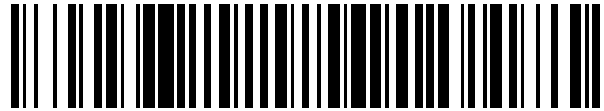


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 422 201**

51 Int. Cl.:

**A23G 9/00**

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.09.2005 E 05790992 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.06.2013 EP 1809120**

54 Título: **Producto de confitería congelado bajo en grasas**

30 Prioridad:

**18.10.2004 EP 04256393**

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

**09.09.2013**

73 Titular/es:

**UNILEVER N.V. (100.0%)**

**Weena 455**

**3013 AL Rotterdam , NL**

72 Inventor/es:

**BRAMLEY, ALLAN SIDNEY;**

**LACY, IAN;**

**LINDNER, NIGEL MALCOLM y**

**QUAIL, PATRICIA JILL**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 422 201 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Producto de confitería congelado bajo en grasas

### **Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a productos de confitería lácteos congelados bajos en grasas que contienen proteínas estructurantes de hielo.

### **Antecedentes de la invención**

Desde inicios de los años 80, ha habido una creciente demanda de productos de confitería congelados y postres tales como helados y productos relacionados que tengan un valor calórico reducido.

10 Reducir la cantidad de grasa de un helado sería el modo más eficaz para reducir el valor calórico, ya que tiene un valor calórico por gramo que es mayor que el de los carbohidratos. Sin embargo, al reducir la cantidad de grasa en el helado, surgen considerables dificultades ya que se reduce su eficacia en la estabilización de la estructura. Los productos insuficientemente estables no son robustos para la cadena del frío y son inaceptables para los consumidores.

Hay tres fases que contribuyen a la estructura y por lo tanto estabilidad del helado, a saber grasa, hielo y la matriz, que incluye estabilizantes.

15 En el helado bajo en grasas en que se ha reducido la contribución estructurante de la grasa, para mantener o mejorar la estabilidad del producto, debe aumentarse la contribución de cualquiera o ambas de las fases de hielo y matriz. Sin embargo, aunque aumentar el contenido de hielo o nivel de estabilizante puede mejorar la estabilidad del producto, esto tiene efectos indeseables sobre la textura del helado. Por ejemplo, si el contenido de hielo es demasiado alto, el helado será duro y glacial, mientras que si el nivel de estabilizante es demasiado alto el helado tendrá una textura gomosa de tipo gel así como aromas rancios asociados a los estabilizantes.

20 El documento US 6.200.622 da a conocer un proceso para la producción de un producto alimentario congelado que comprende un péptido anticongelante.

El documento US 6.096.867 da a conocer que pueden incorporarse proteínas anticongelantes vegetales a productos de confitería congelados.

25 El documento US 2002/072108 da a conocer que pueden incorporarse péptidos anticongelantes de bacterias de un entorno acuoso a baja temperatura a productos alimentarios congelados.

El documento US 5.215.777 da a conocer un proceso para producir helado bajo en grasas o sin grasa.

### **Sumario de la invención**

30 Se ha encontrado ahora que la adición de proteínas estructurantes de hielo (PEH) a productos de confitería lácteos congelados bajos en grasas mejora significativamente la estabilidad del producto sin efectos perjudiciales sobre la textura y/o el sabor y sin necesidad de altos niveles de estabilizantes. Además, se ha encontrado que cuando se añaden PEH en combinación con niveles aumentados de estabilizantes, tales como gelatina, la PEH enmascara/reduce los efectos perjudiciales de los estabilizantes sobre la textura (por ejemplo, gomosidad) y sabor del producto, dando como resultado mejoras adicionales de estabilidad sin los efectos secundarios asociados normalmente a niveles aumentados de estabilizantes.

35 Por consiguiente, la presente invención proporciona un producto de confitería congelado lácteo bajo en grasas que tiene un 3% en peso o menos de grasas, comprendiendo dicho producto una proteína estructurante de hielo (PEH). Preferiblemente, el producto tiene un 2% en peso o menos de grasa.

Preferiblemente, el producto comprende al menos un 0,0005% en peso de PEH.

40 En una realización, el producto comprende al menos un 0,5% en peso de estabilizantes. En otra realización, el producto comprende menos de un 0,5% en peso de estabilizantes.

En una realización, el producto tiene definición de superficie, lo que significa que el producto tiene una o más superficies no planas conformadas, conformadas típicamente por un proceso de moldeo o extrusión o similar.

45 La presente invención proporciona también el uso de una proteína estructurante de hielo (PEG) para estabilizar la estructura de un producto de confitería congelado lácteo bajo en grasas que tiene un 3% en peso o menos de grasa. En un aspecto relacionado, la presente invención proporciona el uso de una proteína estructurante de hielo (PEH) para reducir los efectos perjudiciales de los estabilizantes sobre la textura y/o sabor en un producto de confitería congelado lácteo bajo en grasas que tiene un 3% en peso o menos de grasas.

En otro aspecto relacionado, la presente invención proporciona el uso de una proteína estructurante de hielo (PEH) para potenciar la retención de forma de un producto de confitería congelado lácteo bajo en grasas que tiene un 3% en peso o menos de grasas.

- 5 La presente invención proporciona además un procedimiento de reducción de los efectos perjudiciales de los estabilizantes sobre la textura y/o sabor de un producto de confitería congelado lácteo bajo en grasas que tiene un 3% en peso o menos de grasas, comprendiendo dicho procedimiento añadir al producto una proteína estructurante de hielo (PEH) antes, durante y/o después de congelar el producto.

### **Descripción detallada de la invención**

- 10 A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto en la materia (por ejemplo, en la fabricación de confitería congelada, biología molecular y bioquímica). Se encuentran definiciones y descripciones de diversos términos y técnicas usados en la fabricación de confitería congelada en "Ice Cream", 4ª edición, Arbuckle (1988), Van Nostrand Reinhold Company, Nueva York, NY. "Ice Cream", 6ª edición, Robert T. Marshall, H. Douglas Goff y Richard W. Hartel (2003), Kluwer Academic/Plenum Publishers.

- 15 Se usan técnicas estándar para procedimientos moleculares y bioquímicos (véanse, en general, Sambrook *et al.*, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", 3ª ed. (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. y Ausubel *et al.*, "Short Protocols in Molecular Biology" (1999) 4ª ed, John Wiley & Sons, Inc. – y la versión completa titulada "Current Protocols in Molecular Biology").

### **Proteínas estructurantes de hielo**

- 20 Las proteínas estructurantes de hielo (PEH) son proteína que pueden influir en la forma y tamaño de los cristales de hielo formados cuando ocurre la congelación, e inhibir la recrystalización del hielo (Clarke *et al.*, 2002, Cryoletters 23: 89-92; Marshall *et al.*, "Ice Cream", 6ª edición, *ibid.*). Muchas de estas proteínas se identificaron originalmente en organismos que viven en entornos bajo cero y se cree que protegen al organismo de los efectos perjudiciales de la formación de cristales de hielo en las células del organismo. Por esta razón, muchas proteínas estructurantes de hielo son también conocidas como proteínas anticongelantes (PAC). En el contexto de la presente invención, una PEH se define como una proteína que tiene actividad inhibidora de la recrystalización de hielo (RH).
- 25

Las propiedades de actividad inhibidora de la recrystalización de hielo pueden medirse convenientemente mediante un ensayo de aplastamiento modificado como se describe en el documento WO00/53029:

- 30 Se transfieren 2,5 µl de la solución bajo investigación en sacarosa al 30% (p/p) a un cubreobjetos circular de 16 mm transparente apropiadamente marcado. Se dispone un segundo cubreobjetos sobre la gota de solución y se comprime el sándwich entre los dedos índice y pulgar. Se deja el sándwich en un baño de hexano mantenido a -80°C en una caja de hielo seco. Cuando se han preparado todos los sándwiches, se transfieren los sándwiches desde el baño de hexano a -80°C a una cámara de visualización que contiene hexano mantenido a -6°C usando fórceps preenfriados con hielo seco. Tras la transferencia a -6°C, puede verse que los sándwiches cambian de apariencia transparente a opaca. Se registran las imágenes por cámara de vídeo y se capturan en un sistema de análisis de imágenes (LUCIA, Nikon) usando un objetivo de 20x. Se registran las imágenes de cada aplastamiento a tiempo = 0 y de nuevo después de 60 minutos. Se compara el tamaño de los cristales de hielo en ambos ensayo disponiendo los portaobjetos en una cámara criostática de temperatura controlada (Bright Instrument Co Ltd, Huntington, RU). Se transfieren imágenes de las muestras a un sistema de análisis de imágenes Quantimet 520 MC (Leica, Cambridge RU) mediante una cámara de vídeo Sony Monochrome CCD.
- 35
- 40

- Puede efectuarse la calibración del cristal de hielo mediante trazado manual alrededor de los cristales de hielo. Típicamente, se calibran al menos de 100 a 400 cristales por cada muestra. Se toma el tamaño de cristal de hielo como la dimensión más larga de la proyección bidimensional de cada cristal. Se determina el tamaño medio de cristal como la media numérica de los tamaños de cristal individuales. Se compara el tamaño de los cristales de hielo en ambos ensayos. Si el tamaño a los 30-60 minutos es similar o solo moderadamente aumentado (menos de un 10%) en comparación con el tamaño a t=0, y/o el tamaño de cristal es menor de 20 µm, preferiblemente de 5 a 15 µm, esto es una indicación de las buenas propiedades de recrystalización del cristal de hielo.
- 45

- Puede definirse una actividad inhibidora de la recrystalización de hielo significativa como cuando una solución al 0,01% en peso de PEH en 30% en peso de sacarosa, enfriada rápidamente (al menos a  $\Delta 50^\circ\text{C}$  por minuto) a  $-40^\circ\text{C}$ , calentada rápidamente (al menos a  $\Delta 50^\circ\text{C}$  por minuto) a  $-6^\circ\text{C}$  y mantenida a continuación a esta temperatura da como resultado un aumento del tamaño medio de cristal de hielo durante una hora de menos de 5 µm.
- 50

### **Tipos de PEH**

- Las PEH para su uso según la presente invención pueden derivar de cualquier fuente a condición de que sean adecuadas para inclusión en productos alimentarios. Las PEH se han identificado hasta la fecha en peces, plantas, líquenes, hongos, microorganismos e insectos. Además, se han descrito una serie de PEH sintéticas.
- 55

Son ejemplos de materiales de PEH de pescado GPAC (obtenibles, por ejemplo, de bacalao común (*Gadus morhua*), bacalao de Groenlandia (*Gadus ogac*) y microgado atlántico (*Microgadus tomcod*), PEH de tipo I (obtenibles, por ejemplo, de platija de invierno (*Pseudopleuronectes americanus*), limanda japonesa (*Limanda ferruginea*), escorpión común (*Myoxocephalus scorpius*) y *Myoxocephalus aeneus*, PEH de tipo II (obtenibles, por ejemplo, de pez cuervo (*Hemitripterus americanus*), eperlano (*Osmeridae*) y arenque común (*Clupea arengus*) y PEH de tipo III (obtenibles, por ejemplo, de viruela (*Zoarces americanus*), pez lobo (*Anarhichas lupus*), *Ulvaria subbifurcata*, pez mantequilla (*Pholis gunnellus*) y *Lycodes lavalaei*.

Las PEH de tipo III son particularmente preferidas. Las PEH de tipo III tienen típicamente un peso molecular de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 14 kDa, una estructura secundaria de sándwich beta y una estructura terciaria globular. Se han clonado una serie de genes que codifican PEH de tipo III (Davies y Hew, 1990, *FASEB J.* 4: 2460-2468). Es una PEH de tipo III particularmente preferido la HPLC-12 de tipo III (nº de acceso P19614 a la base de datos de proteínas Swiss-Prot).

Se describen PAC de líquen en los documentos WO99/37673 y WO01/83534.

Se describen ejemplos de plantas en que se han obtenido PEH en los documentos WO98/04699 y WO98/4148, e incluyen hierba del ajo, áster azul, avena de primavera, barbarea, colza de invierno, col de Bruselas, zanahoria (nº de acceso a GenBank CAB69453), *Dicentra cucullaria*, euforbio, lirio de día, cebada de invierno, hoja de agua de Virginia, llantén menor, llantén, hierba torcida, grama de prados, álamo negro de Norteamérica, roble blanco, centeno de invierno (Sidebottom *et al.*, 2000, *Nature* 406: 256), dulcamara, patata, hierba gallinera, diente de león, trigo de primavera e invierno, tritical, hierba doncella, violeta y hierba.

Las PEH pueden obtenerse mediante extracción de fuentes nativas mediante cualquier proceso adecuado, por ejemplo los procesos de aislamiento descritos en los documentos WO98/04699 y WO98/4148.

Como alternativa, las PEH pueden obtenerse mediante el uso de tecnología recombinante. Por ejemplo, pueden modificarse células hospedadoras, típicamente microorganismos o células de plantas, para expresar PEH y las PEH pueden aislarse entonces y usarse de acuerdo con la presente invención. Las técnicas para introducir constructos de ácido nucleico que codifican PEH en células hospedadoras son bien conocidas en la materia.

Típicamente, se transformaría una célula u organismo hospedador adecuado mediante un constructo de ácido nucleico que codifica la PEH deseada. La secuencia nucleotídica que codifica el polipéptido puede insertarse en un vector de expresión adecuado que codifique los elementos necesarios para la transcripción y traducción y de tal manera que se expresen en las condiciones apropiadas (por ejemplo, en la orientación apropiada y el marco de lectura correcto y con las secuencias de orientación y expresión apropiadas). Los procedimientos requeridos para construir estos vectores de expresión son bien conocidos por los expertos en la materia.

Pueden usarse una serie de sistemas de expresión para expresar la secuencia de codificación del polipéptido. Estos incluyen, pero sin limitación, bacterias, hongos (incluyendo levaduras), sistemas de células de insecto, sistemas de cultivo de células de plantas y plantas, todos transformados con los vectores de expresión apropiados. Los hospedadores preferidos son aquellos que se consideran de pureza alimentaria, "generalmente considerados seguros" (GCS).

Las especies fúngicas adecuadas incluyen levaduras tales como (pero sin limitación) aquellas de los géneros *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Candida*, *Schizosaccharomyces* y similares y especies de hongos filamentosos tales como (pero sin limitación) aquellas de los géneros *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Neurospora*, *Fusarium* y similares. Preferiblemente, la especie seleccionada es una levadura, lo más preferiblemente una especie de *Saccharomyces* tal como *S. cerevisiae*. Cuando la glucosilación de la PEH conduce a una actividad reducida, entonces se prefiere que el hospedador exhiba una glucosilación reducida de las proteínas heterólogas.

Pueden transformarse también una amplia variedad de plantas y sistemas celulares de plantas con los constructos de ácido nucleico de los polipéptidos deseados. Los ejemplos de especies de plantas incluyen maíz, tomate, tabaco, zanahorias, fresas, colza y remolacha azucarera.

Las secuencias que codifican las PEH son preferiblemente al menos un 80% idénticas a nivel aminoacídico a una PEH identificada en la naturaleza, más preferiblemente al menos un 95 o 100% idénticas. Sin embargo, los expertos en la materia pueden hacer sustituciones conservativas u otros cambios aminoacídicos que no reduzcan la actividad IR de la PEH. Con los fines de la invención, estas PEH que poseen un alto nivel de identidad con una PEH que aparece naturalmente están también comprendidas dentro del término "PEH".

#### Productos de confitería lácteos congelados bajos en grasas

La confitería láctea congelada es confitería que contiene típicamente leche o sólidos de la leche, tales como helado, leche helada, yogur congelado y sorbete. El término "leche" incluye sustitutos de la leche tales como leche de soja, aunque se prefiere la leche de mamífero. Preferiblemente, la confitería láctea congelada es un helado o leche helada.

- 5 El producto bajo en grasas de la invención contiene un 3% en peso o menos de grasas, preferiblemente un 2% en peso o menos, más preferiblemente menos de un 2% en peso o 1% en peso o menos. En una realización, el producto está exento de grasas, lo que significa que el producto no contiene sustancialmente grasas (concretamente, menos de un 0,1% en peso). Cuando el producto está recubierto con una composición no láctea tal como una capa de chocolate o cobertura, la determinación del contenido de grasas del producto debería prescindir del recubrimiento.
- La confitería congelada que contiene leche contiene preferiblemente al menos aproximadamente un 3% en peso de sólido lácteo no graso (SLNG), más preferiblemente de aproximadamente un 5% en peso a aproximadamente un 25% en peso de SLNG.
- 10 Pueden estar presentes estabilizantes en los productos congelados de la invención, aunque debería observarse que los efectos estabilizantes de las PEH pueden permitir el reemplazo de estabilizantes en algunos casos. Sin embargo, pueden seguir requiriéndose niveles significativos de estabilizantes, además de PEH, en algunas formulaciones de producto, tales como productos muy bajos en grasas con menos de un 1% en peso de grasas, para producir la estabilidad de producto deseada. No obstante, los productos resultantes mejoran respecto a los productos previos porque la PEH reduce o mejora los efectos perjudiciales de los estabilizantes sobre textura y sabor.
- 15 Los estabilizantes adecuados incluyen alginatos, gelatina, goma arábica, goma guar, goma karaya, goma de algarrobo, carragenano y sales del mismo, goma de xantana, celulosa microcristalina, éteres de celulosa o mezclas de los mismos. La cantidad de estabilizante es preferiblemente de 1,5% en peso o menos, más preferiblemente de 1% en peso o menos, tal como de 0,1 a 0,8% en peso.
- 20 En una realización, el producto comprende al menos un 0,5% en peso de estabilizantes, tal como al menos un 0,7% en peso de estabilizantes. Preferiblemente, el nivel de grasas en dicho producto es de menos de 2 o 1% en peso. En otra realización, el producto comprende menos de un 0,5% en peso de estabilizantes. Preferiblemente, el nivel de grasas en dicho producto es de al menos un 1% en peso o más, más preferiblemente de al menos un 2% en peso.
- 25 La confitería congelada de la invención comprende típicamente al menos aproximadamente un 0,0001% en peso de PEH, más preferiblemente al menos un 0,0005% en peso. Las PEH pueden usarse a concentraciones muy bajas y por lo tanto la confitería comprende preferiblemente menos de un 0,05% en peso de PEH. Es un intervalo preferido de aproximadamente 0,001 a 0,01% en peso, más preferiblemente de 0,005 a 0,01% en peso.
- 30 La confitería congelada puede ser aireada o no aireada, preferiblemente aireada. Se entiende por no aireada una confitería congelada que tenga un contenido de aire de menos de un 20%, preferiblemente de menos de un 10%. Una confitería congelada no aireada no está sujeta a etapas premeditadas tales como batido para aumentar el contenido de gas. No obstante, se apreciará que durante la preparación de confitería congelada no aireada, pueden incorporarse bajos niveles de gas, tal como aire, al producto. La cantidad de aire presente en un producto aireado variará dependiendo de las características de producto deseadas. Por ejemplo, el nivel de contenido de aire en helado es típicamente de aproximadamente 70 a 100%, y en confitería tal como espumas el contenido de aire puede ser tan alto como de 200 a 250% en peso, mientras que el contenido de aire en leches heladas es de 25 a 30%. La confitería congelada aireada tiene preferiblemente un contenido de aire de 30 a 200%, más preferiblemente de 50 a 150%.
- 35 La confitería congelada de la invención puede fabricarse usando una variedad de técnicas conocidas en la materia. Típicamente, los productos se congelan estáticamente o usando agitación, tal como en un intercambiador de calor de superficie rascada. Los productos pueden moldearse. Los productos pueden contener formas complejas y tener un alto grado de definición de superficie, puesto que la adición de PEH conserva la estabilidad de dichas formas y estructuras.
- 40 Las PEH pueden añadirse antes, durante o después de la congelación del producto. Si se añaden después de la congelación, esto tendrá lugar mientras el producto sigue plástico, de modo que la PEH pueda mezclarse, por ejemplo, después de extrusión de un intercambiador de calor de superficie raspada y antes del endurecimiento.
- Los productos de helado y similares pueden someterse a una etapa de endurecimiento frío opcional a menos de -20°C a -25°C.
- 45 La presente invención engloba también composiciones para producir un producto de confitería congelado bajo en grasas de la invención cuya composición comprende PEH, preferiblemente al menos un 0,005% de PEH. Dichas composiciones incluyen premezclas líquidas y mezclas secas, por ejemplo polvos, a las que se añade un líquido acuoso, tal como leche o agua.
- 50 La presente invención se describirá ahora adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos, que son solo ilustrativos y no limitantes.

## **Ejemplos**

### Materiales y procedimientos

#### *Formulaciones*

Se consideraron una formulación baja en grasas típica con menos de un 1% en peso de grasas y formulaciones modificadas con un contenido de hielo mayor o un nivel de estabilizante mayor, o tanto un contenido de hielo mayor como un nivel de estabilizante mayor. Las formulaciones para cada helado se dan a continuación.

|                                  | (1)<br>Control | (2)<br>++ hielo | (3)<br>+ hielo | (4)<br>+ gelatina | (5)<br>+ hielo + gelatina |
|----------------------------------|----------------|-----------------|----------------|-------------------|---------------------------|
| Suero en polvo                   | 2,5            | 2,5             | 2,5            | 2,5               | 2,5                       |
| Leche en polvo desnatada         | 11,917         | 11,917          | 11,917         | 11,917            | 11,917                    |
| Jarabe de maíz 34DE              | 5,0            | 2,5             | 5,0            | 5,0               | 5,0                       |
| Grasa butírica                   | 0,5            | 0,5             | 0,5            | 0,5               | 0,5                       |
| Combinación estabilizante CC3052 | 0,5            | 0,5             | 0,5            | 0,5               | 0,5                       |
| Gelatina                         | 0,25           | 0,25            | 0,25           | 0,5               | 0,5                       |
| Emulsionante                     | 0,15           | 0,15            | 0,15           | 0,15              | 0,15                      |
| Polidextrosa                     | 5,25           | 5,25            | 5,25           | 5,25              | 5,25                      |
| Maltodextrina 10DE               | 1,0            | -               | -              | 1,0               | -                         |
| Sacarosa                         | 12,0           | -               | 2,1            | 12,0              | 2,1                       |
| Fructosa                         | -              | 7,0             | 5,8            | -                 | 5,8                       |
| Agua                             | 60,933         | 69,433          | 66,033         | 60,683            | 65,783                    |
| Hielo a -18°C                    | 50%            | 60%             | 55%            | 50%               | 55%                       |

5 Ya que no es posible aumentar el contenido de hielo y mantener el dulzor, composición de azúcar y niveles de sólidos totales constantes, se decidió al modificar las formulaciones mantener el dulzor constante y alterar la composición de azúcar para dar el contenido de hielo requerido.

10 Todas las formulaciones contienen un 0,5% en peso de una combinación estabilizante comercial, Continental Custom Ingredients (CCI), que contiene los siguientes ingredientes: metilcelulosa cristalina, goma de celulosa, monoglicéridos y diglicéridos, goma de algarrobbillo, polisorbato 80, carragenano y dextrosa. Los aumentos en los niveles de estabilizante con fines de ensayo se efectuaron añadiendo gelatina (al 0,25 o 0,5% en peso).

#### *Procesamiento*

15 Se prepararon todos los helados en un congelador estándar MF75, aireados a 100% de contenido de aire, se extruyeron aproximadamente a -7°C y se recogieron en bloques de 500 ml que se congelaron rápidamente y almacenaron entonces a -25°C antes de ensayarse o probarse.

#### *Ensayo*

##### Retención de forma

20 Se realizó la valoración de la retención de forma cuando se almacenaban bloques de helado a temperatura constante en una cámara de temperatura controlada. Se consideraron temperaturas de almacenamiento de -5°C y -3°C. Se tomaron fotografías de los bloques de helado a intervalos regulares y se hizo una valoración de los cambios de forma a partir de las fotografías por un panel. Al comparar los cambios de forma, pudieron clasificarse los productos preparados a partir de diferentes formulaciones y obtenerse una valoración de la mejora de la estabilidad del producto.

##### Propiedades sensoriales

25 Se llevó a cabo la evaluación de las propiedades sensoriales mediante catas informales. Se consideraron en particular los atributos relacionados con la fase de hielo y el nivel de estabilizante, tales como dureza, gelidez, gomosidad y retrogusto.

**Ejemplo 1- Efecto de una fase de hielo y/o niveles de estabilizante aumentados sobre la estabilidad y textura de un helado bajo en grasas**

Se consideró la retención de forma y textura de las siguientes formulaciones de helado:

- 1) 0,8% de grasas, 50% de hielo a -18°C y 0,25% de gelatina (control)
- 5 2) 0,8% de grasas, 60% de hielo a -18°C y 0,25% de gelatina (++) hielo)
- 3) 0,8% de grasas, 55% de hielo a -18°C y 0,25% de gelatina (+ hielo)
- 4) 0,8% de grasas, 50% de hielo a -18°C y 0,5% de gelatina (+ gelatina)
- 5) 0,8% de grasas, 55% de hielo a -18°C y 0,5% de gelatina (+ hielo + gelatina)

*Resultados – Análisis sensoriales*

- 10 Los análisis sensoriales de helados preparados a partir de la formulación 2 indicaron que, en comparación con la formulación de control 1, eran duros y fríos para comer con una débil degradación acuosa. Esta textura se consideró inaceptable y no se realizaron ensayos adicionales sobre helados que usaran esta formulación.

Los análisis sensoriales de helados preparados a partir de la formulación 3 indicaron que, aunque había cambios en los atributos de textura similares a la formulación 2, los cambios no eran extremos y la textura era aceptable.

- 15 Los análisis sensoriales de helados preparados a partir de la formulación 4 indicaron que había un aumento de gomosidad asociado a los niveles aumentados de gelatina de 0,5% en peso.

Los análisis sensoriales de helados preparados a partir de la formulación 5 indicaron que había cambios en la dureza y gomosidad asociados al aumento del contenido de hielo y gelatina.

*Resultados- estabilidad (retención de forma)*

- 20 Los resultados obtenidos mostraron que, como se esperaba, a ambas temperaturas de almacenamiento (-5 y -3°C), aumentar el contenido de hielo o aumentar los niveles de gelatina a un 0,5% en peso mejora la retención de forma de los productos. También como se esperaba, la combinación de aumentar el contenido de hielo así como añadir gelatina da la mayor mejora sobre la retención de forma. Se observó además a la temperatura de almacenamiento más alta que la adición de gelatina tiene más efecto que aumentar el contenido de hielo, ya que a esta temperatura de  
25 almacenamiento el contenido de hielo es bastante bajo y el efecto de la gelatina en la fase de matriz es mayor que la fase de hielo.

Este ejemplo ilustra que, para helados bajos en grasas, puede mejorarse la estabilidad de producto, en términos de retención de forma, aumentando el contenido de hielo o aumentando los niveles de estabilizante. Sin embargo, en general hay cambios indeseables de la textura del helado.

30 **Ejemplo 2- Efecto de la PEH sobre la estabilidad de helados bajos en grasas**

Se determinó el efecto de la proteína estructurante de hielo (PEH) sobre la estabilidad de helados bajos en grasas mediante la adición de PEH a la formulación 1, 3, 4 y 5 del ejemplo 1. Se añadió la PAC de tipo III de viruela recombinante HPLC-12 producida en levadura (véase el documento WO97/02343) a la formulación a un nivel de un  
35 0,001% en peso. Se añadió también PEH a las formulaciones 3, 4 y 5 para determinar el efecto de la PEH en combinación con niveles aumentados de hielo y/o niveles aumentados de estabilizante.

- Los resultados de los ensayos de retención de forma demuestran que, a ambas temperaturas de almacenamiento, la adición de PEH a la formulación 1 mejora la retención de forma más que aumentar el contenido de hielo (formulación 3 sin PEH) o añadir gelatina (formulación 4 sin PEH) o aumentar el contenido de hielo y añadir gelatina (formulación 5 sin PEH). La mejora obtenida añadiendo PEH es mayor a la temperatura de almacenamiento menor, ya que hay un mayor  
40 contenido de hielo en el helado a esta temperatura y la PEH modifica la estructura de la red de hielo en el helado.

Se observaron aumentos adicionales de estabilidad cuando se combinó la adición de PEH con niveles aumentados de hielo (formulación 3 + PEH) o niveles aumentados de estabilizantes (formulación 4 + PEH).

Estos resultados demuestran que la adición de PEH a formulaciones bajas en grasas puede usarse como alternativa a, o además de, aumentar el contenido de hielo o añadir estabilizantes para mejorar la estabilidad de producto.

45 **Ejemplo 3- Efecto de la PEH sobre las propiedades sensoriales de helado bajo en grasas**

Se consideró también el efecto de la PEH sobre las propiedades texturales y sensoriales para las cuatro formulaciones ensayadas en el Ejemplo 2.

Se encontró que, para la formulación 1 que contiene PEH, el helado era más firme, pero no era inaceptablemente duro o frágil. Sin embargo, se encontró inesperadamente que las propiedades sensoriales de las formulaciones de helado que contiene niveles aumentados de gelatina (formulaciones 4 y 5) se afectaban por la PEH. Se encontró que, en presencia de PEH, la gomosidad asociada a la adición de gelatina era menos perceptible y la textura era más deseable.

5 Estos resultados demuestran que usar PEH en lugar de niveles aumentados de estabilizantes para estabilizar una formulación de helado baja en grasas puede evitar cambios inaceptables en la textura de producto asociados a la adición de altos niveles de estabilizante. Además, al añadir PEH a una formulación, es posible usar niveles aumentados de estabilizante para dar un producto aún más estable evitando la textura y sabor inaceptables que resultan normalmente y producir así un helado bajo en grasas más estable y con una textura más deseable.

#### 10 *Conclusiones*

En helados bajos en grasas, puede mejorarse la estabilidad modificando la formulación por aumento del contenido de hielo o aumento del nivel de estabilizante, lo que afecta a las propiedades de matriz. Sin embargo, ambas de estas opciones dan productos que no tienen una textura aceptable. También los efectos sobre la textura de producto limitan la cantidad en que puede aumentarse el contenido de hielo o el nivel de estabilizante.

15 La adición de PEH, sin cambiar el contenido de hielo o el nivel de estabilizante, tiene un mayor efecto sobre la mejora de la estabilidad de producto que aumentar el contenido de hielo o aumentar el nivel de estabilizante, y no tiene un efecto indeseable sobre la textura de producto.

20 La adición de PEH así como el aumento del contenido de hielo y el nivel de estabilizante da la mejora más significativa de la estabilidad de producto. También la adición de PEH a una formulación que tiene niveles aumentados de estabilizantes reduce los efectos indeseables sobre la textura, tales como gomosidad y retrogusto, asociados a dichos altos niveles de estabilizante. En efecto, la PEH actúa enmascarando los efectos perjudiciales de los altos niveles de estabilizante sobre la textura y sabor, actuando también para estabilizar el producto.

25 Los diversos rasgos y realizaciones de la presente invención, que hacen referencia a secciones individuales anteriores, se aplican, según sea apropiado y con los cambios necesarios, a otras secciones. Por consiguiente, los rasgos especificados en una sección pueden combinarse con rasgos especificados en otras secciones, según sea apropiado.

30 Todas las publicaciones mencionadas en la memoria descriptiva anterior se incorporan a la presente memoria por referencia. Resultarán evidentes para los expertos en la materia diversas modificaciones y variaciones de los procedimientos y productos descritos en la invención sin apartarse del ámbito de la invención. Aunque la invención se ha descrito con relación a realizaciones preferidas específicas, debería entenderse que la invención como se reivindica no debería limitarse indebidamente a dichas realizaciones específicas. Es más, se pretende que diversas modificaciones de los modos descritos para llevar a cabo la invención, que son evidentes para los expertos en los campos relevantes, estén dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.



**REIVINDICACIONES**

1. Un producto de confitería congelado lácteo bajo en grasas que tiene un 3% o menos de grasas, comprendiendo dicho producto una proteína estructurante de hielo (PEH).
2. Un producto según la reivindicación 1, que tiene un 2% o menos de grasas.
- 5 3. Un producto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende al menos un 0,0005% en peso de PEH.
4. Un producto según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además al menos un 0,5% en peso de estabilizantes.
5. Un producto según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que tiene definición de superficie.
- 10 6. Uso de una proteína estructurante de hielo (PEH), para estabilizar la estructura de un producto de confitería congelado lácteo bajo en grasas, que tiene un 3% o menos de grasas.
7. Uso de una proteína estructurante de hielo (PEH), para potenciar la retención de forma de un producto de confitería congelado lácteo bajo en grasas, que tiene un 3% o menos de grasas.
- 15 8. Uso de una proteína estructurante de hielo (PEH), para reducir los efectos perjudiciales de los estabilizantes sobre la textura y/o el sabor, en un producto de confitería congelado lácteo bajo en grasas que tiene un 3% o menos de grasas.
- 20 9. Un procedimiento de reducción de los efectos perjudiciales de los estabilizantes sobre la textura y/o el sabor de un producto de confitería congelado lácteo bajo en grasas que tiene un 3% o menos de grasas, comprendiendo dicho procedimiento añadir al producto una proteína estructurante de hielo (PEH) antes, durante y/o después de congelar el producto.