



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 00807387.2

[45] 授权公告日 2004 年 3 月 24 日

[11] 授权公告号 CN 1142720C

[22] 申请日 2000.3.2 [21] 申请号 00807387.2

[30] 优先权

[32] 1999. 3. 10 [33] GB [31] 9905524.6

[32] 1999. 7. 23 [33] EP [31] 99305842.9

[86] 国际申请 PCT/EP00/01757 2000.3.2

[87] 国际公布 WO00/53026 英 2000.9.14

[85] 进入国家阶段日期 2001.11.9

[71] 专利权人 荷兰联合利华有限公司

地址 荷兰鹿特丹

[72] 发明人 A·达尼尔 A·霍德勒 A·琼斯

J·R·奥德罗伊德 S·辛莱顿

审查员 李斌卫

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

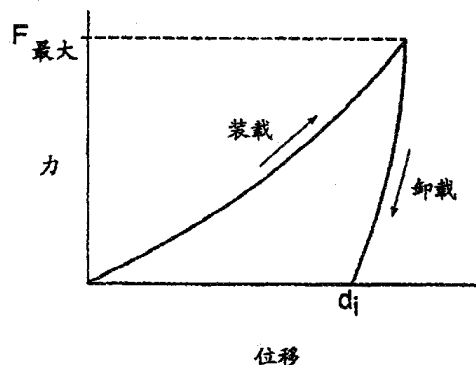
代理人 马崇德 钟守期

权利要求书 2 页 说明书 30 页 附图 7 页

[54] 发明名称 冰冻糖食

[57] 摘要

一种含有防冻蛋白的冰冻糖食，其中 Δ 模量/原始模量 ≥ 0.4 ，和/或 Δ 强度/原始强度 ≥ 0.4 ；前提条件是当 Δ 模量/原始模量 ≤ 6.0 时， Δ 模量 $\geq 50\text{MPa}$ ，和/或当 Δ 强度/原始强度 ≤ 2.0 时， Δ 强度 $\geq 0.2\text{MPa}$ 。这种冰冻糖食具有坚固的紧密充实的连续冰晶网并且可以用于制造具有新质地、性能和/或形状的制品。



1. 一种含有防冻蛋白的冰冻糖食，其中
 Δ 模量/原始模量 ≥ 0.4 ，和/或
 Δ 强度/原始强度 ≥ 0.4 ；前提条件是当
5 Δ 模量/原始模量 ≤ 6.0 时，
 Δ 模量 $\geq 50\text{MPa}$ ，和/或当 Δ 强度/原始强度 ≤ 2.0 时，
 Δ 强度 $\geq 0.2\text{MPa}$ 。
2. 权利要求1的冰冻糖食，其中 Δ 模量/原始模量 ≥ 0.4 ，前提
条件是当 Δ 模量/原始模量 ≤ 0.6 时， Δ 模量 $\geq 90\text{MPa}$ 。
- 10 3. 权利要求1的冰冻糖食，其中 Δ 模量/原始模量 ≥ 1.0 ，前提
条件是当 Δ 模量/原始模量 ≤ 6.0 时， Δ 模量 $\geq 100\text{MPa}$ 。
4. 权利要求1的冰冻糖食，其中 Δ 强度/原始强度 ≥ 0.7 。
5. 权利要求4的冰冻糖食，其中 Δ 强度/原始强度 ≥ 1.5 。
6. 权利要求1的冰冻糖食，其中 $\Delta H_v/H_{v\text{原始}} \geq 0.3$ ，前提条件是
15 当 $\Delta H_v/H_{v\text{原始}} \leq 5.0$ 时， $\Delta H_v \geq 0.3$ 。
7. 权利要求1的冰冻糖食，其中选择防冻蛋白以致它使冰晶的
长宽比达到大于1.9。
8. 权利要求7的冰冻糖食，其中选择防冻蛋白以致它使冰晶的
长宽比达到1.9-3.0。
- 20 9. 权利要求8的冰冻糖食，其中选择防冻蛋白以致它使冰晶的
长宽比达到2.0-2.9。
10. 权利要求9的冰冻糖食，其中选择防冻蛋白以致它使冰晶的
长宽比达到2.1-2.8。
11. 权利要求1的冰冻糖食，其中防冻蛋白是AFP III型HPLC
25 12。
12. 权利要求1的冰冻糖食，其中防冻蛋白的存在浓度为至少
0.0005wt%。
13. 权利要求12的冰冻糖食，其中防冻蛋白的存在浓度为至少
0.0025wt%。
- 30 14. 权利要求1-12任一项所述的冰冻糖食，其中冰冻糖食的含
冰量当在 -18°C 下测定时为至少30%体积。
15. 权利要求14的冰冻糖食，其中冰冻糖食的含冰量当在 -18°C

下测定时为至少 40%体积。

16. 权利要求 15 的冰冻糖食，其中冰冻糖食的含冰量当在 -18°C 下测定时为至少 50%体积。

5 17. 权利要求 1-12 任一项所述的冰冻糖食，其中冰冻糖食是未充气的。

18. 权利要求 17 的冰冻糖食，其中冰冻糖食是未充气的冰淇淋、糖水冰糕或奶冰。

19. 权利要求 1-12 任一项所述的冰冻糖食，其接触比为至少 0.2 并且当在 -18°C 下测定时其含冰量为 50-90wt%。

10 20. 权利要求 1-12 任一项所述的冰冻糖食，其欧拉-庞加莱指数为小于 -150mm^{-2} 并且当在 -18°C 下测定时其含冰量为 50-90wt%。

21. 前述权利要求任一项所述的冰冻糖食在提供具有高度轮廓感的冰冻糖食制品中的用途。

冰冻糖食

技术领域

5. 本发明涉及新的冰冻糖食。具体说本发明涉及新的含防冻蛋白的冰冻糖食。

发明背景

10 人们非常期望能够制造具有新形状、性能和/或质地的冰冻糖食。然而，迄今使产品具有高度的新颖性和兴趣性的能力是有限的。不得不用仅有的包装、储藏和分配能力来制造产品。

现在我们发现在经选择的冰冻糖食中包含特定的防冻蛋白，会在冰冻糖食内形成坚固、紧密充实的连续冰晶网。结果，使冰冻糖食具有了特定明确的机械性能。这种冰冻糖食具有新的质地和/或性能。
15 这些新的特点可以在包装、储藏和运输期间得到保持。

WO 98/04146 (Unilever)公开了可以将 AFPs 掺加到诸如冰冻糖食的冷冻食物制品中，以提供所需的产品性能，前提是改变产品和工艺条件，以致在产品中形成的冰晶的长宽比大于 1.9，优选 1.9-3.0。所给出的具体实施例完全是充气的冰淇淋组合物。正如下面的对比实
20 施例 A-C 所示，向充气冰淇淋添加防冻蛋白不能显著地改变冰淇淋的机械性能。WO 98/04146 没有教导可以提供具有新的机械性能特定冰冻糖食制品。

WO 96/39878 (The Pillsbury 公司)公开了一种便于储藏的冷冻组合物的生产方法，该方法在储藏之前不需要硬化步骤。该冷冻组
25 合物含有防冻蛋白，具体说是 I 型 AFP。实施例显示了充气冰淇淋和充气冷冻酸奶的制备。正如下面的对比实施例 A-C 所示，向充气冰淇淋添加防冻蛋白不能显著地改变冰淇淋的机械性能。WO 96/39878 没有教导可以提供具有新的机械性能特定冰冻糖食制品。

US 5 118 792 (Warren 等)公开了将熔融蛋白，具体说是熔融蛋
30 白 A-Saf5，添加到能够食用的冷冻食品中，例如，冰淇淋、冷冻酸奶、冰奶、冰冻果汁水、冰棍和冷冻搅打起泡稀奶油。没有实施例给出其中的成品冰冻糖食是含这种熔融蛋白来提供的。实施例 3B 显示

当在“激冷板测定(splat assay)”中使用冰棍配方时，冰晶的生长受到限制。

意想不到地，我们发现向所定义的冰冻甜食例如糖水冰糕、冰奶和未充气的冰淇淋中添加特定的防冻蛋白可以在冰冻甜食内形成坚固、紧密充实的连续冰晶网，从而使冰冻甜食的机械性能得到明显、有利的改变。

发明公开

因此，本发明提供一种含有防冻蛋白的冰冻甜食，其中：

10 Δ 模量/原始模量 ≥ 0.4 ，和/或
 Δ 强度/原始强度 ≥ 0.4 ；前提条件是当
 Δ 模量/原始模量 ≤ 6.0 时， Δ 模量 $\geq 50\text{MPa}$ ，和/或当 Δ 强度/原始强度 ≤ 2.0 时，
 Δ 强度 $\geq 0.2\text{MPa}$ 。

15 优选， Δ 模量/原始模量 ≥ 0.4 ；前提条件是当 Δ 模量/原始模量 ≤ 6.0 时， Δ 模量 $\geq 90\text{MPa}$ 。

首选， Δ 模量/原始模量 ≥ 1.0 ；前提条件是当 Δ 模量/原始模量 ≤ 6.0 时， Δ 模量 $\geq 100\text{MPa}$ 。

优选， Δ 强度/原始强度 ≥ 0.7 。首选， Δ 强度/原始强度 ≥ 1.5 。

20 “模量”意指使用四点弯曲试验测定的表观弹性模量(E)。实施例 1 将给出进行四点弯曲试验的标准方法。

因此， Δ 模量(ΔE)意指在配方和制造工艺方面全部相同、不同之处是第一种冰冻甜食组成中含有防冻蛋白而第二种冰冻甜食组成中不含防冻蛋白(对照组合物)的两种冰冻甜食之间的模量变化。原始模量($E_{\text{原始}}$)是对照组合物中测定的模量。

“强度”意指弯曲强度(σ_u)，其可以定义为在特定条件下物料可以耐受的最大应力。在四点弯曲试验中记录的力对位移曲线上的最大力的点处的应力认为是弯曲强度。

30 因此， Δ 强度($\Delta\sigma_u$)意指在配方和制造工艺方面全部相同、不同之处是第一种冰冻甜食组成中含有防冻蛋白而第二种冰冻甜食组成中不含防冻蛋白(对照组合物)的两种冰冻甜食之间的强度变化。原始强度($\sigma_{u\text{原始}}$)是对照组合物中测定的模量。

除了表观弹性模量和弯曲强度中的变化外,本发明的冰冻糖食可以提供产品硬度的增加。对通过搅拌冷冻的冰冻糖食来说,例如在冰淇淋冷冻机(如刮板式热交换器)中,硬度的增加可以使用维克斯硬度(Vickers 硬度)试验来测定。维克斯硬度试验的内容见实施

5 3.

添加防冻蛋白增加冰冻糖食维克斯硬度(H_v)的程度部分取决于冰冻糖食中的含冰量。

然而,通常来说, $\Delta H_v/H_{v\text{原始}} \geq 0.3$, 前提条件是当 $\Delta H_v/H_{v\text{原始}} \leq 5.0$ 时, $\Delta H_v \geq 0.3$ 。

10 优选, $\Delta H_v/H_{v\text{原始}} \geq 1.0$, 前提条件是当 $\Delta H_v/H_{v\text{原始}} \leq 5.0$ 时, $\Delta H_v \geq 1.25$ 。

首选, $\Delta H_v/H_{v\text{原始}} \geq 6.0$, 或者 $\Delta H_v/H_{v\text{原始}} \leq 6.0$ 且 $\Delta H_v \geq 2.0$ 。

其中 ΔH_v 意指在配方和制造工艺方面全部相同、不同之处是第一种冰冻糖食组成中含有防冻蛋白而第二种冰冻糖食组成中不含防冻蛋白(对照组合物)的两种冰冻糖食之间的维克斯硬度变化。 $H_{v\text{原始}}$ 是对照组合物中测定的原始维克斯硬度。

“冰晶的紧密充实连续网”意指任何一个指定的冰晶都与至少一个其它冰晶相联结。

在通过搅拌冷冻的未充气冰冻糖食中,网形成的程度可以按接触比来测定。接触比定义为颗粒与颗粒界面面积除以总界面面积的比值。由此测定颗粒相的网形成程度。实施例4显示了接触比的测定方法。

25 本发明的未充气冰冻糖食,当在 -18°C 下测定时,对50-90wt%、优选54-85wt%的含冰量来说,其接触比为至少0.2如实施例4中给定的测试方法测定。

在通过任何手段冷冻的未充气冰冻糖食中,网形成的程度可以按冰相的欧拉-庞加莱指数(Euler-Poincare characteristic)测定。欧拉-庞加莱指数是特定相的网形成程度的测定值。欧拉-庞加莱指数的值越低和越负,所针对相的连续性越大。实施例5显示了欧拉-庞加莱指数的测定方法。

30 本发明的未充气冰冻糖食,当在 -18°C 下测定时,对50-90wt%、优选54-85wt%的含冰量来说,其冰相欧拉-庞加莱指数通过实施例5

给出的试验测定为小于 -150 mm^{-2} 。

“防冻蛋白(AFP)”意指具有明显冰再结晶抑制性的蛋白质，所说的冰再结晶抑制性按照实施例2测定。AFP提供小于 $20 \mu\text{m}$ 的再结晶时的冰粒粒度，更优选 $5-15 \mu\text{m}$ 。

- 5 优选的冰冻糖食中含有至少 $0.0005\text{wt}\%$ 的防冻蛋白，更优选 $0.0025\text{wt}\%$ 的防冻蛋白。典型地，冰冻糖食中含有 $0.0005\text{wt}\%-0.005\text{wt}\%$ 的防冻蛋白。

对某些用途来说，两种或更多种不同AFP包含在食物制品中是有利的。

- 10 用于本发明制品的AFP可以是任何适合食物制品使用的AFP。AFP适宜来源的实例例如可见文章“防冻蛋白及其在冷冻食品中的潜在用途”，Marylin Griffith和K. Vanya Ewart,《生物技术进展》(Biotechnology Advances),第13卷,第375-402页,1995以及专利申请WO 98/04699, WO 98/04146, WO 98/04147, WO 98/04148和
15 WO 98/22591。

AFP可以通过任何适宜的方法从它们的来源中获得，例如在上述提及的文献中描述的分离法。

- 一种AFP物质的可能的来源是鱼。鱼AFP物质的实例是防冻糖蛋白(AFGP)(例如,可获得自大西洋鳕鱼、格陵兰鳕鱼和大西洋小鳕);
20 I型AFP(例如,可获得自美洲拟鲈、美洲黄盖鲈、短角牛杜父鱼(Shorthorn sculpin)和生蛆杜父鱼(Grubby sculpin));II型AFP(例如,可获得自美洲绒杜文鱼、胡瓜鱼和大西洋鲱鱼)以及III型AFP(例如,可获得自美洲大绵尉、大西洋狼鱼、放射状鳎(Radiated shanny)、岩锦鳎(Rock gunnel)和拉沃氏江鳎(Laval's eelpout))。
25 后者类型的优选实例在WO 97/02343中有所描述。

另一种可能的AFP物质的来源是无脊椎动物。AFP还可以获得自细菌。

- AFP物质的第三种来源是植物。含AFP的植物的实例是大蒜-芥菜、蓝木紫苑属(blue wood aster)、春燕麦、山芥属、winter canola、
30 抱子甘蓝、胡萝卜、兜状荷色牡丹、大戟属、黄花菜,冬大麦、弗吉尼亚晃菊(waterleaf)、窄叶车前草、车前草、剑草(speargrass)、肯塔基六月禾、东方三角叶杨、白橡木、冬黑麦、苦甜茄属

(bittersweet nightshade)、马铃薯、繁缕、蒲公英、春小麦和冬小麦、黑小麦、长春花、紫罗兰和草。

可以使用天然存在的品种，也可以使用通过基因修饰获得的品种。例如，对微生物或植物进行基因修饰以表达 AFP，然后用于本发明。

可以使用基因操作技术来生产 AFPs。可以使用基因操作技术来生产与从天然含 AFPs 的植物源中直接获得的 AFPs 具有至少 80%、更优选 95%以上、首选 100%同源性的 AFPs。出于本发明的目的，这些具有高水平同源性的 AFPs 也属于术语“AFP”的范围。

基因操作技术可以如下使用：通过包含所需多肽的基因构建体来转化适宜的宿主细胞或生物。可以将用于编码多肽的核苷酸序列插入合适的表达载体，其中所说的载体编码用于转录和翻译的必要的单位，并且以它们在适宜条件下（例如，以适当的取向和校正的读框并且具有适宜的导向和表达序列）能够被表达的方式进行。构建这些表达载体需要的方法对本领域技术人员来说是公知的。

很多表达系统均可以用来表达多肽编码序列。其中包括（但不限于此）细菌、酵母、昆虫细胞体系、植物细胞培养体系和全部用适宜表达载体转化的植物。

可以用所需多肽的核苷酸构建体转化各种植物和植物细胞体系。优选的实施方案包括（但不限制于此）玉米、番茄、烟草、胡萝卜、草莓、油菜籽和甜菜。

对一些天然来源来说，AFPs 可能由两种或多种不同的 AFPs 的混合物组成。

选择优选的防冻蛋白以致它使冰晶达到大于 1.9 的长宽比，优选 1.9-3.0，更优选 2.0-2.9，更优选 2.1-2.8（参见 WO 98/04146）。特别是，能够给冰晶提供大于 1.9 长宽比的防冻蛋白是用于添加到充气冰冻糖食中的优选的 AFP。长宽比定义为颗粒的最大直径除以其最小直径。长宽比可以通过任何适宜的方法来测定。实施例（实施例 6）中介绍了一种优选的方法。

出于本发明的目的，优选的 AFPs 得自于鱼类。特别优选使用 III 型鱼蛋白，首选我们的申请 WO 97/02343 中描述的 HPLC 12。特别是，HPLC 12 III 型 AFP 是用于添加到充气冰冻糖食中的优选的 AFP。

因为添加了防冻蛋白而能够显出机械性能所需变化的冰冻甜食包括未充气的含奶冷冻甜食，如冰淇淋、冻酸奶和冻蛋奶、充气和未充气的冰冻果汁水(sherbet)和奶冰以及典型不含奶的充气和未充气的冷冻甜食，如糖水冰糕、加果酒或果汁的冰水(sorbet)、格兰尼它冰糕和冻果泥。

5 优选，冰冻甜食选自未充气的冰淇淋，未充气或充气的糖水冰糕和未充气 and 充气的奶冰。

首选，冰冻甜食选自未充气的糖水冰糕、充气的糖水冰糕或未充气的奶冰。

10 “糖水冰糕”意指基本上由糖、水、果酸或其它酸化剂、着色剂、水果或水果风味剂制作的冷冻溶液。

“未充气的”意指膨胀量小于 25% (相当于 0.2 体积份空气)、优选小于 10% (相当于 0.09 体积份空气) 的冰冻甜食。在冰冻甜食的加工过程中，不考虑诸如搅打起泡使产品气体含量增加的步骤。然而，应当认识到在制备未充气冰冻甜食的正常方法中，会有少量气体或空气混入产品中，例如由于使用了混合条件。

15 其组成中包含有防冻蛋白的冰冻甜食(以致于冰冻甜食的机械性能如所述得到改变)可以提供很多具有不同形状、质地和性能的引人入胜的新产品。

20 含防冻蛋白的冰冻甜食可以构成整个产品，也可以是复合产品的一个组成部分。

可以使用其组成中含有防冻蛋白的冰冻甜食(以致于冰冻甜食的机械性能如所述得到改变)制作的制品的一个实例是具有高度轮廓感的成型制品。

25 人们，特别是儿童，日益要求冰冻甜食能够提供具有复杂形状的制品，如具有卡通特性等的制品。然而，迄今这种制品不能生产出具有高度的轮廓感。其它小的具有凸出部分特点的产品，如手形或喙形产品，在制造、包装、储藏或运输过程中容易折断。

30 “高度轮廓感”含义的一个实例是具有凸出部分的制品，其中所说的凸出部分的长度典型地大于 3mm 并且可以长至 5cm 或更长，同时厚度仅有 1-5mm。这种凸出部分正常情况下不能耐受标准制造、包装、储藏和运输过程。

现在我们发现,通过使用具有如上所述机械性能的冰冻糖食可以提供这种成型制品。

冰冻糖食中的含冰量当在 -18°C 下测定时典型地为至少 30%体积,更优选当在 -18°C 下测定时为至少 40%体积,首选当在 -18°C 下测定时为至少 50%体积。

含冰量可以按照 B de Cindio 和 S Carrera 在《食品工程杂志》(Journal of Food Engineering)第 24 卷第 405-415 页(1995)的文章中所述的技术来测定。使用绝热的量热法 (Holometrix 绝热量热计)获得此技术所需要的焓数据。本文中,所表达的含冰量是对 80g 样品进行测定的,其中所说的样品在放入量热计(预冷至 -70°C 至 -80°C)中之前先倾入量热计样品贮留器中并将组件放入干冰中冷却至 -75°C ,按照 Cindio 和 Carrera 的方法,分析所获得的焓数据得到含冰量,其是温度的函数。

通常来说,冰冻糖食中的总可溶性固形物含量为小于 40wt%,优选小于 25wt%,首选小于 15wt%。对低热量产品来说,总可溶性固形物含量可以低至例如大约 5wt%。

总可溶性固形物含量在 4°C 下测定并且是在此温度下被溶解的总组合物的 wt%。

还观察到,本发明的制品当放置在常温下时可以较长时间地保持其结构完整性。

附图详述

图 1 显示了四点弯曲试验期间记录数据的示意图。

图 2 显示了维克斯硬度试验中典型力对位移曲线的示意图。

在图 3-19 中,由(□)表示含 AFP 的实施例,由(◆)表示不含 AFP 的对照样品。

图 3 显示了实施例 7-10 测定的表观模量与对照样品的比较。

图 4 显示了实施例 7-10 测定的弯曲强度与对照样品的比较。

图 5 显示了实施例 7-10 测定的维克斯硬度与对照样品的比较。

图 6 显示了实施例 11 测定的表观模量与对比实施例 A、B&C 和相关对照样品的比较。

图 7 显示了实施例 11 测定的弯曲强度与对比实施例 A、B&C 和相关对照样品的比较。

图 8 显示了实施例 11 测定的维克斯硬度与对比实施例 A、B&C 和相关对照样品的比较。

5 图 9 显示了实施例 12-16 测定的表观模量与相关对照样品的比较。

图 10 显示了实施例 12-16 测定的弯曲强度与相关对照样品的比较。

10 图 11 显示了实施例 12-16 测定的维克斯硬度与相关对照样品的比较。

图 12 显示了实施例 17-20 测定的表观模量与对照样品的比较。

图 13 显示了实施例 17-20 测定的弯曲强度与对比样品的比较。

图 14 显示了实施例 17-20 测定的维克斯硬度与对照样品的比较。

15 图 15 显示了实施例 21-24 测定的表观模量与对照样品的比较。

图 16 显示了实施例 21-24 测定的弯曲强度与对比样品的比较。

图 17 显示了实施例 25-28 测定的表观模量与相关对照样品的比较。

20 图 18 显示了实施例 25-28 测定的弯曲强度与相关对比样品的比较。

图 19 显示了实施例 25-28 测定的维克斯硬度与相关对照样品的比较。

实施例

25 本发明将通过以下实施例的方式作举例说明。

实施例 1

四点弯曲试验

30 使用标准四点弯曲试验可以测定冰冻糖食物料的许多机械性能。

测定的机械性能是杨氏模量(表观)和弯曲强度。

在弯曲试验中,使测试件变形,同时测定施加的力和测试件的偏

转。冰冻糖食的图示性数据组示于图 1 中。根据此曲线开始直线部分的斜率（梯度）测定表观弹性模量。

4-点弯曲试验需要生产冰冻糖食物料的平行边矩形棒。这可以通过任何适宜的手段获得。

5 在此特定的应用中，使用铝模具制作冰冻糖食的平行边矩形棒，生产尺寸为 $25 \times 25 \times 200$ mm 的棒。

a) 静止冷冻的冰冻糖食

10 将液体冰冻糖食预混物倾入模具中，将所说的模具在 -35°C 的气流冷冻机中预冷却至少 30 分钟，然后将模具放入 -35°C 的气流冷冻机中至少 2 小时。然后将样品脱模并且在 -25°C 下储藏直至测试（5-6 天后进行）。测试前 18-24 小时，将样品通过在 -18°C 下储藏使其平衡， -18°C 是进行全部试验的温度。每样品组测试最少 10 个棒，并且记录每个样品组的平均值作为被测的机械性能值。

15

b) 搅拌冷冻的冰冻糖食

20 将冰冻糖食从 -1°C 到 -5°C 的冰淇凌冷冻机（刮板式热交换器）中挤出到在 -35°C 下气流冷冻机中预冷却至少 30 分钟的模具中，其中冰淇凌冷冻机的温度取决于冰冻糖食，模具用硅纸衬底以防止冰-金属粘合。然后，按上述静止冷冻样品的方式制备样品。

25 适合所有类型固体的通用试验描述于《生物力学材料，一种实践方法》(Biomechanics Materials. A practical Approach) J. F. V. Vincent 编，IRL Press 出版，牛津大学出版社，Walton Street，牛津，1992 和《塑料试验材料手册》(Handbook of Plastics Test materials)，R. P. Brown 编，George Godwin Limited 出版，The Builder Group，1-3 Pemberton Row，Fleet Street，伦敦，1981。试验包括将每个棒状物放在 2 个载体上，并且使之弯曲，直至由两个上面载体施加压力使棒状物上表面的中央产生断裂（所说的两个上面载体相距 85mm）。在整个试验过程中记录弯曲所施加的力和移动接触的位移。移动载体的下降速度是每分钟 50mm。

30

通过以下等式给出物料的表现弹性模量：

$$E = \frac{(0.21) \cdot \text{斜率} \cdot S^3}{BD^3}$$

其中斜率为图 1 所示，S 是测试棒下面的载体接触之间的跨距(距离)，B 是棒状物的宽度并且 D 是棒状物的深度。

- 5 这些试验中，跨距(S)是 170mm。
参考图 1，物料在三点弯曲条件下的强度为

$$\sigma_b = \frac{(0.75) \cdot F_{\text{最大}} S}{BD^2}$$

其中 σ_b 是弯曲强度并且 $F_{\text{最大}}$ 是记录的最大力。

10

实施例 2

AFP 是否具有冰再结晶抑制性的测定方法

- 再结晶抑制性可以使用改良的“激冷板测定(splat assay)”
(Knight 等, 1988)来测定。将 2.5 μ l 需测试的 30% (w/w)蔗糖溶液
15 移动到一干净、适当标记的 16 mm 圆形滑动盖板(cover slip)上。将
第二个滑动盖板放在溶液滴的上面，并且将此层叠物用食指和拇指紧
压在一起。将此层叠物投入位于干冰盒中的保持在-80 $^{\circ}$ C 的己烷浴
中。当制备完所有的层叠物时，使用在干冰中预冷的钳子，将层叠物
20 $^{\circ}$ C 之后，可以看到层叠物的外观从透明变成不透明。通过影像照相机
记录图象并且抓到图象分析系统(LUCIA, Nikon)中，使用 20x 物镜。
在时间= 0 时记录每个激冷片的图象，并且在 60 分钟之后再记录图
象。将玻片放到温度受控的低温恒温箱(Bright Instrument 有限公
司, Huntington, UK)中，比较两个分析中的冰晶的大小。通过 Sony
25 单色 CCD 影像照相机，将样品的图象转移至 Quantimet 520 MC 图
象分析系统(Leica, Cambridge UK)中。通过在冰晶周围手绘图，划
出冰晶的晶体大小。每个样品划出至少 400 个冰晶的大小。将每个
晶体 2D 投影的最长尺寸作为是晶体粒度。测定单个晶体的数均晶体
粒度，作为平均晶体粒度。如果 30-60 分钟时的晶体粒度与 t=0 时

的粒度相似或仅有适度地(小于10%)增加,和/或晶体粒度小于20微米,优选5-15微米,则表示具有良好的冰再结晶抑制性。

实施例3

5. 标准维克斯硬度试验.

维克斯硬度试验是一项压痕测试,包括将一角锥型的压痕器推入物料表面并且测定随压痕器尖端位移变化定所施加的力.测定压痕装载周期和卸载周期中的力和位移。

10 该试验描述于《塑料试验材料手册》R. P. Brown 编, George Godwin Limited 出版, The Builder Group, 1-3 Pemberton Row, Fleet Street, 伦敦, 1981.

维克斯角锥几何形状是一种工程工业标准 (BSi 427, 1990). 其尖端处具有一尖角是 136°. 硬度如下测定:

$$15 \quad H_V = \frac{F_{\text{最大}}}{A}$$

其中 H_V 是维克斯硬度, $F_{\text{最大}}$ 是施加的最大力 (参见图 2) 并且 A 是留在物料表面的压痕的投影面积. 假定压痕的几何形状与形成之的压痕器 (即维克斯角锥) 的几何形状相同来测定面积 A , 因此, 可以根据图 2 中的 d_i 给出的压痕深度来测定投影面积。

20

$$A = 24.5 d_i^2$$

物料的维克斯硬度是对物料耐塑性变形的量度。

25 测试样品是 500ml 的块, 是通过将冷冻甜食 (一般是 -1°C 至 -5°C 的温度) 从刮板式热交换器挤压进标准的 500 ml 包装中, 且接着在贮存于 -25°C 前, 将该包装改进 -35°C 的气流冷冻器中两小时而制备的. 在测试样品之前, 将样品在所需的 -18°C 测试温度下, 平衡存放过夜。

30 在通用的测试设备上进行测试, 该设备由 Instron (代码 4500) 制造, 在温度可控冷柜中的温度是 -18°C . 十字头速度是 2.0 mm/min. 最大载荷是 95N. 对于糖水冰糕, 推进物料表面的锥体尖的

深度是 1.5 mm, 而对于冰淇淋则是 2.5 mm.

实施例 4

接触比测定

- 5 使用冰冻糖食的显微结构图象测定接触比, 使用低温扫描电子显微镜法 (SEM)。使用“冰淇淋低温扫描电子显微镜法研究. I. 技术和普遍的显微结构 (A low temperature scanning electron microscopy study of ice cream. I. Techniques and general microstructure)” 《食品结构》第 11 卷 (1992), 1-9 页中描述的技术来图象化结构。

10 在微粒复合体中, 微粒相的接触比定义为颗粒与颗粒接触面 (界面) 面积除以总的内部接触面 (界面) 面积之比。其是微粒相网络形成程度的测定值。在冰冻糖食中, 颗粒是位于基质内的冰晶, 因此冰的接触比定义为:

15

$$C_{ii} = \frac{A_{ii}}{(A_{ii} + A_{im})}$$

- 其中 C_{ii} 是接触比, A_{ii} 是冰-冰接触面 (界面) 的总接触面 (界面) 表面积并且 A_{im} 是冰-基质接触面 (界面) 的接触面 (界面) 表面积。接触比可以根据切过材料的任意平面表面的显微结构图象来测定。未充气冰冻糖食的平裂表面的 Cryo-SEM 图象对此是足够的。

20 通过将一排线放在显微结构图象上, 计算这些线被冰-冰和冰-基质接触面 (界面) 的拦截数, 并且结合以下等式得到接触比:

$$C_{ii} = \frac{2N_{ii}}{(2N_{ii} + N_{im})}$$

- 25 其中 N_{ii} = 每单位长度冰-冰拦截的数, 且 N_{im} = 每单位长度冰-基质拦截的数。

理想地, 从每个样品结构的 5 个代表性图象中共有大约 800 个接触面 (界面)。

为测定接触比, 每个图象取两组测定值。将一组规则线放在图象

上之后，计算冰-基质和冰-冰接触面（界面）被这些线的拦截数只包括所有明显的冰-冰接触面（界面）。然后，重复计算，但这次包括所有可能的冰-冰接触面（界面）。就此，对每个图象进行最大冰接触比测定和最小冰接触比测定。然后，取这些数字的平均值作为接触比
5 比值。

实施例 5

欧拉-庞加莱指数测定

使用冰冻糖食的显微结构图象测定欧拉-庞加莱指数，使用低温扫描电子显微镜法 (SEM)。使用“冰淇淋低温扫描电子显微镜法研究。I. 技术和普遍的显微结构”《食品结构》第 11 卷 (1992)，1-9 页中描述的技术进行图象化结构。
10

在两相复合结构中，可以使用欧拉-庞加莱指数测定一个相的连续性程度。相的欧拉-庞加莱指数值越低，显微结构中的相越连续或连贯。欧拉-庞加莱指数可以是正数或负数。欧拉-庞加莱指数的定义可见《欧拉-庞加莱指数的无偏估测》(Unbiased estimation of the Euler-Poincare characteristic)“B. P. Pinnamaneni, C. Lantuejoul, J. P. Hernot 和 J. L. Chermant, Acta Stereologica, 1989, 8/2, 101-106 页。
15

为测定冰冻糖食中的冰的欧拉-庞加莱指数，对显微结构图象上的冰和基质相进行识别并且使用图象分析系统，使用特定书写分析程序来测定冰相欧拉-庞加莱指数。每当图象中的对比度对于图象分析系统自动将冰和基质单独区别来说不足时，需要手动识别两相之间的界面，由此能够精确测定欧拉-庞加莱指数。
20

可以测定通过任何加工途径生产的冰冻糖食中的冰的欧拉-庞加莱指数。
25

实施例 6

长宽比测定

将样品在 Prolan 环境箱中于 -18°C 平衡大约 12 小时。通过将冰冻糖食薄层涂在薄玻璃片中央，制备显微镜用载物片。
30

将各载物片转移至温度受控的显微镜载物台上 (-18°C)，在其

中收集冰晶的图象(约 400 个单独的冰晶),并且通过影像照相机传送至图象储藏和分析系统。

- 5 手动使存放的冰晶图象高亮,通过在其周围划出周界,然后使全部晶体高亮。然后,使用计算实现最长直径(长度)、最短直径(宽度)、长宽比(长/宽),用所需的计算象素数的图象分析软件来测定高亮的晶体。

计算晶体的平均长宽比。

实施例 7-10

- 10 制备具有以下配方的冰淇淋组合物:

| | 重量 % |
|--------------|--------|
| 蔗糖 | 13.000 |
| 脱脂奶粉 | 10.000 |
| 乳脂肪 | 8.000 |
| 15 麦芽糖糊精 40 | 4.000 |
| 单甘油棕榈酸酯(MGP) | 0.300 |
| 角豆荚胶 | 0.144 |
| 角叉菜胶 L100 | 0.016 |
| 风味剂 | 0.012 |
| 20 加水至 | 100 |
| 总可溶性固形物: | 35wt% |
| -18℃下含冰量 ; | 54wt% |

使用高剪切混合机将所有冰淇淋配料一起混合大约 3 分钟。加入 80℃的水。混合后,糖水冰糕混合物的温度为大约 55-65℃。

- 25 然后,将混合物均质(2000psi)并且经过板式热交换器进行 81℃的巴氏杀菌 25 秒。然后,在使用前将混合物在板式热交换器中冷却至大约 4℃。

在巴氏杀菌之后,按以下浓度将 III 型 AFP (如 WO 97/02343 所述)添加到冰淇淋预混物中:

- 30 实施例 7 - 0.0005wt%
 实施例 8 - 0.0025wt%
 实施例 9 - 0.005wt%

实施例 10 - 0.001wt%

然后使用 Technohoy MF 75 刮板式热交换器将冰淇淋预混物冷冻，冰淇淋中没有引入膨胀量。将冰淇淋在-4.3 至-4.6℃下挤出。然后将制品在-35℃气流冷冻机中硬化，然后在-25℃下储藏。

5 使用实施例 1 描述的四点弯曲试验测定表观弹性模量和弯曲强度。

结果与不含 AFP 的对照样品比较。结果示于图 3 和 4 中，其中含 AFP 的实施例由(□)表示且不含 AFP 的对照样品由(◆)表示。

10 计算 Δ 模量、 Δ 模量/原始模量、 Δ 强度和 Δ 强度/原始强度。结果示于表 1。

还使用实施例 3 给出的方法测定维克斯硬度。结果示于图 5，其中含 AFP 的实施例由(□)表示且不含 AFP 的对照样品由(◆)表示。

计算 $\Delta H_v/H_{v \text{ 原始}}$ 和 ΔH_v ，结果示于表 1。

表 1

| 实施例 | ΔE (MPa) | $\Delta E/E_{\text{原始}}$ | $\Delta \sigma_u$ (MPa) | $\Delta \sigma_u/\sigma_{u \text{ 原始}}$ | ΔH_v (MPa) | $\Delta H_v/H_{v \text{ 原始}}$ |
|-----|------------------|--------------------------|-------------------------|---|--------------------|-------------------------------|
| 7 | 7.3 | 1.7 | 0.2 | 0.47 | 1.65 | 6.2 |
| 8 | 104.8 | 2.46 | 0.3 | 0.67 | 1.25 | 9.0 |
| 9 | 208.3 | 4.9 | 0.8 | 1.76 | 2.7 | 10.2 |
| 10 | 109.6 | 2.58 | 0.37 | 0.8 | - | - |

15

实施例 11，对比实施例 A-C

按实施例 8 所述制备具有实施例 8 配方的冰淇淋预混物，然后按实施例 8 所述将预混物冷冻，具有如下膨胀量(空气的体积份($V_{\text{空气}}$)):

实施例 11-没有膨胀量(0)

20 对比实施例 A - 43% 膨胀量(0.3)

对比实施例 B - 67% 膨胀量(0.4)

对比实施例 C - 100% 膨胀量(0.5)

使用实施例 1 描述的四点弯曲试验测定表观弹性模量和弯曲强度。

25 结果与不含 AFP 的相关对照样品比较。结果示于图 6 和 7 中，其中含 AFP 的实施例由(□)表示且不含 AFP 的对照样品由(◆)表示。

计算 Δ 模量、 Δ 模量/原始模量、 Δ 强度和 Δ 强度/原始强度。结果

示于表 2。

还使用实施例 3 给出的方法测定维克斯硬度。结果示于图 8，其中含 AFP 的实施例由(□)表示且不含 AFP 的对照样品由(◆)表示。

计算 $\Delta H_v/H_{v \text{ 原始}}$ 和 ΔH_v ，结果示于表 2。

5

表 2

| 实施例 | ΔE (MPa) | $\Delta E/E_{\text{原始}}$ | $\Delta \sigma_u$ (MPa) | $\Delta \sigma_u/\sigma_{u \text{ 原始}}$ | ΔH_v (MPa) | $\Delta H_v/H_{v \text{ 原始}}$ |
|-----|------------------|--------------------------|-------------------------|---|--------------------|-------------------------------|
| 11 | 132 | 5.1 | 0.5 | 2.3 | 1.25 | 8.9 |
| A | 40 | 4.7 | 0.1 | 1.5 | 0.2 | 4.0 |
| B | 17 | 3.3 | 0.05 | 1.1 | 0.15 | 4.3 |
| C | 6.6 | 1.6 | 0.02 | 0.4 | 0.05 | 2.1 |

实施例 12-16

如下制备具有以下组成的糖水冰糕溶液：

| | 重量 % |
|----------------------------------|--------|
| 10 蔗糖 | 25.0 |
| 角豆荚胶 | 0.5 |
| 水解奶蛋白(Hyfoama DS ^{**}) | 0.1 |
| III 型 AFP [*] | 0.0025 |
| 15 加水至 | 100 |

* 如 WO 97/02343 所述。

** Hyfoama DS 是 Quest International 的商标。

总可溶性固形物；25.5wt%

-18℃ 下含冰量；62wt%

20 使用高剪切混合机将除 AFP 以外的所有糖水冰糕配料一起混合大约 3 分钟。加入 80℃ 的水。混合后，糖水冰糕混合物的温度为大约 55-65℃。

然后，让混合物经过板式热交换器进行 81℃ 的巴氏杀菌 25 秒。然后，在使用前将混合物在板式热交换器中冷却至大约 4℃。

25 在巴氏杀菌之后加入 AFP。

将糖水冰糕溶液在 Technohoy MF 75 刮板式热交换器中冷冻，具有以下膨胀量(空气的体积份($V_{\text{空气}}$))。将糖水冰糕在-3.8 至-4.5

℃下挤出。然后将制品在-35℃气流冷冻机中硬化，然后在-25℃下储藏。

实施例 12 - 没有膨胀量(0)

实施例 13 - 20%膨胀量(0.167)

5 实施例 14 - 30%膨胀量(0.23)

实施例 15 - 43%膨胀量(0.3)

实施例 16 - 67%膨胀量(0.4)

使用实施例 1 描述的四点弯曲试验测定表观弹性模量和弯曲强度。

10 结果与不含 AFP 的对照样品比较。结果示于图 9 和 10 中，其中含 AFP 的实施例由(□)表示且不含 AFP 的对照样品由(◆)表示。

计算 Δ 模量、 Δ 模量/原始模量、 Δ 强度和 Δ 强度/原始强度。结果示于表 3。

15 还使用实施例 3 给出的方法测定维克斯硬度。结果示于图 11，其中含 AFP 的实施例由(□)表示且不含 AFP 的对照样品由(◆)表示。

计算 $\Delta H_v/H_v$ 原始和 ΔH_v ，结果示于表 3。

表 3

| 实施例 | ΔE (MPa) | $\Delta E/E$ 原始 | $\Delta \sigma_v$ (MPa) | $\Delta \sigma_v/\sigma_v$ 原始 | ΔH_v (MPa) | $\Delta H_v/H_v$ 原始 |
|-----|------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------------|--------------------|---------------------|
| 12 | 500.3 | 3.7 | 0.8 | 2.5 | 4.35 | 1.3 |
| 13 | 300.7 | 4.1 | 0.5 | 2.6 | 2.2 | 1.3 |
| 14 | 193.4 | 3.7 | 0.3 | 2.6 | 1.25 | 1.1 |
| 15 | 101.5 | 2.1 | 0.2 | 1.7 | 0.6 | 0.5 |
| 16 | 52.1 | 1.9 | 0.1 | 1.5 | 0.45 | 0.7 |

实施例 17-20

20 制备具有以下组成的糖水冰糕溶液：

重量 %

蔗糖 20.0

角豆荚胶 0.2

加水至 100

25 总可溶性固形物； 20.2wt%

-18℃下含水量； 70wt%

按实施例 12 制备糖水冰糕溶液。

在巴氏杀菌之后，按以下浓度将 III 型 AFP (如 WO 97/02343 所述) 添加到糖水冰糕溶液：

实施例 17 - 0.0005%

5 实施例 18 - 0.0011%

实施例 19 - 0.0025%

实施例 20 - 0.005%

10 将糖水冰糕溶液在 Technohoy MF 75 刮板式热交换器中冷冻，不引入膨胀量。将糖水冰糕在 -3.9 至 -5.6℃ 下挤出，然后将制品在 -35℃ 气流冷冻机中硬化，然后在 -25℃ 下储藏。

使用实施例 1 描述的四点弯曲试验测定表观弹性模量和弯曲强度。

结果与不含 AFP 的对照样品比较。结果示于图 12 和 13 中，其中含 AFP 的实施例由 (□) 表示且不含 AFP 的对照样品由 (◆) 表示。

15 计算 Δ 模量、 Δ 模量/原始模量、 Δ 强度和 Δ 强度/原始强度。结果示于表 4。

还使用实施例 3 给出的方法测定维克斯硬度。结果示于图 14，其中含 AFP 的实施例由 (□) 表示且不含 AFP 的对照样品由 (◆) 表示。

计算 $\Delta H_v/H_v$ 原始和 ΔH_v ，结果示于表 4。

20 表 4

| 实施例 | ΔE (MPa) | $\Delta E/E$ 原始 | $\Delta \sigma_u$ (MPa) | $\Delta \sigma_u/\sigma_u$ 原始 | ΔH_v (MPa) | $\Delta H_v/H_v$ 原始 |
|-----|------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------------|--------------------|---------------------|
| 17 | 243 | 1.1 | 0.3 | 0.8 | 3.8 | 1.12 |
| 18 | 471 | 2.2 | 0.6 | 1.5 | 3.2 | 0.9 |
| 19 | 662 | 3.1 | 0.7 | 1.7 | 4.0 | 1.2 |
| 20 | 785 | 3.7 | 1.2 | 3.0 | 7.0 | 2.0 |

实施例 21-24

按实施例 12 制备具有以下组成的糖水冰糕溶液：

| | 重量 % |
|-------|------|
| 25 蔗糖 | 20.0 |
| 角豆荚胶 | 0.2 |
| 加水至 | 100 |

总可溶性固形物； 20.2wt%

-18℃下含冰量； 70wt%

在巴氏杀菌之后，按以下浓度将 III 型 AFP (如 WO 97/02343 所述) 添加到糖水冰糕溶液：

5 实施例 21 - 0.0005%

实施例 22 - 0.0011%

实施例 23 - 0.0025%

实施例 24 - 0.005%

10 然后，将糖水冰糕溶液静止冷冻。将糖水冰糕溶液倾入用于生产机械测试件 (参见实施例 1) 的分瓣金属模具。然后将它们冷藏过夜，在 -25℃ 下静止冷冻。

次日，将测试棒脱模，放入聚乙烯袋中并且在 -25℃ 下冷藏直至进行机械测试之前那天。

15 使用实施例 1 描述的四点弯曲试验测定表观弹性模量和弯曲强度。

结果与不含 AFP 的对照样品比较。结果示于图 15 和 16 中，其中含 AFP 的实施例由 (□) 表示且不含 AFP 的对照样品由 (◆) 表示。

计算 ΔE 、 $\Delta E/E_{\text{原始}}$ 、 $\Delta \sigma_u$ 和 $\Delta \sigma_u/\sigma_{u\text{原始}}$ 。结果示于表 5。

20 表 5

| 实施例 | ΔE (MPa) | $\Delta E/E_{\text{原始}}$ | $\Delta \sigma_u$ (MPa) | $\Delta \sigma_u/\sigma_{u\text{原始}}$ |
|-----|------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------------------|
| 21 | 871 | 2.7 | 0.85 | 2.7 |
| 22 | 985 | 3.1 | 0.96 | 3.0 |
| 23 | 1269 | 4.0 | 1.4 | 4.2 |
| 24 | 1347 | 4.2 | 1.5 | 4.8 |

实施例 25-28

按实施例 12 制备具有以下组成的糖水冰糕溶液：

| | 重量 % |
|-----------------------------------|------|
| 25 蔗糖 | 15 |
| 角豆荚胶 | 0.3 |
| 水解奶蛋白 (Hyfoama DS ^{**}) | 0.1 |

III 型 AFP* 0.0025

加水至 100

* 如 WO 97/02343 所述。

** Hyfoama DS 是 Quest International 的商标。

5 总可溶性固形物; 10.2wt%

-18℃ 下含冰量; 85wt%

10 将糖水冰糕溶液在 Technohoy MF 75 刮板式热交换器中冷冻, 具有如下膨胀量(空气的体积份($V_{\text{空气}}$)). 将糖水冰糕在-2.5 至-3.1℃ 下挤出。然后将制品在-35℃ 气流冷冻机中硬化, 然后在-25℃ 下储藏。

实施例 25 - 0% 膨胀量(0)

实施例 26 - 30% 膨胀量(0.231)

实施例 27 - 67% 膨胀量(0.4)

实施例 28 - 100% 膨胀量(0.5)

15 使用实施例 1 描述的四点弯曲试验测定表观弹性模量和弯曲强度。

结果与不含 AFP 的对照样品比较。结果示于图 17 和 18 中, 其中含 AFP 的实施例由(□)表示且不含 AFP 的对照样品由(◆)表示。

20 计算 Δ 模量、 Δ 模量/原始模量、 Δ 强度和 Δ 强度/原始强度。结果示于表 6。

还使用实施例 3 给出的方法测定维克斯硬度。结果示于图 19, 其中含 AFP 的实施例由(□)表示且不含 AFP 的对照样品由(◆)表示。

计算 $\Delta H_v/H_{v \text{ 原始}}$ 和 ΔH_v , 结果示于表 6。

表 6

| 实施例 | ΔE (MPa) | $\Delta E/E_{\text{原始}}$ | $\Delta \sigma_u$ (MPa) | $\Delta \sigma_u/\sigma_{u \text{ 原始}}$ | ΔH_v (MPa) | $\Delta H_v/H_{v \text{ 原始}}$ |
|-----|------------------|--------------------------|-------------------------|---|--------------------|-------------------------------|
| 25 | 1081 | 2.8 | 1.4 | 3.36 | 8.67 | 1.28 |
| 26 | 747 | 2.10 | 0.89 | 2.39 | 2.51 | 1.15 |
| 27 | 395 | 3.06 | 0.5 | 3.19 | 0.93 | 0.73 |
| 28 | 243 | 4.73 | 0.33 | 3.87 | 0.65 | 0.71 |

25

实施例 29 & 30, 对比实施例 D

制备具有以下配方的冰淇淋组合物:

| | 重量 % |
|------------|--------|
| 蔗糖 | 13.000 |
| 脱脂奶粉 | 10.000 |
| 乳脂肪 | 8.000 |
| 5 麦芽糖糊精 40 | 4.000 |
| MGP | 0.300 |
| 角豆荚胶 | 0.144 |
| 角叉菜胶 L100 | 0.016 |
| 风味剂 | 0.012 |
| 10 加水至 | 100 |

总可溶性固形物; 35wt%

-18℃下含冰量; 54wt%

使用高剪切混合机将所有冰淇淋配料一起混合大约 3 分钟。加入 80℃的水。混合后，糖水冰糕混合物的温度为大约 55-65℃。然后，将混合物均质(2000 psi)并且经过板式热交换器进行 81℃的巴氏杀菌 25 秒。然后，在使用前将混合物在板式热交换器中冷却至大约 4℃。

在巴氏杀菌之后，按以下浓度将 III 型 AFP (如 WO 97/02343 所述)添加到冰淇淋预混物中：

- 20 实施例 29 - 0.0005wt%
 实施例 30 - 0.005 wt%
 对比实施例 D-不含 AFP

然后，使用 Technohoy MF 75 刮板式热交换器将冰淇淋预混物冷冻，冰淇淋中不引入膨胀量。将冰淇淋在-4.4 至-5.4℃下挤出。然后，将制品在-35℃气流冷冻机中硬化，然后在-25℃下储藏。

按实施例 4 测定接触比。

结果示于表 7。

表 7

| 实施例 | 接触比 |
|-----|-----|
| 29 | 0.2 |
| 30 | 0.3 |
| D | 0.1 |

实施例 31 & 32, 对比实施例 E

如下制备具有以下组成的糖水冰糕溶液:

| | 重量 % |
|-----------|---------|
| 5 蔗糖 | 20.0 |
| 角豆荚胶 | 0.2 |
| 加水至 | 100 |
| 总可溶性固形物; | 20.2wt% |
| -18℃下含冰量; | 70wt% |

10 按实施例 12 制备糖水冰糕溶液.

在巴氏杀菌之后, 按以下浓度将 III 型 AFP (如 WO 97/02343 所述) 添加到糖水冰糕溶液中:

实施例 31 - 0.0005wt%

实施例 32 - 0.005 wt%

15 对比实施例 E-不含 AFP

然后, 使用 Technohoy MF 75 刮板式热交换器将糖水冰糕溶液冷冻, 不引入膨胀量. 将糖水冰糕在 -3.9 至 -5.6℃ 下挤出. 然后, 将制品在 -35℃ 气流冷冻机中硬化, 然后在 -25℃ 下储藏.

按实施例 4 测定接触比.

20 结果示于表 8.

表 8

| 实施例 | 接触比 |
|-----|------|
| 31 | 0.24 |
| 32 | 0.22 |
| E | 0.11 |

实施例 33, 对比实施例 F

制备具有如下配方冰淇淋组合物:

| | 重量 % |
|-------|--------|
| 25 蔗糖 | 13.000 |
| 脱脂奶粉 | 10.000 |
| 乳脂肪 | 8.000 |

| | | |
|---|------------------|-------|
| | 麦芽糖糊精 40 | 4.000 |
| | MGP | 0.300 |
| | 角豆荚胶 | 0.144 |
| | 角叉菜胶 L100 | 0.016 |
| 5 | 风味剂 | 0.012 |
| | 加水至 | 100 |
| | 总可溶性固形物; 35wt% | |
| | -18℃下含冰量; 54wt%. | |

10 使用高剪切混合机将所有冰淇淋配料一起混合大约 3 分钟。加入 80℃ 的水。混合后，糖水冰糕混合物的温度为大约 55-65℃。

然后，将混合物均质(2000 psi)并且经过板式热交换器进行 81℃ 的巴氏杀菌 25 秒。然后，在使用前将混合物在板式热交换器中冷却至大约 4℃。

15 在巴氏杀菌之后，按以下浓度将 III 型 AFP (如 WO 97/02343 所述)添加到冰淇淋预混物中：

实施例 33 - 0.005wt%

对比实施例 F - 不含 AFP

然后，使用 Technohoy MF 75 刮板式热交换器将冰淇淋预混物冷冻，冰淇淋中不引入膨胀量。将冰淇淋在 -4.4 至 -5.4℃ 下挤出。

20 然后，将制品在 -35℃ 气流冷冻机中硬化，然后在 -25℃ 下储藏。

按实施例 5 测定欧拉-庞加莱指数。

结果示于表 9。

表 9

| 实施例 | 欧拉-庞加莱指数 (mm^{-2}) |
|-----|-------------------------------|
| 33 | -577 |
| F | 339 |

25 实施例 34，对比实施例 G

如下制备具有以下组成的糖水冰糕溶液：

| | 重量 % |
|------|------|
| 蔗糖 | 20.0 |
| 角豆荚胶 | 0.2 |

加水至 100
 总可溶性固形物; 20.2wt%
 -18℃下含冰量; 70wt%

按实施例 12 制备糖水冰糕溶液。

- 5 在巴氏杀菌之后, 按以下浓度将 III 型 AFP (如 WO 97/02343 中所述) 添加到糖水冰糕溶液中:

实施例 34 - 0.005 wt%

对比实施例 G - 不含 AFP

按实施例 24 所述, 将糖水冰糕溶液静止冷冻, 不引入膨胀量。

- 10 按实施例 5 测定欧拉-庞加莱指数。

结果示于表 10。

表 10

| 实施例 | 欧拉-庞加莱指数 (mm ⁻²) |
|-----|------------------------------|
| 34 | -383 |
| G | 4.3 |

实施例 35

- 15 如下制备具有以下组成的奶冰溶液:

| | % (w/w) |
|---------|---------|
| 蔗糖 | 13.2 |
| 玉米糖浆 | 2.8 |
| 全奶粉 | 11.2 |
| 20 脱脂奶粉 | 5.0 |
| 稳定剂 | 0.27 |
| 乳化剂 | 0.20 |
| 着色剂/风味剂 | 0.06 |
| AFP* | 0.005 |
| 25 加水至 | 100 |

*如 WO 97/02343 中所述

使用高剪切混合机将除 AFP 以外的所有奶冰配料一起混合大约 3 分钟。加入 80℃ 的水。混合后, 奶冰混合物的温度为大约 55-65℃。

然后，将混合物均质(2000 psi)并且经过板式热交换器进行 81℃的巴氏杀菌 25 秒。然后，在使用前将混合物在板式热交换器中冷却至大约 4℃。

然后将混合物分成两半，并且向其中的一半添加 III 型 AFP(如 WO 97/02343 中所述)。

然后，将奶冰溶液静止冷冻。将奶冰溶液倾入用于生产机械测试件(参见实施例 1)的分瓣金属模具。然后将它们冷藏过夜，在-25℃下静止冷冻。次日，将测试棒脱模，放入聚乙烯袋中并且在-25℃下冷藏直至进行机械测试之前那天。

使用实施例 1 描述的四点弯曲试验测定表观弹性模量和弯曲强度。

将含 AFP 的奶冰结果与不含 AFP 的对照样品进行比较。

计算 ΔE 模量、 ΔE 模量/原始模量、 $\Delta\sigma_u$ 和 $\Delta\sigma_u$ /原始强度。结果示于表 11。

表 11

| 实施例 | ΔE (MPa) | $\Delta E/E_{\text{原始}}$ | $\Delta\sigma_u$ (MPa) | $\Delta\sigma_u/\sigma_{u\text{原始}}$ |
|-----|------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------------------|
| 35 | 756 | 16.2 | 1.81 | 6.68 |

实施例 36

如下制备具有以下组成的奶冰溶液:

| | (w/w) |
|---------|-------|
| 蔗糖 | 13.2 |
| 玉米糖浆 | 2.8 |
| 全奶粉 | 11.2 |
| 脱脂奶粉 | 5.0 |
| 稳定剂 | 0.27 |
| 乳化剂 | 0.20 |
| 着色剂/风味剂 | 0.06 |
| AFP* | 0.005 |
| 加水至 | 100 |

*如 WO 97/02343 中所述

使用高剪切混合机将除 AFP 以外的所有奶冰配料一起混合大约

3 分钟。加入 80℃ 的水。混合后，奶冰混合物的温度为大约 55-65℃。

然后，将混合物均质(2000 psi)并且经过板式热交换器进行 81℃ 的巴氏杀菌 25 秒。然后，在使用前将混合物在板式热交换器中冷却至大约 4℃。

然后将混合物分成两半，并且向其中的一半添加 III 型 AFP(如 WO 97/02343 中所述)。

将奶冰溶液在 Technohoy MF 75 刮板式热交换器中冷冻，不引入膨胀量。将糖水冰糕在 -3.9 至 -5.6℃ 下挤出。然后，将制品在 -35℃ 气流冷冻机中硬化，然后在 -25℃ 下储藏。

使用实施例 1 描述的四点弯曲试验测定表观弹性模量和弯曲强度。

将含 AFP 的奶冰结果与不含 AFP 的对照样品进行比较。

计算 Δ 模量、 Δ 模量/原始模量、 Δ 强度和 Δ 强度/原始强度。结果示于表 12。

表 12

| 实施例 | ΔE (MPa) | $\Delta E/E_{\text{原始}}$ | $\Delta \sigma_u$ (MPa) | $\Delta \sigma_u/\sigma_{u\text{原始}}$ |
|-----|------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------------------|
| 36 | 290 | 5.08 | 0.968 | 4.17 |

实施例 37

制备具有以下配方的冰淇淋组合物：

| | 重量 % |
|----------------|--------|
| 蔗糖 | 13.500 |
| 脱脂奶浓缩物(30%固形物) | 24.000 |
| 稀奶油(40%脂肪) | 43.000 |
| 蛋黄(未加甜的) | 4.500 |
| 香草风味剂 | 1.000 |
| 加水至 | 100 |
| 总可溶性固形物； | 45wt% |
| -18℃ 下含冰量； | 46wt% |

使用高剪切混合机将所有的冰淇淋配料一起混合大约 3 分钟。加入 80℃ 的水。混合后，冰淇淋混合物的温度为大约 38-45℃。

然后，将混合物均质(2000 psi)并且经过板式热交换器进行 81℃的巴氏杀菌 25 秒。然后，在使用前将混合物在板式热交换器中冷却至大约 4℃。

在巴氏杀菌后，按以下浓度将 I 型 AFP (来自 AF Protein)添加到冰淇淋预混物中：

5 实施例 37-0.001wt%

然后，使用 Technohoy MF 75 刮板式热交换器将冰淇淋预混物冷冻，不引入膨胀量。将冰淇淋在-4.8 至-5.5℃下挤出。然后将制品在-35℃气流冷冻机中硬化，然后在-25℃下储藏。

10 使用实施例 1 描述的四点弯曲试验测定表观弹性模量和弯曲强度。

结果与不含 AFP 的相关对照样品比较。

计算 ΔE 模量、 ΔE 模量/原始模量、 $\Delta \sigma_u$ 强度和 $\Delta \sigma_u$ 强度/原始强度。

结果示于表 13。

15 表 13

| 实施例 | ΔE (MPa) | $\Delta E/E_{原始}$ | $\Delta \sigma_u$ (MPa) | $\Delta \sigma_u/\sigma_{u原始}$ |
|-----|------------------|-------------------|-------------------------|--------------------------------|
| 37 | 138 | 4.2 | 0.408 | 1.09 |

实施例 38

如下制备具有以下组成的糖水冰糕溶液：

| | wt% |
|--------------------|------|
| 20 蔗糖 | 18 |
| 角豆荚胶 | 0.18 |
| 水解奶蛋白 (Hyfoama DS) | 0.1 |
| 草 AFP 溶液* | 30.0 |
| 加水至 | 100 |

25 * 如 WO 98/04699 所述。草 (grass) AFP 溶液的使用量根据提供实施例 2 定义的再结晶抑制所需要的最小量来决定。

总可溶性固形物；18wt%

-18℃下含冰量：73wt%

制作不含 AFP 的对照混合物，用 30wt%的水代替草 AFP 溶液。

30 使用高剪切混合机将除 AFP 以外的所有糖水冰糕配料一起混合

大约 3 分钟。加入 80℃ 的水。混合后，冰淇淋的温度为大约 55-65℃。

然后，将混合物经过板式热交换器进行 81℃ 的巴氏杀菌 25 秒。然后，在使用前将混合物在板式热交换器中冷却至大约 4℃。

5 巴氏杀菌后加入 AFP。

将糖水冰糕溶液在 Technohoy MF 75 刮板式表面热交换器中冷冻，不引入膨胀量。将糖水冰糕在 -2.6 至 -3.6℃ 下挤出。然后将制品在 -35℃ 气流冷冻机中硬化，然后在 -25℃ 下储藏。

10 使用实施例 1 描述的四点弯曲试验测定表观弹性模量和弯曲强度。

结果与不含 AFP 的对照样品比较。

计算 ΔE 模量、 ΔE 模量/原始模量、 $\Delta \sigma_u$ 强度和 $\Delta \sigma_u$ 强度/原始强度。结果示于表 14。

15 表 14

| 实施例 | ΔE (MPa) | $\Delta E/E_{原始}$ | $\Delta \sigma_u$ (MPa) | $\Delta \sigma_u/\sigma_{u原始}$ |
|-----|------------------|-------------------|-------------------------|--------------------------------|
| 38 | 230 | 0.84 | 0.615 | 1.03 |

实施例 39

如下制备具有以下组成的糖水冰糕溶液：

| | wt% |
|-----------------------------------|------|
| 20 蔗糖 | 18 |
| 角豆荚胶 | 0.18 |
| 水解奶蛋白 (Hyfoama DS ^{**}) | 0.1 |
| 草 AFP 溶液* | 30.0 |
| 加水至 | 100 |

25 * 如 WO 98/04699 所述。草 AFP 溶液的使用量根据提供实施例 2 定义的再结晶抑制所需要的最小量来决定。

** Hyfoama DS 是 Quest International 的商标。

总可溶性固形物：18wt%

-18℃ 下含冰量：73wt%

30 制作不含 AFP 的对照混合物，用 30wt% 的水代替草 AFP 溶液。

使用高剪切混合机将除 AFP 以外的所有糖水冰糕配料一起混合大约 3 分钟。加入 80℃ 的水。混合后，糖水冰糕混合物的温度为大约 55-65℃。

然后，将混合物经过板式热交换器进行 81℃ 的巴氏杀菌 25 秒。
5 然后，在使用前将混合物在板式热交换器中冷却至大约 4℃。

巴氏杀菌后将 AFP 溶液添加到糖水冰糕溶液中。

然后将糖水冰糕溶液静止冷冻。将糖水冰糕溶液倾入用于生产机械测试件(参见实施例 1)的对开金属模具。然后将它们冷藏过夜，在 -25℃ 下静止冷冻。次日，将测试棒脱模，放入聚乙烯袋中并且在 -25
10 ℃ 下冷藏直至进行机械测试之前那天。

使用实施例 1 描述的四点弯曲试验测定表观弹性模量。

结果与不含 AFP 的对照样品比较。

计算 Δ 模量和 Δ 模量/原始模量。结果示于表 15。

15 表 15

| 实施例 | ΔE (MPa) | $\Delta E/E_{\text{原始}}$ |
|-----|------------------|--------------------------|
| 39 | 146 | 2.59 |

实施例 40

使用单件硅橡胶模具生产复杂形状的糖水冰糕。

如下制备具有以下组成的糖水冰糕溶液：

| | (w/w) % |
|---------|---------|
| 蔗糖 | 10.0 |
| 葡萄糖 | 5.0 |
| 角豆荚胶 | 0.2 |
| 柠檬酸 | 0.5 |
| 25 AFP* | 0.005 |
| 着色剂/风味剂 | 0.2 |
| 加水至 | 100 |

*如 WO 97/02343 中所述

使用高剪切混合机将除 AFP 以外的所有糖水冰糕配料一起混合
30 大约 3 分钟。加入 80℃ 的水。混合后，糖水冰糕混合物的温度为大约

约 55-65℃。

然后，将混合物均质(2000 psi)并且经过板式热交换器进行 81℃的巴氏杀菌 25 秒。然后，在使用前将混合物在板式热交换器中冷却至大约 4℃。

- 5 然后将混合物分成两半，将 AFP 添加到其中的一半中。

将两半的糖水冰糕混合物分别等份注入鳄鱼形状的硅橡胶模具中。鳄鱼模具的整体尺寸为大约 15cm 长和 3cm 宽（在其最宽处）。腿是约 2cm 长，0.5cm 厚。将混合物在-35℃气流冷冻机中冷冻 2 小时。然后将模具转移至-25℃下冷藏过夜，然后脱膜。

- 10 当试图将不含 AFP 的鳄鱼状糖水冰糕脱膜时，小的凸出部分(包括腿和尾部)太脆弱并且从模具中取出时折断。相反，含 AFP 的鳄鱼状糖水冰糕可以一整件制品的形式从模具中取出，所有小的凸出部分均完整无损。

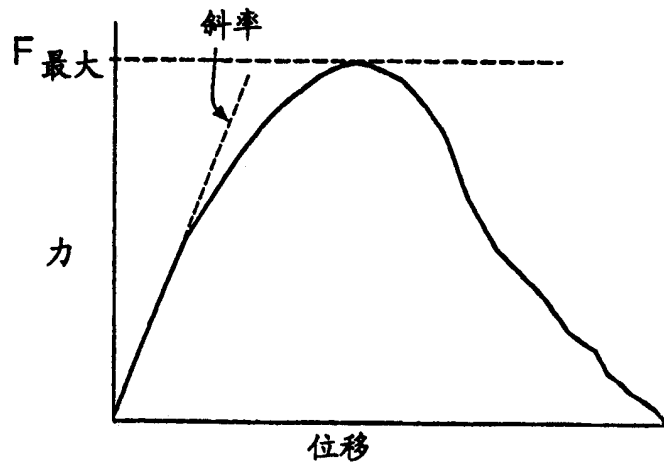


图 1

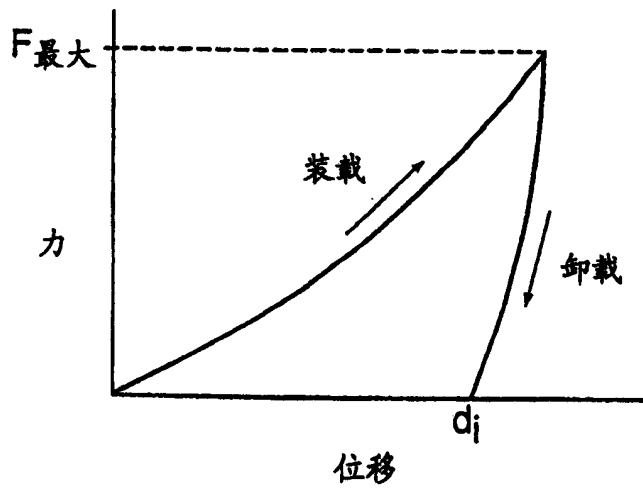


图 2

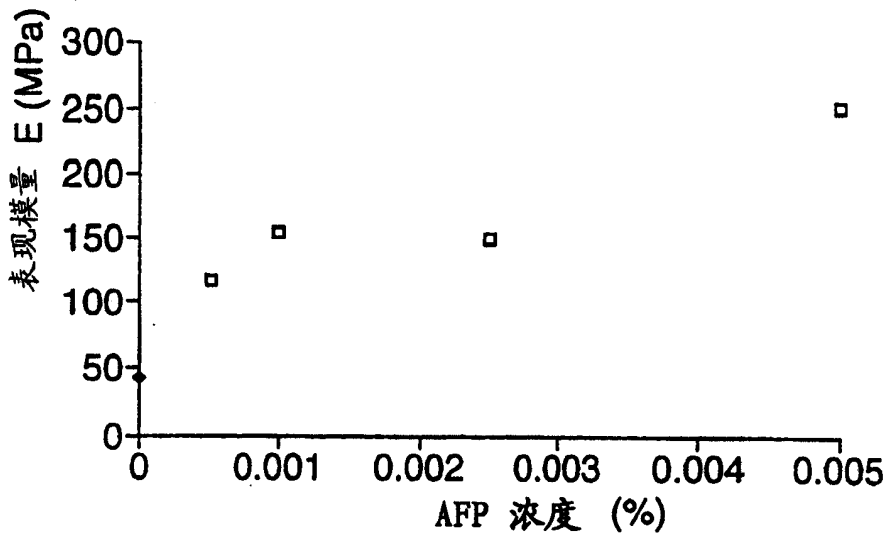


图 3

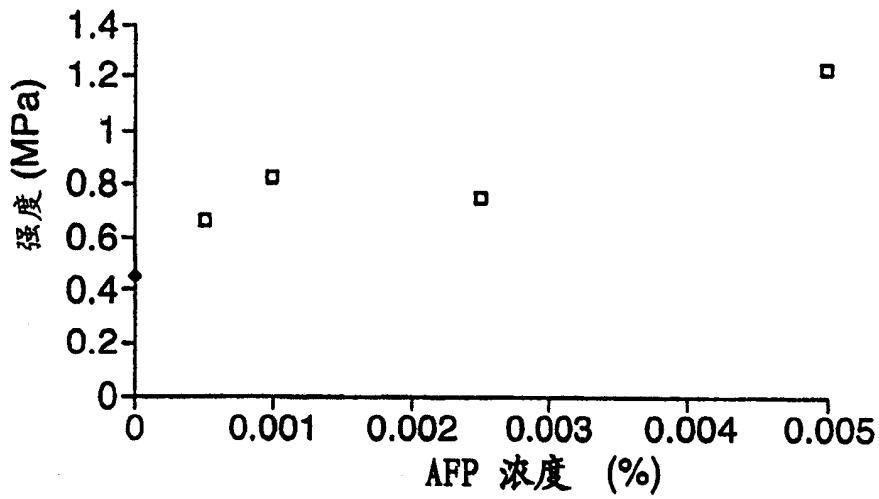


图 4

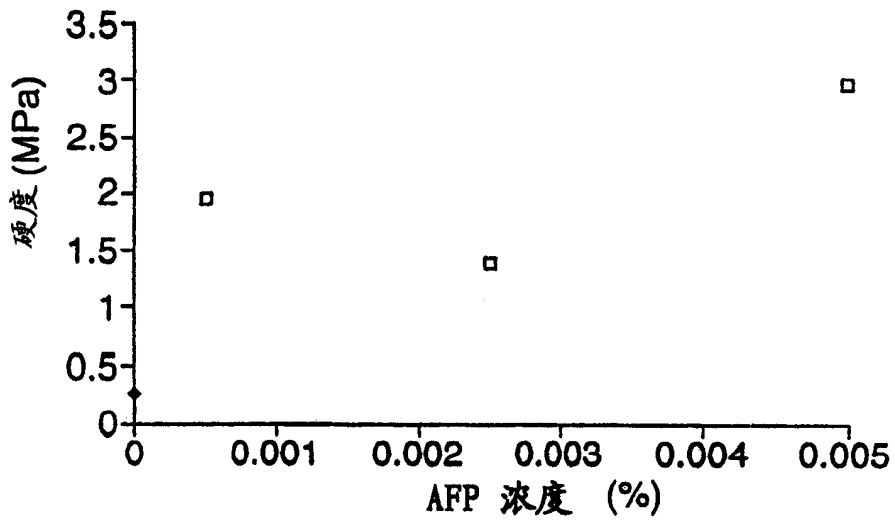


图 5

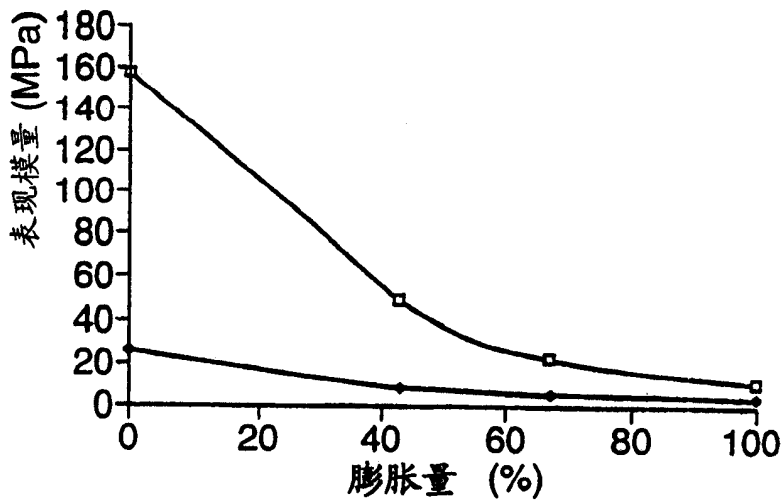


图 6

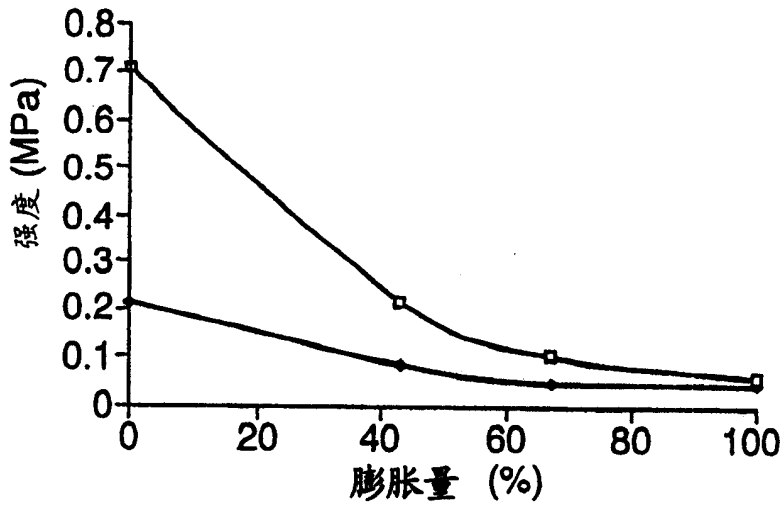


图 7

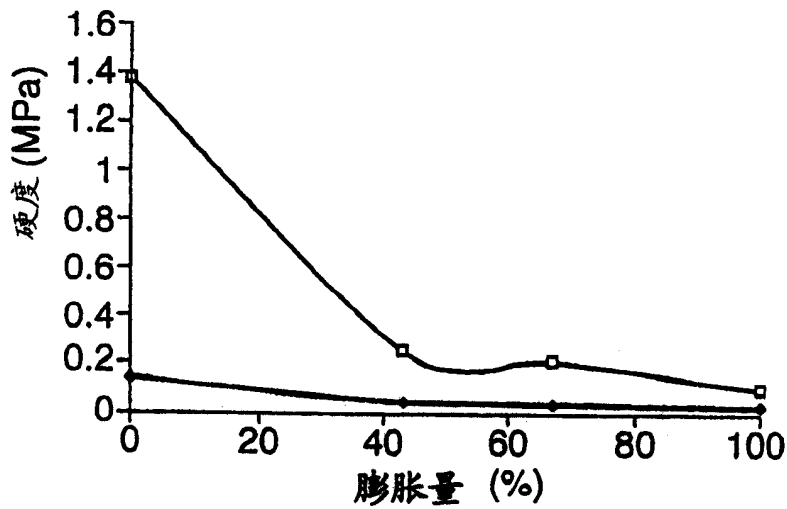


图 8

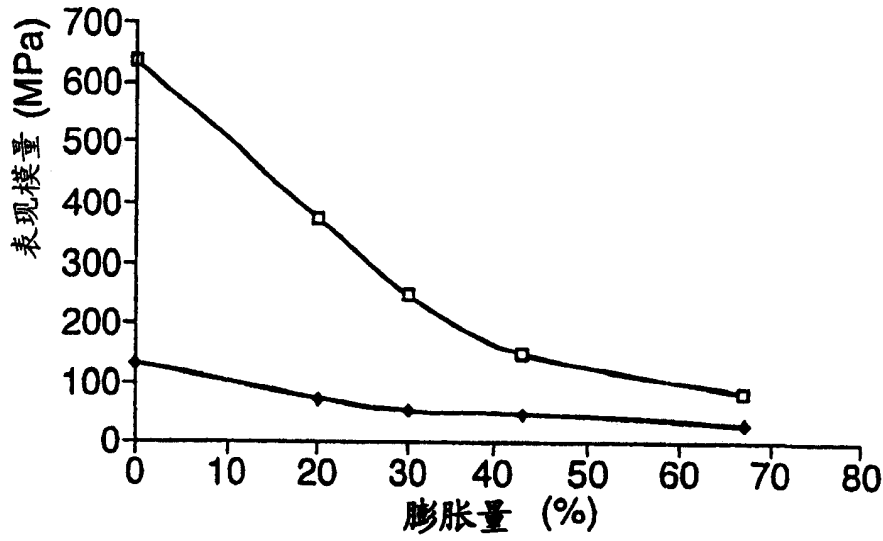


图 9

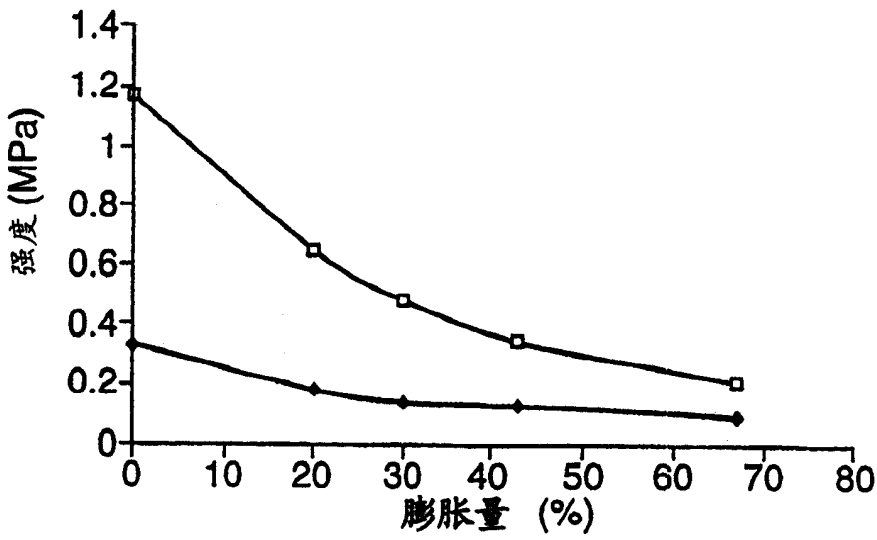


图 10

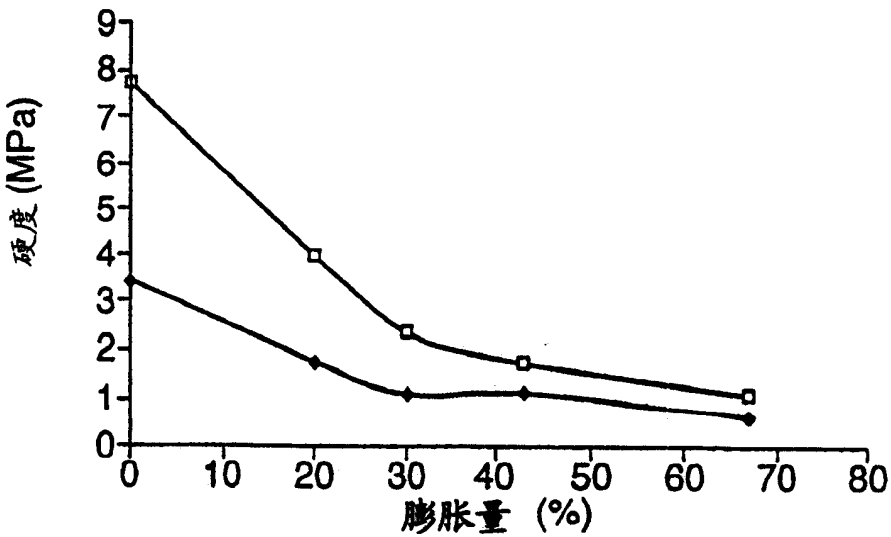


图 11

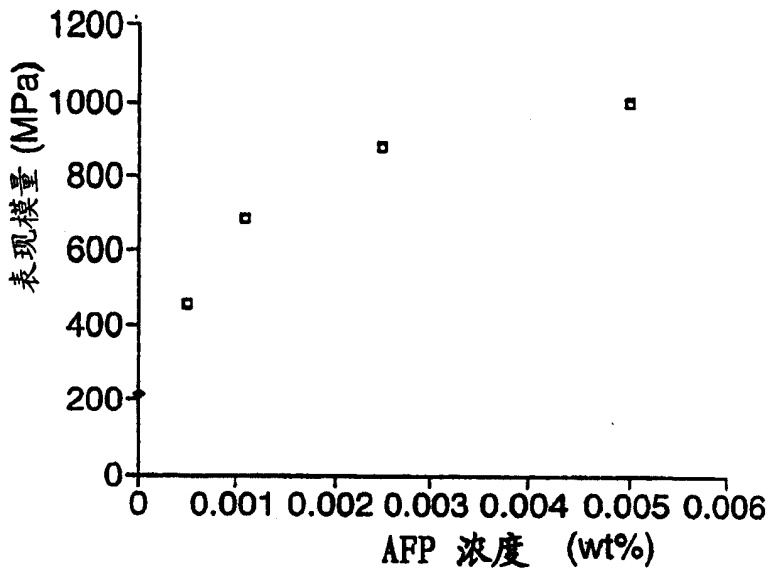


图 12

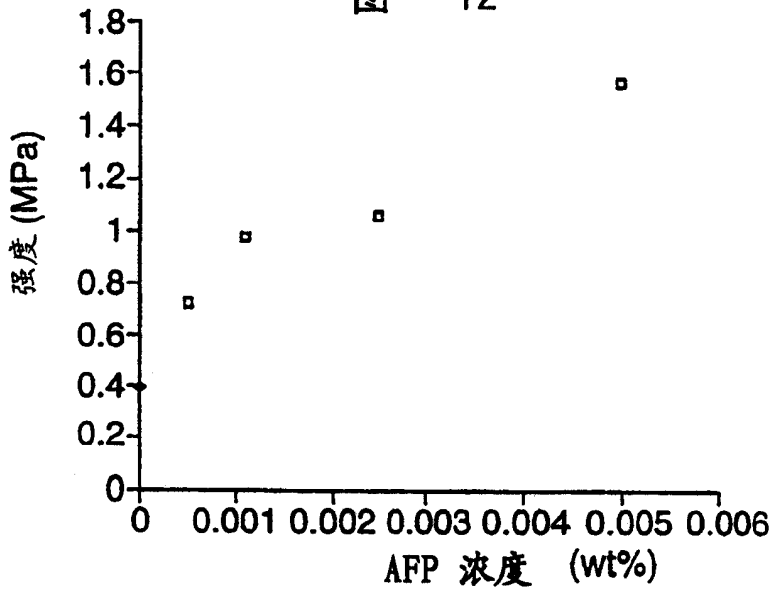


图 13

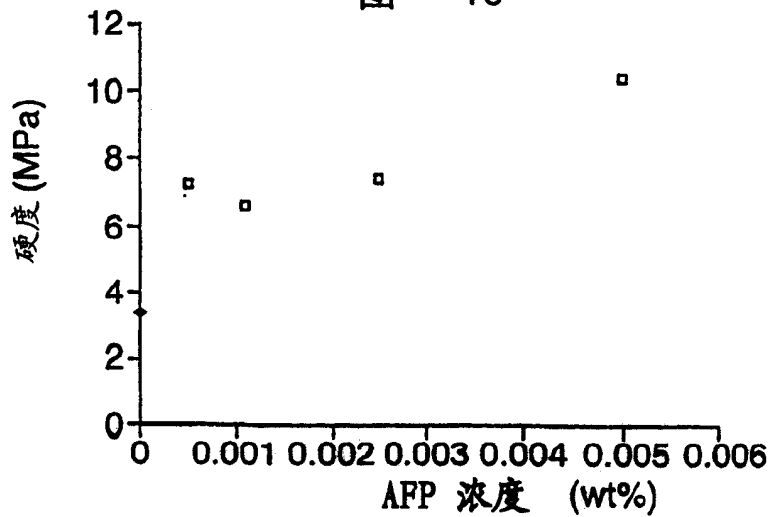


图 14

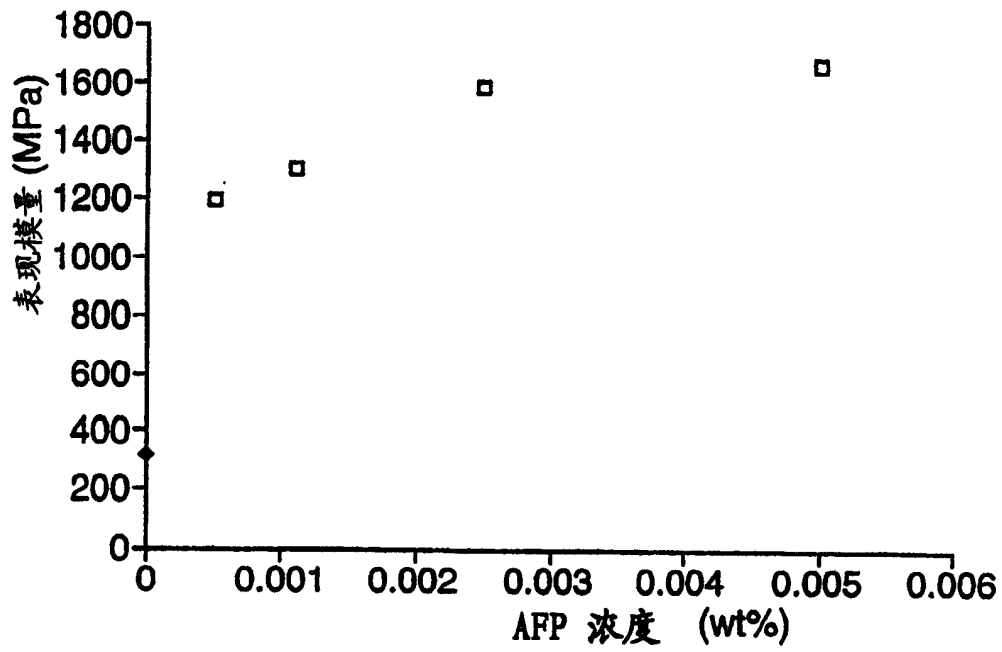


图 15

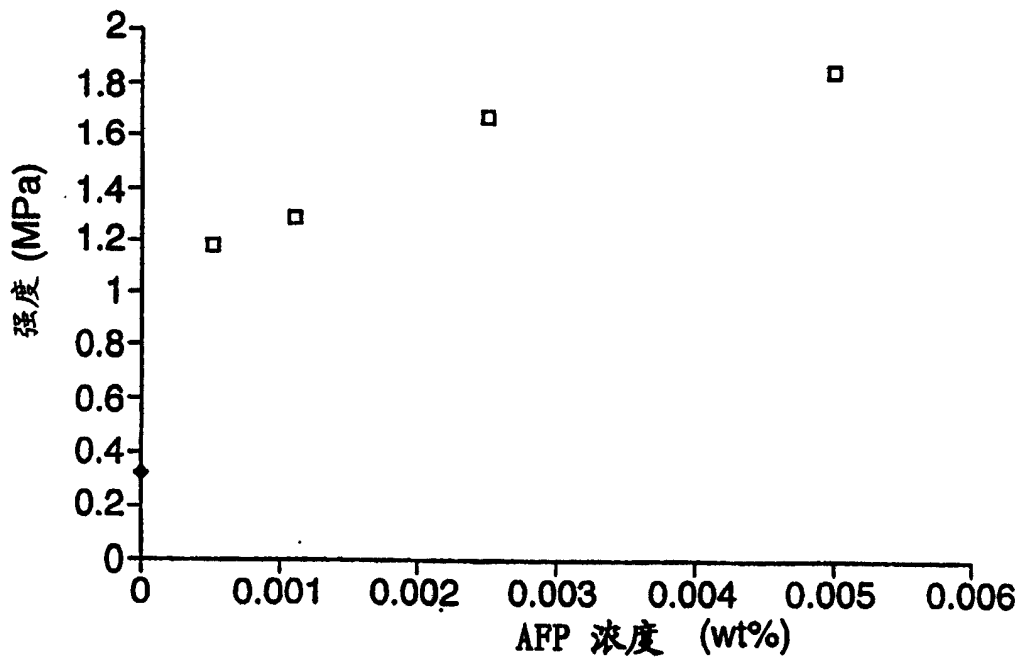


图 16

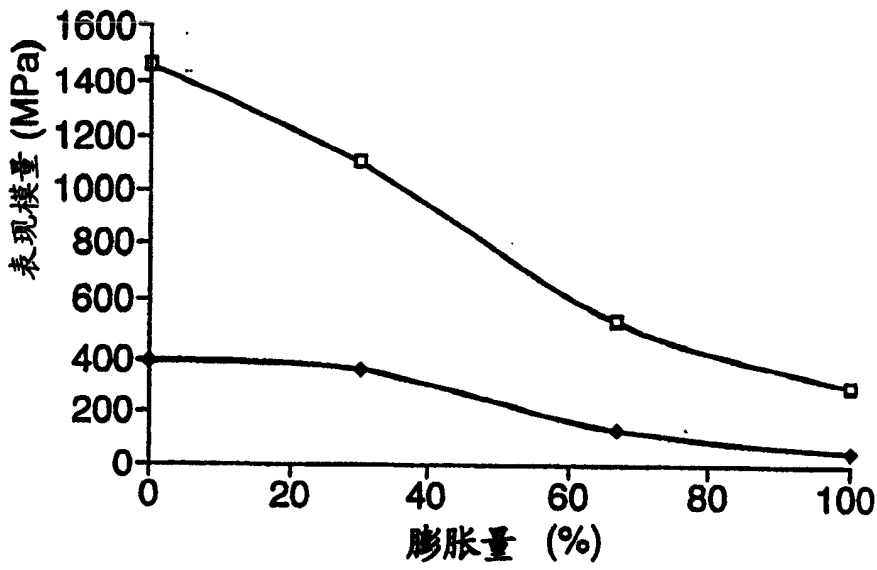


图 17

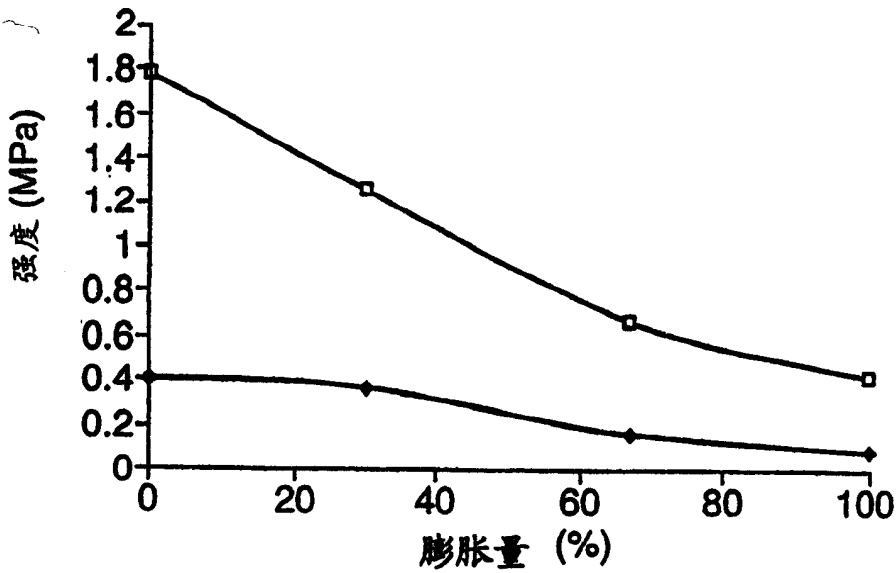


图 18

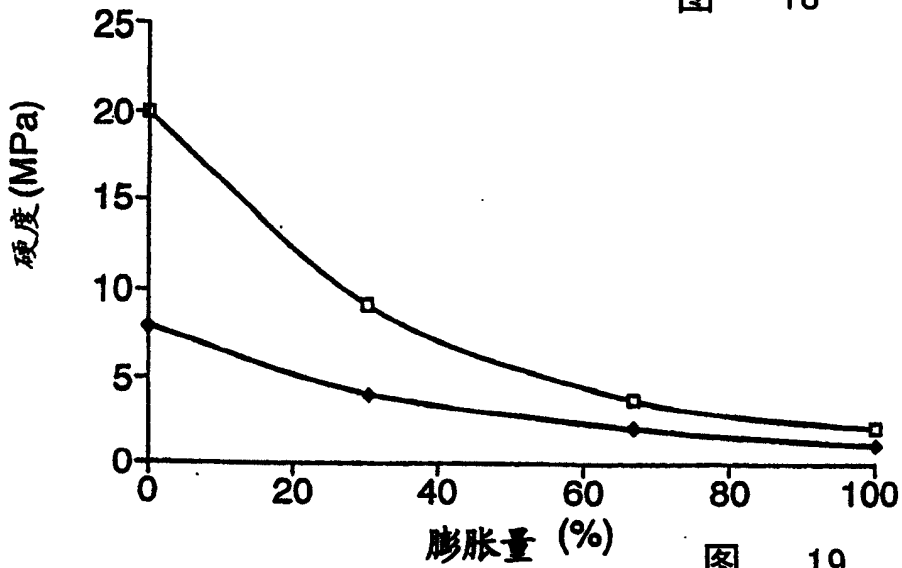


图 19