
ayudar a la rapidez de formación de dicho factor y de la
25 emulsión o a impedir la destrucción del enzima.

El producto secundario de la infección por
micro-organismos sólo se forma perceptiblemente a tempera-



207519

turas entre 36°C y 42°C, siendo este organismo inactivo por debajo de esta gama y muerto o inactivo por encima de ella. Si el procedimiento se realiza en condiciones estériles (usándose en esta Memoria el término "estéril" con referencia a los organismos contaminadores solamente) no ocurre producción de colores en la gama de temperatura de 36 a 42°C. Si existen organismos contaminadores en el caso de un procedimiento por emulsión de inoculación la producción de los colores puede aliviarse si la concentración de la emulsión de inoculación es lo bastante alta. Cuanto mayor sea el número de generaciones de la emulsión de inoculación, mayor será este efecto. Sin embargo, esto no es cierto para los procesos con levadura; cualquiera que sea la cantidad de levadura que se usa al comienzo del proceso, se desarrollarán colores en la gama de temperatura de 37 a 42°C.

El procedimiento puede operarse en condiciones estériles dentro de la gama de 37 a 42°C añadiendo un agente esterilizador adecuado al material de partida antes de la adición de la levadura o de la emulsión de inoculación. Por "agente esterilizador adecuado" queremos dar a entender cualquier agente que inhibe la acción del organismo contaminante sin afectar a la formación de la emulsión y el carácter adecuado de cualquier agente particular solamente puede ser determinado por ensayos preliminares. Así, por ejemplo, el cloroformo o el éter pueden usarse convenientemente por ejemplo poniendo en con-

31 ENE.



207519

tacto el material de partida con estas sustancias durante 24 a 72 horas a temperatura ordinaria.

la terminación de la esterilización puede ser determinada retirando el agente esterilizador de una muestra del material que se intenta cultivar y recontando los micro-organismos presentes.

De acuerdo con una característica del invento, por consiguiente, la evitación de la acción de dichos organismos contaminantes se efectúa realizando el proceso a una temperatura de formación de la emulsión superior a 42°C.

De acuerdo con otra característica del invento en la cual el proceso se opera a 36-42°C, la acción de los organismos de infección se impide operando en condiciones estériles o empleando una emulsión de inoculación cuyo contenido de factor formador de la emulsión es tan alto que no tienen lugar reacciones secundarias.

Por experimentos que hemos realizado, hemos comprobado que la producción de colores no ocurre por encima de 42°C.

A fin de que el invento pueda comprenderse bien, se dan los siguientes ejemplos como ilustraciones solamente:

EJEMPLO 1.

Esterilización de gluten.

Unos 50 grs. de gluten se disponen en un matraz cónico de 250 ml. A este gluten se le añaden 150

207519

31



mls. de éter (con preferencia secado sobre sodio). La masa se agita suavemente de modo que el gluten sea dispersado en el éter. El gluten tenderá a sedimentar y es aconsejable mantener a la masa en movimiento suave, aunque será útil la agitación a intervalos. Se sacan muestras de unos 2 y 5 gra. de la masa después de unos 12 - 24 - 36 - 48 horas y se continúa hasta que se llega a la esterilidad. Para ensayar estas muestras en cuanto a la esterilidad, puede adoptarse la técnica siguiente.

Sáquese el éter de las muestras disponiéndolas en un matríz y eliminando el éter a presión reducida a 20°C. Cuando el gluten está libre de éter al clerio una muestra de unos 0,5 gra. se aplica sobre agar nutricio y la placa se incuba a 30 a 35°C durante 36 horas. La ausencia de colonias de micro-organismos sobre la placa después de este periodo de incubación indica la esterilidad. Después de este periodo el resto del gluten puede secarse en la misma forma que las muestras y almacenarse fácilmente en condiciones normales de esterilidad.

EJEMPLO 2

Experimento para producir olores desagradables.

Una muestra de unos 10 gra. del gluten esterilizado y secado en la forma citada se disponen en un tubo de ebullición, de 100 mls. (que se ha esterilizado tratándolo en autoclave durante 10 minutos a tres atmósferas) y se les añaden 35 mls. de agua destilada estéril, 0,1 gra. de levadura de panadero, y unos 2 mls. de un



207519

5 cultivo del organismo previamente aislado de una emulsión que haya desarrollado olores desagradables. El tubo se incuba luego a 37-42°C en una estufa termostáticamente controlada o en un incubador 12 a 24 horas. Los olores desagradables resultan muy perceptibles después de unas 12 horas.

Técnica de cultivo

10 El cultivo del micro-organismo para su empleo en el citado experimento se realiza de acuerdo con la técnica siguiente, que ha demostrado ser satisfactoria:

15 Dispóngense 10 grs. aproximadamente de gluten no esterilizado en un tubo de ebullición; añádenseles 35 mls. de agua y 0,1 grs. de levadura de panadero. Incúbese el tubo a 37-42°C hasta que se produzca un pronunciado olor desagradable (probablemente ácido butírico). Inocúlese agar nutricio con la fase acuosa del contenido del tubo e incúbense las placas a 37°C durante 36 horas. Las colonias que se desarrollan pueden retirarse fácilmente
20 irrigando con una corriente de agua destilada estéril. El líquido que contiene el organismo debe filtrarse luego a través de lana de vidrio estéril para retirar cualesquiera trozos grandes de agar que puedan haber sido arrastrados por lavado con el organismo.

25 EJEMPLO 3

Experimento para demostrar el efecto de la temperatura sobre la producción de olores desagradables.

Se disponen tubos que contienen los mismos

31 EN



207519

materiales que se usan en el experimento anterior, pero después de la inoculación con el micro-organismo los tubos se dispusieron en incubadoras a las temperaturas siguientes:

5 30°C 37-42°C 45°C 50°C 65°C

Después de unas 12 horas, se notó que los tubos a 37-42°C habían desarrollado un pronunciado olor desagradable al paso que los tubos a las otras temperaturas no mostraron olor desagradable, sino el comienzo del proceso de emulsificación.

10

EJEMPLO 4.

En este ejemplo, los materiales y las cantidades fueron como sigue:

10 grs. de gluten, 35 c.c. de agua, 0,1 grs. de levadura ó 1 ml. de emulsión de inoculación.

15

El experimento se realizó como sigue:

- A. Dos tubos de ensayo que contenían 10 grs. de gluten, 35 c.c. de agua y en un tubo 0,1 gr. de levadura y en el otro 1 ml. de emulsión de inoculación.
- 20 B. Como arriba, pero el gluten había sido previamente esterilizado por inmersión en cloroformo durante 24 horas. Luego se eliminó el cloroformo bajo vacío a 20°C.
- C. Como en A, pero el gluten se había esterilizado por inmersión en éter durante 72 horas. El éter se eliminó como en B.
- 25 D. Como en B, pero esta vez, después de eliminación del cloroformo, el gluten se dividió en cuatro partes, una



207519 31 ENE

parte se inoculó con los organismos y se adoptó el procedimiento de levadura.

La segunda parte fué como arriba, pero se adoptó el procedimiento de inoculación. Las dos porciones
5 restantes estaban sin inocular con organismos y se usaron como controles para los procedimientos de levadura e inoculación.

En todos los citados experimentos los malos olores fueron descubiertos cuando el material inicial estaba sin esterilizar o había sido infectado de nuevo.
10

El experimento 2 se estableció para determinar el efecto de la concentración sobre el procedimiento de inoculación.

A. Las cantidades de gluten y de agua fueron las mismas
15 que en el experimento anterior, pero esta vez se usaron cantidades progresivamente crecientes de emulsión de inoculación; cuando la concentración de la emulsión de inoculación alcanzó 3 mls. y más por experimento, no se descubrieron malos olores.

20 B. Se repitió el experimento A esterilizando el gluten con éter y cloroformo como en los experimentos anteriores, e infectando de nuevo con el organismo. De nuevo no se descubrieron malos olores cuando se usaron 4 mls. o más de emulsión de inoculación.

25 Estos experimentos fueron todos basados sobre gluten seco y húmedo; en el caso de gluten húmedo,

207519

31E



el contenido en proteínas se determinó primero, de modo que la concentración de proteínas en los experimentos en seco y húmedo fuera la misma.

Esta solicitud, que corresponde a la presentada en Gran Bretaña el 2 de Julio de 1952, bajo el número 16.674/52 prov., se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

- O - N O T A - O -

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los siguientes:

12. - Un procedimiento para preparar una emulsión acuosa estable de gluten, en el cual, gluten, o harina que contiene gluten, se trata en presencia de agua con levadura, o con una emulsión de inoculación, como se define en esta Memoria, a una temperatura de formación de la emulsión como aquí se define por encima de 36°C, en condiciones tales que el crecimiento y/o la acción de microorganismos presentes que dan origen a la formación de fuertes olores indeseados, es inhibida en una medida por la cual

207519

31 ENE



no son evidentes dichos olores.

2º. - Un procedimiento según se reivindica en el punto 1, en el cual el tratamiento se lleva a cabo a una temperatura superior a 42°C.

5 3º. - Un procedimiento de preparar una emulsión acuosa estable de gluten, en el cual gluten, o harina que contiene gluten, se trata en presencia de agua con levadura, o con una emulsión de inoculación, como se define en esta Memoria, en condiciones estériles y a una temperatura de formación de la emulsión como aquí se define.

10 4º. - Un procedimiento para preparar una emulsión acuosa estable de gluten, en el cual gluten, o harina que contiene gluten, se trata con una emulsión de inoculación, como aquí se define, cuyo contenido en factor formador de la emulsión es tan alto que no tienen lugar reacciones secundarias.

15 5º. - Un procedimiento según se reivindica en el punto 3, en el cual antes de la adición de la levadura o de la emulsión de inoculación, el material de partida se trata con uno o más agentes esterilizadores adecuados como se han definido en la Memoria.

20 6º. - Un procedimiento según se reivindica en cualquiera de los puntos 3, 4 ó 5, en el cual el tratamiento se lleva a cabo a una temperatura de 36 a 42°C.

25 7º. - Un procedimiento de preparar una

207519

31



emulsión acuosa estable de gluten.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y con los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de catorce hojas escritas por una sola cara.

Madrid,

31 ENE. 1953

P. A.

Alberto de Elzaburo
Por Poder.