

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 553 388**

51 Int. Cl.:

A23G 9/04 (2006.01)

A23G 9/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.03.2011** **E 11765726 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.10.2015** **EP 2554053**

54 Título: **Helado o producto similar a un helado y procedimiento para su producción**

30 Prioridad:

31.03.2010 JP 2010081175

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.12.2015

73 Titular/es:

AJINOMOTO CO., INC. (50.0%)
15-1 Kyobashi 1-chome
Chuo-ku, Tokyo 104-8315, JP y
AMANO ENZYME INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

MIWA, NORIKO y
OHASHI, WAKAKO

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 553 388 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

Helado o producto similar a un helado y procedimiento para su producción.

5 **Campo técnico**

Referencia a la solicitud relacionada

10 La presente invención se refiere a un helado o a un producto similar a un helado y a un procedimiento para su producción. Con mayor detalle, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir un helado o un producto similar a un helado que se ha dotado de un intenso sabor de cuerpo y de una suave textura, un helado o un producto similar a un helado que presenta unas propiedades mejoradas, tal como el contenido de aire ("overrun") o el color.

15 **Antecedentes**

Un helado o un producto similar a un helado es un alimento que presenta un sabor suave, en el que, como materiales principales se utilizan la leche y los productos lácteos añadiendo otros materiales tales como huevos y azúcar, si es necesario, y que se obtiene mediante semicongelación o congelación mientras se agitan y baten como una mezcla de materiales. Se cree que el rico sabor, la mezcla bien suave en la boca, la suavidad, el sabor de plano, etc. de un helado o de un producto similar a un helado, se consiguen mediante un cuerpo y una fina estructura homogéneos, considerándose que la formación de esta textura y el sabor de su cuerpo, se alcanzan mediante ingredientes lácteos tal como la grasa láctea.

25 Recientemente, existe una tendencia que propicia hábitos alimentarios que supriman la ingestión excesiva de grasa, a causa de una concienciación respecto a la salud de los consumidores. Por tanto, incluso en un helado o producto similar a un helado, en el que el contenido de grasa láctea disminuye, es necesaria la tecnología para ofrecer un helado o producto similar a un helado que posea una textura rica y suave, peculiar para la grasa láctea. Respondiendo a esta demanda, varias materias primas tal como el almidón, un hidrolizado de éste químicamente procesado y la proteína de suero de leche, se han utilizado como materiales alternativos en bruto. Por ejemplo, se da a conocer en la literatura de la técnica anterior, que el procedimiento que contiene un hidrolizado de almidón (Literatura 1 de Patente), el procedimiento que contiene el aislado de la proteína de leche (WPI) que presenta una concentración de proteína aumentada hasta 90% o superior (Literatura de patente 2), el procedimiento que contiene concentrado de proteína de suero de leche (WPC) (Literatura de patente 3), el procedimiento que contiene la proteína del suero de la leche desnaturalizada térmicamente y dextrina (Literatura de patente 4), la proteína del suero de leche desnaturalizada térmicamente que contiene proteína de suero de leche (Literaturas de patente 5 y 6), etc., son útiles como alternativas para la grasa.

40 **Literatura de la técnica anterior**

Literatura de patente

[Literatura de patente 1] Documento JP0705994A
 [Literatura de patente 2] Documento JP02042943A
 45 [Literatura de patente 3] Documento JP0255046A
 [Literatura de patente 4] Documento 2009/219416A
 [Literatura de patente 5] Documento JP05/500163A
 [Literatura de patente 6] Documento JP03087148A
 [Literatura de patente 7] Documento JP2000050887A
 50 [Literatura de patente 8] Documento JP2001218590A
 [Literatura de patente 9] Documento JP2003250460A
 [Literatura de patente 10] Documento WO2006/075772
 [Literatura de patente 11] Documento WO2009/154212

55 **Literaturas no de patente**

[Literatura no de patente 1] Yamaguchi et al., Appl. Environ. Microbiol., 66, p. 3337-3343 (2000)
 [Literatura no de patente 2] Eur. J. Biochem 268 p. 1410-1421 (2001)

60 **Sumario de la invención**

Problemas que debe resolver la invención

Los análisis siguientes son realizados por la presente invención.

Sin embargo, un hidrolizado de almidón tal como la dextrina, muestra una baja estabilidad a temperatura más inferior, y un largo período de almacenamiento da lugar no sólo a rugosidad y sensación de polvo, sino también a una pérdida de calidad, tal como deterioro del sabor completo, pareciendo que no existe un efecto suficiente de alternativa grasa. Además, como para la proteína desnaturalizada del suero lácteo, a un alimento se le puede proporcionar suavidad y cremosidad sin ninguna influencia en la composición del mismo, debido a la aplicación del proceso de desnaturalización tal como calor; por otra parte, un sabor y olor peculiar del suero láctico, afectan al alimento, aumentando también la viscosidad en el caso en el que la cantidad que se añade aumente para proporcionar un rico sabor peculiar de la grasa, habiéndose presentado un inconveniente con el trabajo. Además, existe un problema con el coste en sí mismo de la proteína de suero lácteo (coste en sí mismo de leche desnaturalizada térmicamente). Además, en el caso en el que el almidón químicamente procesado se mezcla con productos lácteos, mientras que se producen efectos en la sensación de comer, tales como una mejora en la propiedad de conservación del agua, en la provisión de una rica textura, etc., existen problemas tales como que no se consiguen las características suficientes para mantener la forma, siendo la textura fuerte como una pasta, y existiendo una sensación de derretimiento suave en los ratones, la cual empeora, disminuyendo también la liberación del aroma, etc., etc. Por otra parte, en el caso en el que un polisacárido se mezcla con productos lácteos, mientras existen mejoras en una propiedad de mantenimiento de la forma, y otro en la sensación de derretimiento y suavidad en la boca, existen problemas como que la riqueza de tipo graso no se obtiene satisfactoriamente, etc.

En el procedimiento para obtener un helado o un producto similar a un helado, existe un procedimiento de congelación que envía aire a materias primas mientras los enfría. Constituye el procedimiento más importante en los de la producción de helado o de productos tipo helado para constituir una textura suave y sabor produciendo aire contenido en una mezcla. En este momento, la relación de la mezcla al volumen, disminuye más cuando la relación del contenido en aire respecto a la mezcla (se denomina porcentaje contenido en aire (%)) es más alta; y como resultado, el coste de materias primas puede reducirse también incluso en un helado o producto similar a un helado que tenga el mismo volumen. Además, no sólo la mejoría en la textura y en las propiedades físicas, sino la ingestión excesiva de grasa y calorías, puede también suprimirse por la mejoría del porcentaje de contenido en aire. Sin embargo, en un procedimiento convencional de la producción de un helado, o de un producto similar a un helado, casi no vale la pena informar de que incluso, si una grasa láctica se reduce, se producen un rico olor corporal y una textura suave, pudiéndose alcanzar un sabor rico moderado y además, la mejoría del porcentaje de contenido en aire.

Cuando la grasa láctea se reduce, un cambio en el tono del color (debilitamiento) tiene que mencionarse, como uno de los deterioros de calidad que pueden a veces presentarse. Por ejemplo, mientras el helado que utiliza un huevo (yema de éste) muestra un color amarillo ligero, puede teñirse un poco de blanco en caso de reducir la grasa. Sin embargo, aunque se han llevado a cabo muchos intentos para mejorar la textura mediante un material bruto alternativo a la grasa láctea, tal como se menciona anteriormente haberlos efectuado, no es el caso en el que el control del cambio del tono de color (debilitamiento) se haya alcanzado.

Así, en las técnicas convencionales, es este estado en el que tanto la textura como las propiedades físicas requeridas para un helado o un producto similar a un helado especialmente las que presentan una disminución de la tasa del contenido de la grasa láctea, las que no pueden satisfacerse completamente, se desea el desarrollo de una tecnología de producción para un helado o producto similar a un helado que posea una textura suave y rica y propiedades físicas excepcionales, especialmente un helado o producto similar a un helado para tener buena textura y propiedades físicas, incluso si la proporción de contenidos de la grasa láctea disminuye.

Mientras, un enzima desamidante proteico, que actúa directamente sobre un grupo amido en las proteínas, es un enzima para catalizar una reacción de desamidación. Así, provoca transformación de residuos de glutamina en los residuos del ácido glutámico para generar un grupo carboxilo que da lugar a un aumento en la carga negativa, un aumento de la fuerza repulsora electrostática, una disminución en el punto isoelectrico, un aumento de la capacidad de hidratación, etc., de la proteína. Como resultado, se ha conocido que se han apreciado varias mejorías en funcionalidades tales como un aumento de la solubilidad de la proteína y de su dispersión acuosa, y una mejoría de la capacidad de emulsificación, etc. (Literaturas no de patente 1 y 2, Literaturas de patente 7-11). Además, un procedimiento de utilización del enzima desamidante proteico en productos alimentarios, se da a conocer en las Literaturas de patente 7, 9, 10 y 11, existiendo entre estas literaturas previas una descripción respecto a una alteración de las propiedades funcionales del gluten de trigo, de proteínas lácteas (principalmente, de la proteína del suero, utilizando el enzima implicado. Un procedimiento para utilizar el enzima desamidante proteico para yogurt, queso y pudding se da a conocer en Literatura de patente 10, y un procedimiento para manufacturar alimentos que contienen almidón en los cuales el color, el brillo y textura son buenos y la degradación temporal después de cocinar está controlada añadiendo leche que es tratada con el enzima desamidante proteico, a un alimento que contiene almidón tal como el pan y la salsa blanca, se da a conocer en la Literatura de patente 11. Sin embargo, con el objetivo tecnológico de mejorar la textura y propiedades físicas del helado y la de la calidad del helado bajo en grasa, utilizando tal tecnología, todavía no se ha informado de ningún caso en el que el enzima desamidante proteico se haya utilizado.

El objetivo de la presente invención es proporcionar un helado o un producto similar a un helado, al que se imparte un rico aroma corporal y una textura suave, y un procedimiento para su producción; o incluso, si una grasa se

reduce, proporcionar un helado o un producto como él con una buena textura y propiedades físicas, y un procedimiento para producirlo.

Medidas para resolver el problema

Con el fin de cumplir con el objetivo propuesto, los inventores de la presente invención han examinado de manera repetida exhaustivamente. Como resultado, se descubrió que el enzima desamidante proteico se añade, y se permite que actúe sobre una materia láctea, o una mezcla de un helado líquido utilizada para producir un helado o producto suyo, desamidándose de esta forma una proteína láctea en la materia láctea, dando lugar así a un rico aroma corporal y una textura suave a un helado obtenido o a un producto similar a un helado; posteriormente encontraron también que puede proporcionar un helado o un producto similar a un helado que mantenga una buena textura y propiedades físicas incluso si una grasa es reducida, y cumplieron esta invención. Es decir, esta invención es como se expone a continuación:

1. Procedimiento para obtener un helado o un producto tipo helado, en el que un enzima capaz de desamidar sin realizar una reticulación de una proteína, se añade y se permite que actúe sobre una materia láctea o una mezcla de helado líquido,

en el que la tasa de desamidación de la proteína láctea en la materia láctea o la mezcla de helado líquido, a la cual se añade el enzima y se permite que actúe, está entre 68 y 100%, y en el que una proteína sérica en una cantidad entre 0,1 y 3% de la mezcla de helado líquido, se añade y mezcla.

2. Helado o producto similar a un helado, producido por el procedimiento según la reivindicación 1.

3. Helado o producto similar a un helado bajo en grasa en el que el contenido en grasa está entre el 3% y el 8%, obtenido por el procedimiento según la reivindicación 1.

Efectos ventajosos de la invención

Según la presente invención, puede obtenerse un helado con grasa reducida con una textura intensa y suave, en la que la insuficiencia en el aroma o sabor es suprimida y también se mejoran las propiedades físicas (tono de color o porcentaje del contenido en aire).

Modo de poner en práctica la invención

Un helado o un producto similar a un helado, de la presente invención, es un helado o un producto similar a un helado que se define en la Japanese Food Sanitation Act y en la Ministerial Ordinance, etc., que se refieran a los ingredientes estándares lácteos y productos lácteos. Es decir, esto es lo que se obtiene congelando un alimento producido con leche (o leches) como materia o materias primas, o un alimento que presenta estas leches o materia o materias primas teniendo en cuenta que contiene 3% o más de la leche sólida excepto para la leche fermentada. Concretamente, el helado, la leche helada, y el lacto helado están incluidos. Generalmente, un helado o producto similar a un helado se produce de forma que una preparación (mezcla de helado) en el que las materias primas tales como leche, un producto lácteo, azúcar, grasas, huevos, un emulsificante, un saborizante, un estabilizador, y un agente colorante, se mezclan-disuelven en un medio homogenizado y estabilizado, seguido por enfriamiento, y a través de un proceso que se mantiene temporalmente entre 0 y 5°C de temperatura que se llama "envejecimiento".

Un procedimiento para obtener un helado o un producto del tipo helado de la presente invención, se caracteriza porque se añade un enzima desamidante proteico y se permite que actúe sobre una materia láctea como la leche, leche concentrada, leche en polvo, leche sin grasa y leche seca sin grasa, y que las proteínas en la materia láctea estén desamidadas.

Alternativamente, el helado o el producto similar a un helado de la presente invención pueden obtenerse también por un procedimiento que un enzima desamidante proteico se somete a reacción en una mezcla líquida de helado que se prepara mezclando y disolviendo materias primas tales como azúcar o un emulsificante en la materia láctea, y el tratamiento desamidante se aplica a las proteínas lácteas en la mezcla del helado. Además, en esta invención, la mezcla del helado significa una mezcla que contiene leche, un producto lácteo (crema, mantequilla, leche condensada, leche en polvo, etc.) un sacárido (azúcar, etc.), un estabilizante, un emulsificante, aroma y colorante.

Además, en el procedimiento para obtener un helado o un producto similar a un helado, de la presente invención, el efecto que da una textura intensa y suave puede potenciarse porque una proteína sérica se añade además a la mezcla del helado que contiene una materia láctea, al cual se ha añadido el enzima desamidante proteico que ha permitido actuar previamente; o a la mezcla del helado, a la cual el enzima desamidante se ha añadido y permitido actuar. Alternativamente, el enzima desamidante proteico puede añadirse para la reacción después de que se añada la proteína sérica a la mezcla del helado antes de añadir y de la reacción del enzima desamidante proteico. Un cronometraje del tiempo en el que la proteína sérica se añade a la mezcla del helado, no está restringido, sin embargo, por ejemplo, puede ser conveniente en el momento de preparar la mezcla del helado mezclar-disolver

materias primas, tal como una materia láctea, azúcar, un emulsificante, etc. Como proteína sérica que va a utilizarse, pueden aplicarse concentrado proteico sérico (WPC) y aislado de proteína sérica (WPI), siendo la cantidad de adición preferentemente de 0,1-3% y más preferentemente de 0,2-2% aproximadamente para una mezcla de helado del 0,1-3%.

En el procedimiento para la producción de un helado o de un producto similar a un helado de la presente invención, pueden añadirse, si es necesario, estabilizantes tales como un engrosante, un agente de solidificación y un agente adhesivo, yema de huevo, ésteres de ácidos monograsos de la glicerina, sacarosa, un emulsificante tal como el éster de ácido graso de la glicerina, un colorante, un aroma, etc.

El enzima desamidante proteico utilizado para la presente invención no está limitado, pues posee la función de actuar directamente en el grupo amido en una proteína, de forma que corte un enlace peptídico y desamidice la proteína sin entrecruzamiento. Como ejemplos de dicho enzima, un enzima de desamidación proteica derivado de los géneros *Chryseobacterium*, *Flavobacterium* o *Empedobacter*, tal como se da a conocer en los documentos JP200050887A (Literatura de patente 7), JP200121850A, [sic. JP2001218590A] (Literatura de patente 8) y WO2006075772 (Literatura de patente 10), una proteína glutaminasa, comercializada, derivada del género *Chryseobacterium* y similares, se ejemplifican pero no se limitan en dichas publicaciones. Preferentemente se selecciona un enzima derivado del género *Chryseobacterium*. Como para una transglutaminasa, no se incluye en el enzima de desamidación proteica según la presente invención, debido a que cuando actúa la transglutaminasa en los materiales alimenticios, lleva a cabo una reacción de entrecruzamiento, prioritariamente, en las proteínas, acompañada por la reacción casi no desamidante. Además, se hace referencia a las exposiciones de las Literaturas 7, 8 y 10 de Patente.

Puede prepararse un enzima desamidante proteico a partir de un líquido de cultivo para microorganismos, que produce un enzima desamidante proteico. Pueden utilizarse procedimientos de purificación y separación proteica conocidos públicamente (tales como centrifugación, concentración UF, desalación, varios tipos de cromatografía con resinas de intercambio iónico, etc.), como un procedimiento de preparación de un enzima desamidante proteico. Por ejemplo, el líquido de cultivo se centrifuga para eliminar células bacterianas, desalándolo y llevando a cabo la cromatografía, y similar, pudiéndose combinar para obtener el enzima diana. Cuando se recoge el enzima del interior de las células bacterianas, éstas pueden romperse mediante un procesamiento de presión o ultrasónico, por ejemplo, separándose y purificándose entonces, tal como se describe anteriormente para obtener el enzima diana. Las células bacterianas pueden recuperarse a partir de un líquido de cultivo mediante filtración o centrifugación, etc., antes de las etapas de procesamiento anteriormente explicadas (tales como rompimiento de las células bacterianas, separación y purificación). El enzima puede potenciarse mediante un proceso de secado, tal como liofilización o secado al vacío, etc., pudiéndose utilizar en la etapa de secado un adyuvante del secado o un agente apropiado de masa.

La actividad del enzima desamidante proteico en esta invención se mide mediante el procedimiento siguiente:

(1) 0,1 ml de una solución acuosa que contiene un enzima desamidante proteico, se añade a 1 ml de un tampón de fosfato 0,2M (pH 6,5), que contiene 30 mM (Z-Gln-Gly), incubándose a 37°C durante 10 minutos, y cesándose entonces la reacción añadiendo 1 ml de una solución 0,4M TCA. 0,1 ml de una solución acuosa que contiene el enzima desamidante proteico, se añade a una solución que contiene 1 ml de un tampón de fosfato 0,2M (pH 6,5) que contiene 30 mM Z-Gln-Gly y 1 ml de solución 0,4M TCA, incubándose durante 10 minutos a 37°C, para preparar una solución como diana.

(2) Una cantidad de amoníaco generada por la reacción en la solución obtenida en (1), se midió utilizando un ensayo Wako de Amoníaco (preparado por Wako Pure Chemical Industries, Ltd.). La concentración de amoníaco en la solución reactiva se determinó utilizando una curva de calibración que indica una relación entre la concentración de amoníaco y la variación de la absorbancia (a 630 nm), que se prepara utilizando una solución estándar de amoníaco (cloruro amónico).

(3) La actividad de un enzima desamidante proteico, en el que la cantidad requerida de enzima para producir 1 μ mol de amoníaco por 1 minuto, se define como 1 unidad, se calcula mediante la fórmula siguiente.

Actividad enzimática (u/mL) = concentración de amoníaco en la solución reactiva (mg/L) $\times$ (1/17,03) $\times$ (el volumen de la solución reactiva (el volumen de la solución enzimática) $\times$ (1/10) $\times$ Df (17,03: peso molecular amoníaco, 2,1: volumen de la solución del sistema reactivo enzimático, 0,1: el volumen de la solución enzimática, 10: el tiempo de reacción, Df: el porcentaje de dilución de la solución enzimática).

En el procedimiento para obtener un helado o un producto similar a un helado, de la presente invención, existen dos procedimientos que hacen que el enzima desamidante proteico actúe. El primer procedimiento es uno en el que se deja que el enzima desamidante proteico actúe después de que el contenido proteico lácteo de la solución que contiene materia láctea como leche, leche seca no grasa, etc., se ajuste para que la disolución y preparación de la solución sea de entre 0,1 a 7,0% en peso, preferentemente de 0,5-6,0% en peso (el procedimiento de preincubación). El otro procedimiento es uno en el que las proteínas lácteas desamidantes anteriormente con un

enzima desamidante proteico, se vuelven a disolver en una fase acuosa (procedimiento de adición de las proteínas lácteas desamidadas). Es decir, es un procedimiento tal que la solución que contiene una materia láctea tal como leche, se trata con el enzima desamidante proteico, para preparar una proteína láctea desamidada, tratándose entonces la solución en sí misma, o una suya secada y potenciada, añadiendo agua o concentrándola, preparándose la solución de forma tal que el contenido de la proteína desamidada está entre 0,1-7,0% en peso, preferentemente entre 0,5-6,0% en peso. En otro procedimiento, el enzima puede desactivarse convenientemente calentando a 75°C o por encima de esta temperatura.

A continuación, se expone el procedimiento en el cual se añade el enzima desamidante proteico a la materia láctea tal como leche o una mezcla de helado líquido, y se hace reaccionar allí. En la presente invención, resulta preferido llevar a cabo la reacción para que la tasa de desamidación de las proteínas lácteas en la materia láctea sean del 68% o superior, es decir, entre 68% y 100%, y las condiciones de la reacción enzimática (tales como cantidad del enzima, tiempo de reacción, temperatura, pH de la solución reactiva, etc.) para corresponder a tal estado puedan fijarse apropiadamente, con objeto de que la tasa de desamidación de la proteína láctea en la solución mezclada de materia láctea, se encuentre dentro de un intervalo adecuado. Resulta preferido que la tasa de desamidación sea más alta, y en el caso de que sea inferior al 68% exista una tendencia para un efecto de mejora suficiente de la textura con respecto al hielo, bajando la tasa de desamidación, para que éste no sea adquirido. Por ejemplo, en un caso en el que la cantidad de enzima sea baja, aunque el tiempo de reacción pueda alargarse, la cantidad general de adición del enzima de desamidación proteico es preferentemente de 0,01-100 unidades, y más preferentemente de 0,1-25 unidades por 1 g (peso seco) de la proteína láctea. La temperatura preferida de reacción es de 5-75°C, y más preferiblemente, de 5-60°C. El pH preferido de la solución reactiva está entre 2 y 10, y más preferentemente, entre 4 y 8. El tiempo de reacción preferido es entre 10 segundos y 48 horas, y más preferentemente, entre 10 minutos y 24 horas.

La tasa de desamidación utilizada en esta invención muestra hasta que grado los residuos de glutamina en las proteínas lácteas en la solución que contiene una materia láctea, se desamidaron con el enzima de desamidación proteico. El estado en el que todas las glutaminas en las proteínas en la solución mezclada de materia láctea, se desamidan, se define como el 100%. En un caso en el que 15 unidades del enzima se añaden a 1 g de la proteína láctea y la mezcla resultante se somete a reacción a 55°C durante una hora, la reacción de desamidación alcanza la saturación. Así, puede obtenerse una cantidad reactiva máxima (una cantidad de amoníaco) que muestra el 100% de la tasa de desamidación. Es decir, la tasa de desaturación se obtiene basándose en la fórmula siguiente.

La tasa de desamidación (%) = [cantidad de amoníaco en la solución mezclada de la materia láctea en bruto en caso de hacer reaccionar el enzima desamidante proteico en la solución mezclada de materia láctea en bruto] ÷ [cantidad de amoníaco en la solución mezclada de materia prima láctea en caso de reacción durante una hora a 55°C, añadiendo idéntico enzima (15 unidades/1g de proteína láctea) en la misma solución mezclada de materia prima de leche] x 100.

La cantidad de amoníaco generada por la reacción de desamidación, puede medirse mediante un equipo de medición de amoníaco disponible comercialmente. Por ejemplo, la reacción enzimática se detiene añadiendo a la solución mezclada de materia láctea (como para el procedimiento de preincubación) o a la solución proteica láctea (como para el procedimiento de adición de la proteína láctea desaminizada), TCA al 12% de la misma cantidad que la solución, midiéndose la cantidad de amoníaco obtenida mediante centrifugación (12.000 rpm, 5°C, 5 minutos) utilizando el equipo F (Roche). Con mayor detalle 10 µl del sobrenadante y 190 µl del tampón trietanolamínico 0,1 M (pH 8,0) se añadieron a 100 µl del reactivo líquido II (una unión añadida al F-kit), manteniéndose durante 5 minutos a temperatura ambiente. Después de esto, se mide la absorbancia a 340 nm, utilizando 100 µl de la solución resultante. 1,0 µl del reactivo III (una unión del equipo F, glutamanato deshidrogenasa) se añade a los 200 µl restantes de la solución, fijándose durante 20 minutos a temperatura ambiente, midiéndose entonces la absorbancia a 340 nm, utilizándose las 200 µl de la solución. Se determina una concentración de amoníaco en el sobrenadante, utilizando una curva de calibración que indica la relación entre la concentración amoníaco y la variación de la absorbancia (a 340 nm), preparada utilizando una solución estándar unida a la unidad F, determinándose por tanto la cantidad de amoníaco en la solución mezclada de materia láctea, o la solución proteica láctea. Además, en un caso en el que la medición no pertenece al intervalo de la curva estándar, la solución para la medición, se diluye apropiadamente con agua, midiéndose entonces.

Tal como se describe anteriormente, un helado o un producto similar a un helado de la presente invención se convierte en un producto que rellena un contenedor, de forma que la mezcla de helado que contiene la materia láctea tratada por el enzima de desmidización proteica de la mezcla del helado se envejece si es necesario y se somete entonces a un proceso denominado congelación. Ésta se lleva a cabo con el propósito de congelar el agua en la mezcla, obteniendo un porcentaje moderado en ésta, y realizando la distribución de cada fase de sólido, gas y líquido, uniforme. El porcentaje de contenido de aire en el volumen de la mezcla, y actúa como un índice que determina la calidad del producto. Una mejora de las propiedades físicas, tal como el porcentaje del contenido de aire, pueden también considerarse como una meta, como un helado o un producto de helado de la presente invención.

Un helado que contenga poca grasa o un producto similar a un helado de la presente invención, indica uno cuyo contenido graso se encuentra entre el 3 y el 8%, y el contenido graso en el helado o en el producto similar a un helado puede medirse mediante un procedimiento habitual.

- 5 La presente invención se expone con mayor detalle mediante unos ejemplos y ejemplos comparativos a continuación, no limitándose la presente invención por dichos ejemplos.

Ejemplo 1

- 10 Este enzima desamidante proteico, en una cantidad de 2U, 4U o 10U por 1 g de proteínas, se añadió a leche completamente grasa comercialmente disponible (contenido proteico, 3,2%, Magokoro Rakuno 3,6 milk: Takanashi Milk Products o., Ltd.), respectivamente, sometándose entonces a reacción a 55°C durante 60 minutos. La proteína glutaminasa (preparada por Amano Enzyme Inc., 500 U/g, derivada del género *Chryseobacterium*; puede abreviarse en adelante como PG), se utilizó como el enzima desamidante proteico. La tasa de desamidación de las leches
15 preparadas mediante el tratamiento enzimático fue de 34%, 68% y 100%, respectivamente.

- Se preparó una mezcla de helado mediante la composición que se muestra en la Tabla 1. Es decir, una yema de huevo azucarada ("Yolk Rate LM" TAIYO KAGAKU CO., LTD.), azúcar granulado, leche seca desgrasada (YOTSUBA Co., Ltd), jarabe de glucosa-fructosa ("High-Fructoka 55" Kato Kagaku Co., Ltd.), crema fresca ("Pure fresh cream 47" Takanashi Milk Products Co., Ltd) y la leche que se desamidó mediante el tratamiento PG, se añadieron ordenadamente, y esta mezcla se agitó durante 1 minuto con Bamix (preparado por Bamix), y se esponjó durante 30 minutos a temperatura ambiente, esterilizándose entonces durante 1 minuto a 85°C en un baño de agua hirviendo y enfriándose inmediatamente con agua helada. Una parte evaporada del contenido acuso se ajustó mediante esterilización térmica, homogenizándose a 10.000 rpm mediante T.K. Robomix (Tokushu-Kika-Kogyo)
20 durante 5 minutos, y tras enfriamiento, se envejeció en una nevera (por la noche). La mezcla de helado envejecido se trató con un criocremamómetro (Hypertron HTF-6, (K.K.) FMI) durante 20 minutos, y con la mezcla tratada se rellenó un contenedor, y se hizo solidificar en un congelador (-18°C o inferior), obteniéndose un helado bajo en grasa con un contenido en ésta del 5,5%. Además, el helado con bajo contenido en grasa se preparó de forma similar utilizando una leche no tratada a la que no se añadió el enzima, como producto de control. Además, el helado con
25 un pleno contenido en grasa, se preparó con un contenido en ésta del 13,4%, de forma similar, como un producto diana.

[TABLA 1]

Materias primas	Grasa total (13,4%)	Grasa en pequeña cantidad (5,5%)
	Producto diana	Producto de control
Leche (3,7% grasa)	58,85	77,15
Crema (grasa 47%)	22,6	4,4
Leche seca desgrasada	5,7	6,5
Jarabe glucosa-fructosa (High-Fructoka 55)	4,8	3,9
Azúcar granulado	4,4	4,4
Yema de huevo (yema huevo : azúcar = 1:1)	3,5	3,5
Sabor natural (vainilla)	0,15	0,15
TOTAL	100	100

- 35 Se llevó a cabo una evaluación sensorial por un conjunto de 6 expertos en la materia. Con respecto a "textura intensa y suave", se clasificó el producto diana como +3 puntos y el producto de control se evaluó como -3 puntos, y donde se posicionó la textura del helado preparado utilizando la leche desamidada mediante el tratamiento PG, se valuó mediante baremo. En la tabla 2, se indican los valores promedio de 6 personas. Aunque el producto de control presentaba una estructura crujiente como sorbete, un baremo de evaluación resultó alto con el grado de aumento del tratamiento PG y se había cerrado a la textura intensa y suave del helado con grasa. Sin embargo, como para el producto tratado con 2U de PG, es decir, el helado preparado con una leche con un 34% de la tasa de desamidación, mejoró más que el producto de control, no fue lo suficiente para alcanzar el grado de su efecto (producto comparado 1). Por otro lado, el helado que tenía una composición de la leche tratada con 4U y 10U de PG, es decir, la leche que presenta 68% y 100% de la tasa de desaminación (los productos 1 y 2 de la invención),
40 tuvieron un claro efecto en la mejoría de la textura.

[TABLA 2]

Aspectos de evaluación	Grasa completa (13,4%)	Contenido bajo en grasa (5,5%)			
	Producto diana	Producto de control	Producto comparado 1	Producto 1 de la invención	Producto 2 de la invención
	-	-	Tasa de desamidación 34%	Tasa de desamidación 68%	Tasa de desamidación 100%
Fuerza de la textura intensa y suave	3	-3	0,5	1,9	2,6

Además, el resultado en el que el porcentaje de contenido en aire (%) se midió se muestra en la Tabla 3. Existe la tendencia de que el valor de este porcentaje del helado bajo en grasa es un poco superior al valor del helado pleno de grasa, y los valores del porcentaje de los productos 1 y 2 de la invención excedieron al valor del ulterior producto de control. Esto no mostró una gran diferencia en el porcentaje entre el producto 1 comparado y el producto de control. Además, diferencias en color (valor L, a*, b*) de los helados, se midieron mediante un medidor de diferencias de color (Minoruta Camera, CR-300). Entre ellos, se enfatizó el valor b* que muestra la fuerza amarilla que posee una diferencia en la apariencia. El resultado se muestra en la Tabla 4. Tal como se muestra en ésta, mientras que existió una tendencia a que el valor b* del producto de control disminuyó y el amarillo se volvió débil, el valor b* aumentó con el grado creciente del tratamiento con PG, comparado en el producto diana. Y, en los productos 1 y 2 de la invención, se observó también mediante observación visual, que el tono de color amarillento se acercaba al producto diana. Así, como para el helado (productos 1 y 2 de la invención), que utilizó la leche que presenta la tasa de desamidación del 68% o superior, vuelve la presencia de la textura suave e intensa, reconociéndose también que las propiedades físicas tal como el porcentaje del contenido en aire y el tono de color también habían mejorado.

[TABLA 3]

	Grasa total (13,4%)	Grasa mínima (5,5%)			
	Producto diana	Producto de control	Producto 1 comparado	Producto 1 de la invención	Producto 2 de la invención
	-	-	Tasa desamidación 34%	Tasa desamidación 68%	Tasa desamidación 100%
Contenido en aire (%)	15,81	16,3	17,43	19,15	19,34
Desviación estándar	1,80	0,7296	1,04	1,02	0,32

[TABLA 4]

	Grasa total (13,4%)	Grasa mínima (5,5%)			
	Producto diana	Producto de control	Producto 1 comparado	Producto 1 de la invención	Producto 2 de la invención
	-	-	Tasa desamidación 34%	Tasa desamidación 68%	Tasa desamidación 100%
Valor b*	16,4	13,9	14,4	15,3	16,2
Desviación estándar	0,37	0,11	0,26	0,57	0,73

Ejemplo 2

La proteína del suero láctico se conoce como el material que existe para mejorar la textura del helado. Como un producto comparado, se preparó un helado bajo en grasa como una prueba (producto comparado 2), según idéntico procedimiento que el Ejemplo 1, añadiendo 1,5% del concentrado "Bipro" de proteína del suero láctico (preparado por DAVISCO), en vez de disminuir el 1,5% de la tasa de adición de la leche. Los resultados de la evaluación sensorial, la medición del (porcentaje de aire) y la del valor b*, y los comentarios que se produjeron en el momento de la evaluación sensorial, se muestran en la Tabla 5. Como para el producto 2 comparado, mientras existió un cuerpo, y se proporcionó una textura suave como en el producto 2 de la invención, se produjo un aroma peculiar para la proteína sérica. Por otra parte, el producto 2 de la invención fue ventajoso desde el punto de vista de que no

sólo había mejorado la textura, sino que también casi no influenció el sabor o el aroma. Además, se mostró que el producto 2 de la invención es superior al que se preparó utilizando el material proteico sérico lácteo, también desde el punto de vista de la mejora en porcentaje del contenido en aire o una mejora en el tono del color, (amarillo intenso).

5

[TABLA 5]

	Grasa completa (13,4%)	Grasa mínima (5,5%)		
	Producto diana	Producto de control	Producto 2 comparado	Producto 2 de la invención
	-	-	Proteína sérica láctea	Tasa de desamidación PG 100%
Fuerza de la textura intensa y suave	3	-3	2,3	2,6
Contenido en aire (%)	17,3	16,3	16,1	22,2
Valor b*	16,5	14,2	15,3	16,2
Comentarios (evaluación total del sabor, textura, etc.	Textura intensa y suave y sabor de grasa se percibieron y muy deseables	No satisfactoria para la sensación de derretimiento en la lengua, rápidamente. Como conjunto, aroma débil	Mientras se proporcionan un cuerpo y una textura suave, se da a la proteína sérica láctica un aroma peculiar	Se proporciona una textura suave e intensa. Casi no existe influencia sobre el aroma y es deseable

Ejemplo 3

10

A una leche entera, comercialmente disponible (Magokoro Rakuno 3,6 milk: Takanashi Milk Products Co., Ltd), PG (preparada por Amano Enzyme Inc.) se le añadieron 10U por 1 g de proteínas, preparándose leche con un 100% de tasa de desamidación, que se sometió a reacción a 55°C durante 60 minutos. Se prepararon helados que redujeron gradualmente el contenido graso basándose en la composición que se muestra en la Tabla 6. Es decir, utilizando la leche que se desamidó mediante PG, se prepararon mezclas de helado con grasa total (grasa láctea 13,4%), con un 20% de reducción de la grasa de leche (grasa de leche, 10,1%), con reducción del 40% de la grasa láctea (grasa láctea 8,1%), y reducción del 60% de la grasa láctea (5,5%), sometiéndose a mezclado, esponjamiento, esterilización, homogenización, envejecimiento, congelación, relleno y solidificación, tal como idéntico procedimiento que en el ejemplo 1, de forma que se obtuvieron los helados (productos 2-5, respectivamente de la invención). De modo similar, un helado repleto de grasa (producto diana), con un porcentaje de grasa láctea del 13,4% y el helado (con reducción del 60% de la grasa láctea (producto control), con un 5,5% de grasa láctea se preparó utilizando leche no tratada. Asimismo, como para productos comparados, se prepararon mezclas de los helados de una reducción del 20% de grasa láctea (porcentaje del 10,1% de grasa láctea) y reducciones del 40% de ella (grasa láctea 8,1%), y los helados se obtuvieron de modo similar (productos comparados 3 y 4, respectivamente). Además, todas las proteínas contenidas en estos helados, se fijaron uniformemente al 4,6%.

15

20

25

Se realizó una evaluación sensorial por un conjunto de 6 expertos en la materia. Respecto a la "textura intensa y suave", el producto diana se fijó en +5 puntos y el de control en +1 punto, y si los productos 2-5 de la invención y los productos comparados 3 y 4 se posicionaron, se efectuó una evaluación mediante baremación. En la tabla 7, se indican los valores promedio de 6 personas. En primer lugar, en el caso de comparar entre helados que portaban el mismo contenido en grasas, los helados (productos 2-5 de la invención) preparados utilizando la leche que había sufrido la desamidación por PG, presentaban puntos de evaluación superiores a los de los helados (producto control, producto diana, productos 3 y 4 comparados), preparados utilizando leche no tratada.

30

35

40

En el producto 5 de la invención con una reducción del 40% en grasa, "textura intensa y suave" fue casi equivalente a la del producto diana, y la del producto 3 de la invención con grasa completa, y la del producto 4 de la invención con una reducción del 20% de grasa, excedieron el del producto diana. También, como para el producto 2 de la invención, con una reducción del 60% de la grasa, su textura se aproximaba a la del producto diana, correspondiendo este resultado al Ejemplo 1. Así, en los helados con distintos contenidos de grasa, que se prepararon utilizando la leche desamidada mediante PG, se reconoció que puede darse una textura en la cual el contenido en grasa de incrementó posteriormente. Además, en los productos 2-5 de la invención, cada valor b* fue superior al del producto diana, los productos de comparación 3 y 4, y el producto control, respectivamente, se reconoció también que existe una tendencia para que el tono amarillento devenga más intenso.

[TABLA 6]

Materias primas	Contenido en grasa (%)			
	13,4 (grasa completa)	10,1 (reducción del 20%)	8,1 (reducción del 40%)	5,5 (reducción del 60%)
	Producto diana	Producto comparado 3	Producto comparado 4	Producto control
Leche no tratada	58,85	66,95	71,85	77,95
Leche (tratada con PG: tasa de desamidación del 100%)	0	0	0	0
Crema fresca (47% de grasa)	22,6	15	10,3	4,4
Leche seca sin grasa	5,7	5,4	5,2	5
Jarabe glucosa-fructosa	4,8	4,7	4,7	4,7
Azúcar	4,4	4,3	4,3	4,3
Yema de huevo azucarada	3,5	3,5	3,5	3,5
Sabor natural (vainilla)	0,15	0,15	0,15	0,15
	100	100	100	100
Materias primas	Contenido en grasa (%)			
	13,4 (grasa completa)	10,1 (reducción del 20%)	8,1 (reducción del 40%)	5,5 (reducción del 60%)
	Producto 3 de la invención	Producto 4 de la invención	Producto 5 de la invención	Producto 2 de la invención
Leche no tratada	0	0	0	0
Leche (tratada con PG: tasa de desamidación 100%)	58,85	66,95	71,85	77,95
Crema en bruto (grasa 47%)	22,6	15	10,3	4,4
Leche seca no grasa	5,7	5,4	5,2	5
Jarabe glucosa-fructosa	4,8	4,7	4,7	4,7
Azúcar	4,4	4,3	4,3	4,3
Yema de huevo azucarada	3,5	3,5	3,5	3,5
Aroma natural (vainilla)	0,15	0,15	0,15	0,15
	100	100	100	100

[TABLA 7]

	Contenido en grasa (%)			
	13,4 (grasa completa)	10,1 (reducción del 20%)	8,1 (reducción del 40%)	5,5 (reducción del 60%)
	Producto diana	Producto comparado 3	Producto comparado 4	Producto control
Fuerza de la textura intensa y suave	5	2,53	1,52	1
	Contenido en grasa (%)			
	13,4 (grasa completa)	10,1 (reducción del 20%)	8,1 (reducción del 40%)	5,5 (reducción del 60%)
	Producto 3 de la invención	Producto 4 de la invención	Producto 5 de la invención	Producto 2 de la invención
Fuerza de la textura intensa y suave	6,7	6,13	5,33	4,05

Ejemplo 4

La presente invención puede obtener un efecto deseable utilizando combinadamente la proteína de suero lácteo y aplicando el tratamiento PG sobre no sólo la leche, sino también sobre el conjunto de la mezcla del helado. Según composiciones de la Tabla 8, los helados se prepararon de la siguiente forma. En primer lugar, una leche plena en grasa, disponible comercialmente (Magokoro Rakuno 3,6 milk: Takamashi Milk Product Co., Ltd), PG fabricada por Amano Enzyme Inc.), se añadió a la leche mediante 10U por 1g de proteínas lácteas que se sometió a reacción en 55°C durante 60 minutos, para preparar una leche que presentaba un 100% de tasa de desaminización. Además, con dicha leche, y otros materiales básicos en bruto (véase Tabla 1), se mezcló una mezcla de helado con 0,5% del concentrado "Bipro" de proteína del suero lácteo (preparado por DAVISCO), sometiéndolo a mezcla, esponjamiento esterilización, homogeneización y envejecimiento, como en idéntico procedimiento que en el Ejemplo 1, de forma que se prepare una mezcla de helado, y ésta se someta a congelación, relleno y solidificación, para obtener un helado con poca grasa con un contenido de grasa del 5,5% (producto 6 de la invención). Además, una leche no tratada y otras materias primas de base (véase Tabla 1), se mezclaron y agitaron mediante un Barmix (el contenido proteico de la mezcla: 5,12%), a la cual se añadió la mezcla PG en una cantidad de 4,4U por 1 g de proteínas, y se sometió a reacción a 55°C durante 60 minutos. Después de la reacción, se preparó una mezcla del helado, mediante esterilización, homogeneización y envejecimiento y la mezcla preparada de helado, se sometió a congelación, relleno y solidificación, para obtener un helado con poca grasa, con un 5,5% de contenido en grasa (producto 7 de la invención). Igual que en los Ejemplos 1 y 2, se obtuvo un helado bajo en grasa con un 5,5% de contenido graso, utilizando la leche no tratada sin añadir el enzima como producto de control, y se obtuvo un helado pleno de grasa con un 13,4% del contenido en grasa utilizando leche no tratada como un producto diana. Además, una mezcla de helado añadiendo 0,5% del concentrado proteico de suero proteico "Bipro" (preparado por DAVISCO), se preparó utilizando la leche tratada sin añadir el enzima para obtener un helado bajo en grasa con un 55% de contenido graso (producto comparado 5).

[TABLA 8]

	Entero (13,4%)	Bajo en grasa (5,5%)			
	Producto diana	Producto control	Producto comparado 5	Producto 6 de la invención	Producto 7 de la invención
	Leche no tratada	Leche no tratada	Leche no tratada + suero lácteo al 0,5%	Leche tratada con PG + suero lácteo al 0,5%	Todas las materias primas tratadas con PG incluyendo leche no tratada
Leche (no tratada o tratada con PG)	58,85	77,15	76,65	76,65	77,15
Crema (grasa 47%)	22,6	4,4	4,4	4,4	4,4
Leche seca desgrasada	5,7	6,5	6,5	6,5	6,5
Jarabe glucosa-fructosa	4,8	3,9	3,9	3,9	3,9

Azúcar	4,4	4,4	4,4	4,4	4,4
Yema de huevo	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Aroma natural (vainilla)	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Concentrado Bipro® de proteína de suero lácteo	0	0	0,5	0,5	0
Intensidad PG	0	0	0	0	0,049
	100	100	100	100	100

Se realizó una evaluación sensorial mediante un conjunto de 5 expertos en la materia. Respecto a "textura intensa y suave" el producto diana se fijó como +3 puntos, y el producto control se fijó a -3 puntos y si los productos 6 y 7 de la invención tienen que posicionarse, se evaluó mediante baremación y calculando el promedio de 5 expertos en la materia. Tal como se muestra en la Tabla 9, para el producto 6 de la invención, la fuerza de la textura intensa y suave fue casi equivalente a la del producto diana. Es decir, el 0,5% del concentrado de la proteína del suero se añadió a la leche desamizada por PG lo que el efecto de mejora de la textura crujiente peculiar del helado con grasa escasa, que constituye el producto de control, aumentó, reconociéndose que se obtuvo un helado que tiene la textura equivalente a la del helado con una grasa abundante. Como para el helado preparado como un producto comparado, es decir, el producto comparado 5 con la adición de la leche no tratada y el 0,5% del concentrado proteico del suero, la textura suave y rica fue incapaz de darse suficientemente. Por otra parte, también como para el producto 7 de la invención, que se preparó dejando que PG actuara sobre el conjunto de la mezcla de helado, la fuerza de la suave y rica textura, se aproximaba casi a la del producto diana. Es decir, debido al hecho de que un objeto que va a tratarse mediante PG, no está restringido a la leche, es decir, debido también al hecho de que las proteínas en la mezcla láctea, la leche seca no grasa, y la yema de huevo son desamizadas mediante PG, se reconoció que puede obtenerse la textura próxima a la del producto diana.

Además, como resultado de medir el porcentaje del contenido en aire con respecto al volumen de la mezcla y el valor b*, mediante idéntico procedimiento que el del Ejemplo 1, tal como se muestra en la Tabla 9, los porcentajes del contenido en aire con respecto al volumen de la mezcla de los productos 6 y 7 de la invención, excedían el de todos los productos diana, siendo claramente más altos el producto de control y el producto 5 de comparación, y los valores b* de los productos 6 y 7 de la invención, que el del producto de control y el producto 5 de comparación, reconociéndose que los valores b* de los productos de la invención están cercanos al producto diana.

TABLA 9

	Entero (13,4%)	Bajo en grasa (5,5%)			
	Producto diana	Producto de control	Producto 5 comparado	Producto 6 de la invención	Producto 7 de la invención
	-	-	Suero láctico =,5%	10U de PG + 0,5% de suero para la leche	4,4U de PG para la mezcla
Fuerza de la textura rica y suave	3	3	0,5	3	2,7
Porcentaje de aire (%)	18,2	16,3	17,67	20,02	19,9
Valor b*	16,8	13,9	14,1	16	15,6

Aplicabilidad industrial

Según la presente invención está previsto que no únicamente se proporcione a un helado o producto similar a un helado, una textura suave e intensa, sino que también pueden mejorarse las propiedades físicas (tono del color y porcentaje del contenido en aire) con respecto al volumen de la mezcla. Además, la calidad es improbable, incluso en el caso de un helado o de un producto similar a un helado con grasa reducida. Por tanto, la presente invención es muy útil para la industria alimentaria.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para producir un helado o un producto similar a un helado, en el que un enzima que puede desamidar sin reticulación una proteína se añade y se permite actuar sobre una materia láctea o una mezcla de helado líquido, en el que a tasa de desamidación de las proteínas lácticas en la materia láctica o la mezcla de helado líquido a las que se añade y permite actuar el enzima, es de 68 a 100%, y en el que se añade y mezcla una proteína de suero de leche en una cantidad de 0,1 a 3% de la mezcla de helado líquido.
- 5
- 10 2. Helado o producto similar a un helado, producido mediante el procedimiento según la reivindicación 1.
3. Helado o producto similar a un helado bajo en grasa en el que el contenido en grasa es de 3 a 8%, producido mediante el procedimiento según la reivindicación 1.