



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 266 408**

51 Int. Cl.:  
**A23B 7/04** (2006.01)  
**A23L 3/36** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02251681 .9**  
86 Fecha de presentación : **08.03.2002**  
87 Número de publicación de la solicitud: **1249171**  
87 Fecha de publicación de la solicitud: **16.10.2002**

54 Título: **Congelación de hortalizas.**

30 Prioridad: **09.04.2001 EP 01303335**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.03.2007**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.03.2007**

73 Titular/es: **UNILEVER N.V.**  
**Weena 455**  
**3013 AL Rotterdam, NL**

72 Inventor/es: **Asquith, Michael Harry;**  
**Kirk, Elliot;**  
**Kirkland, Mark;**  
**Morrey, Stephen Matthew;**  
**Ormerod, Andrew Paul;**  
**Ralfs, Julie Debra;**  
**Sharp, David George y**  
**Sidebottom, Christopher Michael**

74 Agente: **Carpintero López, Francisco**

ES 2 266 408 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).

# ES 2 266 408 T3

## DESCRIPCIÓN

Congelación de hortalizas.

### 5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a un procedimiento para congelar hortalizas y las hortalizas congeladas proporcionadas de ese modo. Más particularmente, la invención se refiere a un procedimiento de congelación nuevo que proporciona hortalizas congeladas de excelente calidad cuando se descongelan para su consumo.

### 10 **Antecedentes de la invención**

Se han descrito varias tentativas en la técnica para mejorar la calidad de hortalizas que se han almacenado congeladas por medio del procedimiento de congelación aplicado.

15 La patente de EE.UU. 3.736.154 describe un procedimiento de congelación ultralento que describe el mantenimiento de membranas celulares intactas en el producto por medio de un régimen de congelación con una velocidad de enfriamiento de aproximadamente 0,1 a 0,3°C por hora. Este procedimiento describe lograr la deshidratación de la célula interna a medida que el agua dentro de la célula se mueve hacia fuera de la membrana celular donde se congela sin la destrucción de la membrana celular.

Desafortunadamente, este procedimiento no es una propuesta viable para la preparación comercial de hortalizas congeladas. Este proceso no sólo no tolera una etapa de escaldado, que es necesaria como una etapa de desactivación microbiológica y enzimática en el procesado moderno de la hortaliza, sino que también este procedimiento requiere varios días para completarse.

20 El documento US 6 096 361 describe un procedimiento similar de conservación en donde el alimento es enfriado de forma relativamente rápida desde la temperatura ambiente hasta cerca de la temperatura de congelación y luego se enfría lentamente a una velocidad de enfriamiento gradual de 0,01 a 0,5°C/hora hasta por debajo de la temperatura de congelación. Este procedimiento de conservación sin congelar puede ser luego seguido por un tratamiento de congelación rápida para lograr un alimento en donde las células más externas del alimento estén congeladas y las células más internas conservadas en un estado no congelado. Se describe que el agua libre se mueve desde el fluido intracelular hacia el fluido extracelular, dando como resultado la dilución simultánea del fluido extracelular y la concentración del fluido intracelular, lo que hace más fácil que el fluido extracelular se congele y, a la inversa, más difícil que se congele el fluido intracelular.

El documento US 4.632.834 describe la congelación convencional por aire forzado de láminas finas escaldadas de batata.

30 Un procedimiento de congelación alternativo de la técnica anterior para mejorar la calidad de hortalizas congeladas está descrito en la patente europea 0 554 468 B1 en la que las patatas se cocinan y se congelan. La congelación se describe como un procedimiento en 2 etapas en el que, en una etapa inicial, el núcleo de las patatas se mantiene en el estado de cristalización del agua durante un período de 15 a 60 minutos. En una segunda etapa, la congelación a baja temperatura se sigue hasta una temperatura de almacenamiento de -20°C.

45 La presente invención se dirige, también, al problema técnico de proporcionar al consumidor hortalizas congeladas de gran calidad y, más particularmente, de proporcionar hortalizas congeladas que, cuando se descongelan, dan origen a una textura y aspecto del producto que se parece mucho al de las hortalizas frescas.

50 Los solicitantes creen que una causa significativa de la pérdida de la textura en hortalizas congeladas es como resultado del daño a los tejidos que resultan de la formación de hielo extracelular, por tanto el problema de la invención se identifica más particularmente con proporcionar una reducción en la formación de hielo extracelular durante la congelación.

55 La solución a este problema proporcionada por la presente invención reside en un nuevo procedimiento de congelación que puede eliminar prácticamente la formación de hielo fuera de la pared celular del tejido vegetal y proporcionar así una textura, aspecto y, por ello, una calidad de producto que no era anteriormente posible en hortalizas congeladas.

### **Ensayos y definiciones**

60 El subenfriamiento se refiere a la reducción de la temperatura de la hortaliza o de una parte de la misma a una temperatura por debajo de la temperatura de congelación (es decir, la temperatura a la cual es posible la congelación) sin que tenga lugar la formación de cristales de hielo.

65 El núcleo se refiere a esa parte de la hortaliza o parte de la misma que está al menos a 5 mm de la superficie externa de contacto con el aire. Preferiblemente, el núcleo se refiere a esa parte de la hortaliza o parte de la misma que está al menos a 10 mm de la superficie externa de contacto con el aire, lo más preferiblemente al menos a 15 mm de ella.

## ES 2 266 408 T3

Hielo extracelular es una expresión empleada aquí para definir el hielo formado fuera de los límites de las estructuras celulares, en donde el perímetro de cada estructura celular está definido por una pared celular. De ello resulta, por tanto, que para el propósito de la presente invención hielo intracelular se refiere al hielo formado dentro de los límites de dichas estructuras celulares, es decir, dentro de los límites de una pared celular.

5

Para el propósito de la presente invención, el contenido de hielo en el núcleo y la proporción del mismo que es intracelular o extracelular en su formación está definido por el siguiente procedimiento que usa microscopía electrónica con barrido a baja temperatura.

10

Las muestras de hortalizas fueron selladas en bolsas de polietileno, almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  y mantenidas en frío durante el análisis transfiriéndolas al laboratorio de microscopía electrónica con barrido en una caja aislada que contenía dióxido de carbono. De las hortalizas escogidas se cortaron sub-muestras de 5 mm x 5 mm x 5 mm usando una cuchilla de escalpelo enfriada previamente con nitrógeno líquido en donde el corte se llevó a cabo sobre una placa de aluminio asentada sobre un lecho de dióxido de carbono sólido para mantener la temperatura de la muestra.

15

Estas sub-muestras se montaron sobre una depresión cónica de 7 mm en una sonda de aluminio de 10 mm de diámetro del microscopio electrónico de barrido usando un compuesto Tissue-Tek (disponible de Sakura y que comprende <11% de poli(alcohol vinílico), <5% de carbowax y, al menos, 85% de ingredientes no reactivos) a la temperatura de congelación e inmediatamente sumergida en lodo de nitrógeno. La sonda y la sub-muestra eran previamente enfriadas en nitrógeno líquido y montadas en un soporte y transferidas a una cámara de preparación a baja temperatura Oxford Instruments CP2000 bombeada con una estación de vacío ( $(6,6655 \times 10^{-5} \text{ Pa } (5 \times 10^{-7} \text{ Torr}))$  Edwards 306 por un compartimiento estanco. La muestra se dejó calentar a  $-95^{\circ}\text{C}$  y después se fracturó usando la punta de una cuchilla de escalpelo. Después de mordentar el hielo durante 5 minutos la muestra se enfrió a  $-110^{\circ}\text{C}$  y se revistió con Oro/Paladio (6 mA,  $6 \times 10^{-1} \text{ mbar}$  de Argón, 20 segundos). Se dejó que se recuperara un vacío de  $6,6655 \times 10^{-5} \text{ Pa } (5 \times 10^{-7} \text{ Torr})$  y la muestra se transfirió a una etapa en frío Cressington Instruments en un microscopio electrónico con barrido de emisión por efecto de campo a baja temperatura JEOL 6301F usando un dispositivo de transferencia por compartimiento estanco.

20

25

Las muestras se examinaron a  $-150^{\circ}\text{C}$  y el hielo se identificó como depresiones mordentadas en la topografía de la superficie de la fractura. Las imágenes del hielo intracelular y extracelular se registraron digitalmente ampliadas 100 veces y estas imágenes se cuantificaron luego usando un sistema Zeiss (Imaging Associates) de análisis de imagen KS 400. El contenido del hielo intracelular y extracelular del núcleo se refiere a un % del hielo total observado en una imagen de estar localizado dentro y fuera, respectivamente, de las paredes celulares.

### 35 Sumario de la invención

Un primer aspecto de la invención es proporcionar un procedimiento para la producción de una hortaliza o parte de la misma congelada, en donde dicho procedimiento comprende las etapas de:

40

- (i) tratar con calor una hortaliza o parte de la misma;
- (ii) sub-enfriar a una temperatura máxima de núcleo menor que o igual a  $-5^{\circ}\text{C}$ ;
- (iii) reducir la temperatura del núcleo a menos que o igual a  $-18^{\circ}\text{C}$ ;

45

Un segundo objeto de la invención es proporcionar una hortaliza o parte de la misma congelada que comprende un contenido de hielo en el núcleo, caracterizado porque al menos 40% de dicho contenido de hielo en el núcleo está localizado dentro de una pluralidad de estructuras celulares, en donde el perímetro de cada estructura celular está definido por una pared celular.

50

### Descripción detallada

Para el propósito de esta invención la etapa de tratamiento con calor es suficiente para destruir las membranas celulares dentro de la materia de las hortalizas y haciendo eso proporciona una concentración uniforme de soluto a través de los tejidos a medida que la difusión libre equilibra los niveles de soluto. Este es un precursor necesario para posteriores etapas de enfriamiento en el procedimiento ya que cualquier variación en la concentración de soluto dará origen a una variación relativa en la temperatura a la que tendrá lugar la congelación y reducirá, por ello, la capacidad de lograr un subenfriamiento eficaz.

55

60

El tratamiento por calor de hortalizas puede también cumplir otras diversas funciones proporcionando la pas-terización de la materia de las hortalizas y la desactivación de enzimas que aceleran el deterioro vegetal como las lipoxigenasas.

65

Preferiblemente, el tratamiento por calor es emprendido por escaldado ya que esto da como resultado la destrucción de las membranas celulares y la desactivación de alguna o todas las enzimas endógenas presentes. Están bien dentro de las capacidades de la persona experta en la técnica proporcionar tratamientos por calor y procedimientos de escaldado que sean adecuados al fin establecido, cuyos detalles precisos dependerán de la naturaleza y del tamaño de la hortaliza concernida.

## ES 2 266 408 T3

5 Sub-enfriar “el núcleo” de la hortaliza (como se ha definido anteriormente) o parte de la misma hasta una temperatura máxima menor que o igual a  $-5^{\circ}\text{C}$  asegura que bastante calor ha sido removido del material para permitir una rápida y uniforme formación de hielo inicial en la etapa de congelación (iii) y proporcionar, de ese modo, una significativa reducción en la formación de hielo extracelular. Preferiblemente, la hortaliza o parte de la misma es sub-enfriada a una temperatura desde  $-5$  hasta aproximadamente  $-15^{\circ}\text{C}$ , lo más preferiblemente desde  $-7$  a  $-12^{\circ}\text{C}$ . Se ha demostrado que, simplemente, reduciendo la temperatura del núcleo hasta  $-1$  o  $-2^{\circ}\text{C}$  sin sub-enfriamiento adicional no es suficiente para el inicio rápido de la congelación necesaria para la reducción deseada en hielo extracelular y consiguiente calidad del producto.

10 Para sub-enfriar eficazmente, sin iniciar la formación de cristales de hielo, la diferencia de temperatura entre el centro del núcleo y la superficie de la hortaliza o parte de la misma debe mantenerse a un mínimo.

15 Se ha demostrado aquí que las diferencias de temperaturas entre el núcleo y la superficie a la temperatura de iniciación de la formación de hielo pueden variar de forma significativa con propuestas convencionales de congelación. Con la congelación rápida convencional por aire forzado, cuando la superficie de la materia de la hortaliza alcanza los  $0^{\circ}\text{C}$  y empieza la formación de hielo, el núcleo está mucho más caliente y el inicio de la formación de hielo en esta región empieza mucho más tarde.

20 La sabiduría convencional acepta que cuanto más rápidamente baja la temperatura durante la congelación, más rápidamente tiene lugar la congelación y se logran las propiedades más favorables para las hortalizas. La preparación comercial de hortalizas congeladas ha visto, por tanto, acelerarse las velocidades de enfriamiento de los equipos de congelación comerciales. Va contra la intuición y, por tanto, sorprendente encontrar ahora que cuando la velocidad de enfriamiento es disminuida para lograr un nivel definido de sub-enfriamiento dentro del núcleo de la hortaliza el inicio de la congelación puede ser inducido a través de un producto de forma casi instantánea.

25 De acuerdo con la presente invención, se ha proporcionado un procedimiento en el que la velocidad de enfriamiento es disminuida suficientemente para lograr sólo una pequeña diferencia de temperatura entre el núcleo y la superficie y, por ello, se induce sub-enfriamiento en el núcleo de la materia de la hortaliza hasta una temperatura máxima de menos que o igual a  $-5^{\circ}\text{C}$ . La formación de hielo con reducción adicional de la temperatura puede tener lugar luego a través de la materia de la hortaliza a aproximadamente el mismo tiempo. Esto se ha encontrado que da como resultado una proporción mayor de formación de cristales de hielo dentro de las estructuras celulares definidas por las paredes celulares, es decir, hielo intracelular y propiedades más favorables de la hortaliza cuando se consume.

35 La diferencia de temperatura entre el núcleo y la superficie y también dentro del núcleo mismo depende de la velocidad de enfriamiento de la materia de la hortaliza. La velocidad de enfriamiento depende alternativamente del tamaño de la materia de la hortaliza que va a ser congelada y de la superficie específica que exhibe. Se cree que está dentro de la capacidad del experto en la técnica decidir sobre una apropiada velocidad de enfriamiento para lograr sub-enfriar para máxima temperatura del núcleo de menos que o igual a  $-5^{\circ}\text{C}$  para una hortaliza de un tamaño y superficie específica particular.

40 El análisis sensorial ha confirmado que tanto el aspecto como la textura de las hortalizas preparadas según la presente invención muestran mejoras frente a los procedimientos de congelación convencionales conocidos en la técnica y los resultados obtenidos se parecen mucho a los de las hortalizas frescas sin congelar. En particular, la firmeza y consistencia cerosa de las hortalizas según la invención son significativamente mejoradas frente a las hortalizas congeladas conocidas en la técnica.

50 Para asegurar un eficaz sub-enfriamiento es preferible que la velocidad de enfriamiento utilizada en el procedimiento de la invención mantenga temperaturas máxima y mínima entre la superficie y el núcleo de alrededor de  $6^{\circ}\text{C}$  entre sí, preferiblemente menor que o igual a  $3^{\circ}\text{C}$ , lo más preferiblemente menor que  $1,5^{\circ}\text{C}$  entre sí, por ejemplo, dos sondas de temperatura son insertadas en una patata que está siendo enfriada según la invención, una primera a  $10\text{ mm}$  de la superficie de un tubérculo de la patata y la segunda en el centro del tubérculo; cuando la primera sonda detecta una temperatura de  $0^{\circ}\text{C}$  la segunda alcanzaría menos que o igual a  $+6^{\circ}\text{C}$ , preferiblemente menos que o igual a  $+3^{\circ}\text{C}$ , lo más preferiblemente menos que  $+1,5^{\circ}\text{C}$ .

55 Preferiblemente, la materia de la hortaliza se enfriará en un congelador por aire forzado en donde la temperatura de referencia del congelador es reducida progresivamente según el siguiente régimen:

55-65 minutos a  $0^{\circ}\text{C}$

60 25-35 minutos a  $-5^{\circ}\text{C}$

10-20 minutos a  $-10^{\circ}\text{C}$

10-20 minutos a  $-12,5^{\circ}\text{C}$

65 de 70 minutos en adelante a  $-30^{\circ}\text{C}$

## ES 2 266 408 T3

Lo más preferiblemente, la materia de la hortaliza se congelará en un congelador por aire forzado en donde la temperatura de referencia del congelador es reducida según el siguiente régimen:

60-70 minutos a -12°C	caudal de aire descendente a aproximadamente 1 m/s
25-35 minutos a -30°C	caudal de aire descendente a aproximadamente 4,5 m/s

La temperatura a la que aparece el inicio de la congelación en la etapa (iii) dependerá de la naturaleza de la hortaliza que está siendo sometida a este procedimiento de congelación, la velocidad a la que continúa el enfriamiento por debajo de -5°C así como a la presencia o ausencia de agentes nucleantes. El inicio de la congelación puede aparecer en cualquier punto cuando la temperatura dentro del núcleo está a un máximo de menos que -5°C. Típicamente, para el propósito de la invención, el inicio de la congelación aparecerá cuando la temperatura dentro del núcleo esté a una temperatura máxima de -7°C a -12°C.

Una primera realización de la invención se refiere a un procedimiento según la reivindicación 1 en donde al menos 40% de la formación de hielo dentro del núcleo de dicha hortaliza o parte de la misma en la etapa (iii) aparece dentro de una pluralidad de estructuras celulares, en donde el perímetro de cada estructura celular está definido por una pared celular. Preferiblemente, al menos 60% de dicha formación de hielo aparece dentro de dicha pluralidad de estructuras celulares, más preferiblemente 80%. Lo más preferiblemente 90% de la formación de hielo en el núcleo de dicha hortaliza o parte de la misma aparece dentro de dicha pluralidad de estructuras celulares.

En una hortaliza preparada según la presente invención se prefiere que al menos 60% de dicha formación de hielo aparezca dentro de dicha pluralidad de estructuras celulares, más preferiblemente 80%. En una realización más preferida, el 90% de la formación de hielo en el núcleo de dicha hortaliza o parte de la misma aparezca dentro de dicha pluralidad de estructuras celulares ya que estas hortalizas se parecen lo más exactamente al aspecto y textura de las hortalizas frescas.

Se ha demostrado el efecto de la formación de hielo extra-celular sobre la estructura celular de la materia de la hortaliza, en donde se ha evaluado de forma cuantitativa la cavitación en hortalizas descongeladas causada por el crecimiento de hielo extra-celular.

Se llevaron a cabo medidas para demostrar las diferencias en la disrupción de las estructuras celulares en hortalizas descongeladas entre congelación convencional y congelación por un procedimiento de la invención.

Procedimiento de Fijación: Las piezas de tejido se recibieron ya descongeladas. Se transfirieron a fijador, alcohol formol-acético (FAA), a temperatura ambiente y se dejaron durante no menos de 72 horas.

Embebimiento y Seccionamiento: Después de la fijación, las piezas de tejidos se deshidrataron y se embebieron en cera de parafina. Luego se seccionaron a un espesor nominal de 5  $\mu$  y se montaron en placas de vidrio.

Se cortaron secciones de un lado a otro de las piezas de tejido que habían sido sometidas a los diferentes tratamientos de congelación. De cada sección se seleccionaron tres imágenes, dos de las caras opuestas de la sección del tejido (evitando el tejido muy cercano al borde de la sección) y una imagen de cerca del centro. Se tuvo cuidado de asegurar que no había solapamiento entre los campos.

Para un realce de la imagen, las imágenes se transformaron primero a formato B/W (8 bits) y el contraste de la imagen se incrementó enormemente llevando a cabo un cambio en el campo inferior de un valor de 100 píxeles de la imagen completa, después de realinearla apoyada en su intervalo dinámico completo (intervalo de valor en píxeles 0-255). Esto dejó las paredes celulares con un color gris muy oscuro y el resto de la imagen con un gris muy claro.

Las cavidades de hielo se identificaron a la vista de su morfología. Usando el selector de alcance "detector óptico mágico", se estableció una tolerancia de  $\pm 15$ , con el control de contigüidad conectado, las cavidades se seleccionaron manualmente y se rellenaron con blanco (valor en píxeles = 255). El resto de la imagen se dejó negro (valor en píxeles = 0).

Las medidas se hicieron en un analizador de imágenes *Kontron KS300*. El número total de píxeles en las cavidades de hielo se contaron (medidas como área rellena - es decir, tratando cualquiera de las pequeñas inclusiones dentro de las cavidades como si no estuvieran allí), se añadieron juntas y se expresaron como un porcentaje de los píxeles en la imagen total. Las Figuras 7 y 8 ilustran las imágenes.

Para el propósito de la presente invención puede seleccionarse una hortaliza o parte de la misma a partir del grupo que comprenden patata, colinabo, nabo, calabaza, cebolla, brécol, tomate, calabacín, berenjena, castaña de agua, pimiento, seta, guisantes, zanahoria, espinacas y el guisante mollar. Lo más preferiblemente, dicha hortaliza o parte de la misma es patata.

La hortaliza o partes de la misma según la presente invención pueden emplearse fácilmente en diversos productos de alimentación congelados de servicios de comida o domésticos. En particular, las hortalizas de la presente invención son idealmente adecuadas para comidas congeladas de fácil preparación donde su superior textura mejora considera-

blemente la calidad del producto. Por tanto, en un aspecto adicional, la invención se refiere al empleo de una hortaliza o parte de la misma como se ha descrito anteriormente en una comida congelada.

## Descripción de las figuras

5           Figura 1: muestra una serie de imágenes de una muestra de patata preparada de acuerdo con el procedimiento de la presente invención; en donde,

10           (a) es una imagen de microscopio electrónico de barrido a baja temperatura

            (b) muestra la imagen (a) en donde se ha perfilado el hielo intracelular;

            (c) muestra una imagen binaria de hielo extracelular;

15           (d) muestra una imagen binaria de hielo intracelular;

            Figura 2: muestra una serie de imágenes de una muestra de patata preparada de acuerdo con el procedimiento de la patente europea EP 0 554 468; en donde

20           (a) es una imagen de microscopio electrónico de barrido a baja temperatura

            (b) muestra la imagen (a) en donde se ha perfilado el hielo intracelular;

25           (c) muestra una imagen binaria de hielo extra-celular;

            (d) muestra una imagen binaria de hielo intracelular;

            Figura 3: muestra un perfil de temperatura para un procedimiento convencional de congelación por aire forzado a lo largo del tiempo.

30           Figura 4: muestra un perfil de temperatura para un régimen de enfriamiento según la presente invención.

            Figura 5: muestra un perfil de temperatura de un régimen de enfriamiento simplificado según la presente invención.

35           Figura 6: muestra ensayos mecánicos compresivos de patatas congeladas.

            Figura 7: ilustra cavidades en patata escaldada después de la descongelación en donde:

40           (a) muestra una patata congelada por aire forzado manchada con safranina/yodo;

            (b) muestra la imagen (a) después de la segmentación;

            (c) muestra una patata congelada en un procedimiento según la invención y manchada con safranina/yodo;

45           (d) muestra la imagen (c) después de la segmentación;

            Figura 8: ilustra cavidades en cebolla escaldada y descongelada en donde:

50           (a) muestra una cebolla congelada por aire forzado manchada con safranina/yodo;

            (b) muestra la imagen (a) después de la segmentación;

            (c) muestra una cebolla congelada en un procedimiento según la invención y manchada con safranina/yodo;

55           (d) muestra la imagen (c) después de la segmentación;

            Figura 9: Imágenes en función del tiempo que muestran la congelación convencional de patata escaldada a  $-30^{\circ}\text{C}$ . El conjunto superior de las imágenes muestra la lámina delgada horizontal, el conjunto inferior es la imagen vertical correspondiente.

60           Figura 10: Perfil de temperatura durante el enfriamiento de patata escaldada por un procedimiento de la invención.

            Figura 11: Imágenes en función del tiempo durante el enfriamiento de patata escaldada por un procedimiento de la invención. El conjunto superior muestra la lámina delgada horizontal, el conjunto inferior son las imágenes verticales correspondientes. El mayor incremento de temperatura tuvo lugar entre las imágenes 2ª y 3ª mostradas. El agujero en el centro de la imagen refleja la posición del termopar.

## ES 2 266 408 T3

### Ejemplo 1

*Preparación de patata congelada para evaluación cuantitativa del contenido de hielo intra-celular y extra-celular usando microscopía electrónica de barrido a baja temperatura*

5

Las muestras de tubérculos de patata congeladas en bolsas selladas de polietileno que habían sido almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  se mantuvieron frías transfiriéndolas al laboratorio de microscopía electrónica de barrido en una caja aislada que contenía dióxido de carbono.

10

A unos 10 mm del borde externo de cada tubérculo se cortaron sub-muestras de aproximadamente 5 mm x 5 mm x 10 mm usando una hoja de escalpelo previamente enfriada con nitrógeno líquido. El corte se llevó a cabo sobre una placa de Aluminio colocada sobre un lecho de dióxido de carbono sólido para mantener la temperatura de la muestra. Las sub-muestras se montaron sobre una depresión cónica de 7 mm en una sonda de Aluminio de 10 mm de diámetro de un microscopio electrónico de barrido usando un compuesto Tissue-Tek a la temperatura de congelación y se sumergió inmediatamente en un lodo de nitrógeno. La sonda + muestra se montó sobre un soporte y se transfirió a una cámara de preparación a baja temperatura Oxford Instruments CP2000 bombeada con una estación de vacío ( $6,6655 \times 10^{-5}$  Pa ( $5 \times 10^{-7}$  Torr)) Edwards 306 por un compartimiento estanco. La muestra se dejó calentar a  $-95^{\circ}\text{C}$  y se fracturó usando la punta de una hoja de escalpelo. Después de mordentar el hielo durante 5 minutos, la muestra se enfrió a  $-110^{\circ}\text{C}$  y se revistió con Oro/Paladio (6 mA,  $6 \times 10^{-1}$  mbar de Argón, 20 segundos). El vacío se dejó recuperar a  $6,6655 \times 10^{-5}$  Pa ( $5 \times 10^{-7}$  Torr) y la muestra se transfirió a una etapa en frío Cressington Instruments en un Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión por Efecto de Campo JEOL 6301F usando un dispositivo de transferencia por compartimiento estanco.

15

20

25

Las muestras se examinaron a  $-150^{\circ}\text{C}$  y el hielo se identificó como depresiones mordentadas en la topografía de la superficie de la fractura. Las imágenes representativas del hielo intracelular y extracelular se registraron digitalmente a 100 aumentos y estas imágenes se cuantificaron luego usando un sistema de Análisis de Imagen Zeiss (Imaging Associates) KS 400. El hielo intracelular (Figuras 1 y 2) se expresó como un % del hielo total observado en las imágenes. Los resultados se dan en la Tabla 1.

30

(Tabla pasa a página siguiente)

35

40

45

50

55

60

65

Muestra tomada a 15 mm en la patata	Procedimiento de enfriamiento	Hielo extracelular observado	Hielo intracelular observado	Hielo total observado	% de hielo intracelular	% de hielo extracelular
Tubérculo Charlotte	Aire forzado estándar	89	0	89	0	100
Tubérculo Charlotte	EP 554468	74	4	78	5	95
Tubérculo Charlotte	Enfriamiento control de la invención	2	75	77	97,4	2,6

## ES 2 266 408 T3

### Ejemplo 2

#### *Diferenciales de temperatura dentro de los tubérculos de patata durante los procedimientos de congelación*

5 Se seleccionaron tubérculos de patata (cv. Nicola) en la gama de pesos de 20 a 40 g. Las dimensiones medias de los tubérculos fueron de 48 mm x 35 mm x 29 mm. Los tubérculos se escaldaron por calentamiento con vapor durante 10 minutos. Los tubérculos se transfirieron a un conjunto congelador por aire forzado a la temperatura apropiada (véase más adelante). Dos sondas termopares se insertaron en cada tubérculo, una en el centro del tubérculo y la otra aproximadamente a 1 cm de un extremo del tubérculo. Las temperaturas se registraron cada 10 segundos durante el  
10 procedimiento de congelación.

Para la congelación por aire forzado convencional, el congelador por aire forzado se puso a -30°C a lo largo del procedimiento de congelación.

15 Para enfriar según la presente invención, el congelador por aire forzado se puso inicialmente a 0°C. Después de que se introdujeron las muestras el valor prefijado del congelador se redujo progresivamente según lo siguiente:

60 minutos a 0°C

20 30 minutos a -5°C

15 minutos a -7,5°C

25 15 minutos a -10°C

15 minutos a -12,5°C

75 minutos a -30°C

### 30 *Resultados*

Los perfiles de temperatura durante el enfriamiento se ilustraron mediante las figuras 3 y 4.

35 La temperatura medida en el centro del tubérculo en el momento ( $\pm 10$  s) la temperatura en las regiones externas cae a 0°C (el peso del tubérculo individual se indica entre paréntesis):

En la congelación por aire forzado convencional

40 8,5°C (37,7 g)

12,5°C (35,0 g)

9,5°C (28,1 g)

45 7,4°C (20,8 g)

Variación media de la temperatura = 9,5°C

En el enfriamiento según la invención.

50 1,6°C (37,9 g)

2,7°C (34,6 g)

55 1,3°C (31,1 g)

0,9°C (30,6 g)

60 1,4°C (23,8 g)

0,8°C (20,2 g)

Variación media de la temperatura = 1,45°C

65

## ES 2 266 408 T3

### Ejemplo 3

#### *Valoración sensorial en textura y aspecto de los productos según la invención*

5 Las muestras de patata se prepararon usando cuatro diferentes procedimientos de congelación. Las patatas usadas para el procesado fueron tubérculos cv. Nicola (original del Reino Unido) suministrada por MBM Ltd., Chatteris. Las patatas cv. Nicola se escogieron simplemente por su fácil disponibilidad y su pequeño tamaño (clasificadas de 35 mm). Las muestras se clasificaron además a mano, siendo seleccionados los tubérculos en la gama de peso de 20 g a 40 g, la variabilidad tanto en el procesado como en la valoración del panel puede ser reducido seleccionando una estrecha  
10 gama de tamaños de patatas.

(i) El primer procedimiento de procesado usado era el de congelación (por aire forzado) convencional como se usaría típicamente en la industria para procesar hortalizas en general. Las patatas (4 kg el tamaño del lote) se escaldaron con vapor durante 10 minutos y después se enfriaron con agua fría durante 10 minutos a temperatura ambiente antes de ser congeladas por inmersión en un congelador por aire forzado trabajando a -30°C.  
15

(ii) El segundo procedimiento empleó una Cámara de Ensayo de Medioambiente Montford. Este aparato programable es capaz de producir gradientes de temperatura muy finamente controlados de una manera reproducible. El programa usado da origen a un gradiente lineal que cae desde +10°C a -30°C a lo largo de 16 horas. Las patatas (lotes de 4 kg) se escaldaron al vapor durante 10 minutos pero luego se enfriaron con aire durante sólo 2 minutos antes de ser transferidas, mientras estaban calientes todavía, a la cámara de Montford. Fueron luego congeladas usando el programa de gradiente de 16 horas.  
20

(iii) El tercer procedimiento de procesado fue el descrito en EP 554468. Se encontró que un congelador por aire forzado podría enviar un grado adecuado del control requerido a varios puntos prefijados mencionados en la realización preferida del mismo. Este régimen consistió en las siguientes etapas:  
25

15 minutos a 0°C

30 15 minutos a -5°C

15 minutos a -15°C

35 90 minutos a -20°C

30 minutos a -30°C

Las patatas (en lotes de 4 kg) se escaldaron con vapor durante 10 minutos luego se enfriaron con aire durante 2 minutos antes de ser transferidas, mientras estaban todavía calientes, al congelador por aire caliente. Luego se congelaron usando el régimen de proceso de EP 0554468B1.  
40

(iv) El cuarto procedimiento de procesado fue un procedimiento según la invención que aspiraba a maximizar el grado de subenfriamiento experimentado por los tubérculos en el congelador por aire forzado.  
45

60 minutos a 0°C

30 minutos a -5°C

50 15 minutos a -7,5°C

15 minutos a -10°C

55 15 minutos a -12,5°C

75 minutos a -30°C

Las patatas (en lotes de 4 kg) se escaldaron con vapor durante 10 minutos, luego se enfriaron con aire durante 2 minutos antes de ser transferidas, mientras estaban todavía calientes, al congelador por aire forzado. Luego se congelaron usando el régimen anterior.  
60

Después de la preparación, las muestras congeladas se almacenaron todas en un congelador a -25°C por el que se puede circular por dentro. Las muestras estuvieron almacenadas durante menos de 8 semanas antes de la evaluación sensorial.  
65

## ES 2 266 408 T3

### *Alcance del panel*

Dentro de los estudios sensoriales se reconoció que la naturaleza de la materia prima de la patata significaba que las muestras serían inherentemente variables y deben necesitarse etapas para minimizar la variabilidad de manera que la variabilidad dentro de la muestra sería más pequeña que la variabilidad entre las muestras.

El alcance del panel debe ser definido antes de que el entrenamiento comience a seleccionar la materia prima apropiada para el entrenamiento y el procesado y pruebas sensoriales posteriores. El alcance abarca parámetros como variedad de patata, formato del producto (entero, lámina fina, pulpa), calidad de la muestra (fresca, congelada,...), etc. El alcance de este panel era definido como:

	<u>Materia prima</u>	<u>Preparación previa</u>
	Una variedad	Sin piel
15	Un lote	Escaldar (10 min, peroxidasa negativa)
	Clasificación por tamaños (20 - 40 g)	
	Tubérculos completos	<u>Conjunto de la muestra</u>
20	Pieles rígidas	Fresca
		Congelada (procedimientos (i)-(iv))

### *Recalentamiento*

Para proporcionar una calidad óptima (regímenes diferentes para fresco y congelado)

Hervir en agua salada.

### *Materia prima*

Las patatas pequeñas están, normalmente, disponibles en los supermercados a lo largo de todo el año, vendidas como “patatas para ensalada” con pieles rígidas (es decir, las patatas se mantienen en la tierra durante varias semanas después de que se haya evitado su máximo crecimiento. Esto permite que las pieles se formen completamente y las patatas sobrevivirán luego el almacenamiento prolongado a temperaturas frías). Estas patatas pueden cultivarse en varias partes de Europa (Reino Unido, Francia, España) dependiendo de la estación, normalmente las variedades disponibles son Nicola, Charlotte y Maris Peer.

Las patatas “nuevas” están disponibles en el Reino Unido durante los meses de Junio-Agosto con pieles “con pelusa” (es decir, las patatas se dejan disponibles sin permitir que las pieles se hagan rígidas, estas patatas no están pensadas para almacenamiento prolongado).

La necesidad de desarrollar procesos y entrenar/usar el panel a lo largo del año significa que las patatas con pieles rígidas se usaron tanto para el entrenamiento como para las pruebas.

### *Entrenamiento*

De un grupo de asesores entrenados se extrajeron 14 panelistas que habían superado una criba y selección por su agudeza sensorial - incluyendo la identificación de gustos y olores básicos y capacidad descriptiva.

Al principio, al panel se le pidió que buscara diferencias entre los tratamientos a las muestras, con particular énfasis en las diferencias en textura, más que en proporcionar un extenso perfil descriptivo de cada muestra. Como cada prueba sensorial era planeada para examinar tratamientos *dentro* de una variedad específica más que *entre* variedades esto significa que no era necesario generar un extenso vocabulario que describiera pequeñas diferencias.

Durante las iniciales sesiones de entrenamiento, el panel fue expuesto para la gama de materiales de patata (particularmente en términos de textura) que se iban a encontrar, probablemente, en futuros estudios, aunque era difícil que fuera la fuente de patatas verdaderamente “cerosas” fuera de la estación de la patata “nueva”.

El panel consiste en dos clasificaciones separadas: “Aspecto” y “Textura”. A pesar de las etapas requeridas para reducir la variabilidad inherente de la materia prima (véase el alcance más arriba) había todavía problemas de variabilidad dentro de la muestra y se adoptaron varias estrategias para reducir esta variabilidad lo más posible:

Los panelistas fueron provistos de dos tubérculos para clasificar la textura. Las muestras de algunos tratamientos eran tan variables que los tubérculos parecían obviamente diferentes (es decir, uno intacto y el otro partido). Los panelistas fueron instruidos para clasificar la muestra que estaba más intacta pero anotando cualquier variación - esto dio información adicional para la validación y análisis de los resultados.

## ES 2 266 408 T3

Era necesario llevar a cabo el aspecto separadamente del resto de la evaluación porque la variabilidad en alguna de las muestras hacía difícil que los panelistas individuales hicieran una evaluación global sobre sólo dos tubérculos. Se adoptó un procedimiento alternativo para evaluar el aspecto - el aspecto era evaluado por cada panelista observando el mismo plato de tubérculos (8 tubérculos cortados a la mitad) y haciendo un juicio global sobre esta muestra.

### 5 *Metodología sensorial del panel*

Las pruebas emplearon un diseño 5 de 5 donde cada panelista recibió cada uno de los cinco tratamientos, sobre un total de 3 sesiones. Los diseños al azar se prepararon para ambas pruebas de manera que cada muestra era degustada 10 36 veces para ambas pruebas.

Los panelistas recibieron un producto de referencia estándar al comienzo de cada sesión del día.

La evaluación de la Textura se llevó a cabo en cabinas sensoriales bajo luces blancas y datos capturados electrónicamente. La evaluación del Aspecto se llevó a cabo bajo luces blancas y se recogieron los datos. 15

### *Monitorización del panelista*

Hay una serie de datos y técnicas de monitorización del panelista que se realizan de forma regular sobre toda la capacidad sensorial. El objetivo de estos procedimientos de monitorización es comprobar si los panelistas dan 20 resultados reproducibles y discriminatorios. Se analizan tanto el comportamiento del panel completo como de cada panelista individual. Se comprueba si los tanteos de los panelistas se repiten sobre la misma muestra sobre cada atributo, si hay buena concordancia entre el panel completo, y si las definiciones de los atributos son bien comprendidas por todos los panelistas. 25

Sin asimetría ni curtosis aparente, se logró, por tanto, una distribución normal de los datos. La reiteración fue buena, todas las muestras recibieron al menos 30 evaluaciones reiteradas. La reproducibilidad y discriminación individual fue buena para aroma, sabor, textura y aspecto.

Los resultados de cada una de estas técnicas indicaron que los tanteos medios y el análisis de las comparaciones múltiples podían ser tratados con confianza. Los tanteos medios se muestran más adelante. 30

### *Procedimiento de evaluación*

Se dan 2 tubérculos a los panelistas con las siguientes instrucciones - si los dos tubérculos parecen muy diferentes, evaluar el tubérculo más intacto y anotar cualquier diferencia. 35

Todas las evaluaciones se llevaron a cabo bajo luces blancas

40	Atributos 1-6	Evaluados en cabinas sensoriales
	Atributo 1	Insertar la punta del cuchillo de mesa en el tubérculo
45	Atributos 2-6	Evaluado en un tubérculo, un segundo tubérculo puede estar disponible si se necesita
	Atributos 7-10	Evaluado por cada panelista observando el mismo plato de tubérculos (8 tubérculos cortados a la mitad) y haciendo un juicio global sobre esta muestra.
50	<u>Apertura</u>	
	1. Firmeza en cortar	Como se sujeta la muestra cuando se corta con un cuchillo
55	<u>Textura</u>	
	2. Firmeza	Evaluada después de 3 masticaciones con los dientes laterales
60	3. Velocidad de rotura	Cuán rápidamente se rompe la muestra en la rotura en boca
	4. Carácter céreo	Cuán cerosa es la muestra, mordedura clara/firme, fragmentos
	5. Humedad	Cuán húmeda se siente la muestra en la boca
65	6. Sequedad	Cuán seca se siente la muestra en la boca, se necesita saliva para humedecer la muestra

## ES 2 266 408 T3

### Aspecto

5	7. Uniformidad	La uniformidad de toda la muestra, teniendo en cuenta cada cosa
	8. Integridad de la superficie de corte	Cuán intacta parece la muestra
	9. Integridad de la piel	Si las pieles están intactas o cuarteadas
10	10. Cerosidad	Cuán cerosa parece la muestra (húmeda, translúcida, reluciente)

### *Datos sensoriales*

Tanteos medios ajustados (sólo atributos significativos)

15	Código de producto	FR	BL	NE	PI
	<u>Aspecto</u>				
	Uniformidad	6,31	2,58	3,39	5,60
20	Integridad de la superficie de corte	5,87	1,57	3,09	5,02
	Integridad de la piel	6,34	1,26	3,44	5,63
	Cerosidad	4,51	1,25	2,37	3,38
	Firmeza al cortar	5,56	2,15	3,11	5,03
25	<u>Textura</u>				
	Firmeza	5,87	1,72	3,04	4,88
	Velocidad de rotura	3,68	7,03	6,13	4,18
30	Carácter céreo	4,22	0,94	1,87	2,96
	Sequedad	3,87	4,21	4,67	4,81

FR = Fresco, no congelado

35 BL = Congelado por aire forzado convencional

NE = procedimiento EP 0 554 468 B1

PI = Procedimiento de la invención

40 Thybo A.K. y Martens M. Food Quality and Preference 11 (2000) 283-288. Análisis de evaluadores sensoriales en perfilar la textura de patatas mediante modelización multivariante.

### Ejemplo 4

45 *Un régimen de enfriamiento simplificado para lograr suficiente subenfriamiento de patatas escaldadas*

50 Se seleccionaron tubérculos de patata (cv. Charlotte, origen España) en el intervalo de peso de 25 a 30 g. Los tubérculos habían sido clasificados por tamaño de manera que estaban en el intervalo de 30 a 35 mm. Los tubérculos se escaldaron por calentamiento con vapor durante 12 minutos. Los tubérculos se transfirieron a un conjunto congelador por corriente forzada de aire a temperatura apropiada. En el núcleo de cada tubérculo se insertaron sondas termopares de aguja. Las temperaturas se registraron cada 15 segundos durante el procedimiento de congelación.

55 Para el enfriamiento según la presente invención el congelador por corriente forzada de aire se puso inicialmente a -12°C. Después de que se introdujeron las muestras la temperatura de referencia del congelador se redujo progresivamente según el siguiente régimen:

-12°C durante 63 minutos      Caudal de aire descendente de 1 m/s aproximadamente

-30°C durante 27 minutos      Caudal de aire descendente de 4,5/s aproximadamente

60 Sub-enfriar a menos que -5°C como se ilustra en la figura 5.

65

## Ejemplo 5

*Ensayos mecánicos compresivos de patatas congeladas según un procedimiento de la presente invención*

5 Los gráficos de la figura 6 muestra ensayos mecánicos compresivos típicos sobre piezas de patata cortadas de patatas completas que habían sido escaldadas, congeladas por aire forzado convencional y por un procedimiento de la invención, luego se descongelaron (por inmersión en agua en condiciones ambientales).

10 Los ensayos mecánicos compresivos se realizaron sobre cubos de 1 cm de tejido cortado de los centros y bordes de la patata completa descongelada. Los ensayos se realizaron a una velocidad de cruceta de 2.400 mm/min usando un Equipo Servo-hidráulico ESH. Las dimensiones de los cubos se midieron antes de la compresión para transformar los datos de fuerza-desplazamiento en esfuerzo-deformación. La Figura 6 muestra que la rigidez (gradiente inicial), resistencia (máx. esfuerzo antes del fallo) y energía al fallo (área bajo la curva antes de fallo) son mayor para el tejido  
15 descongelado congelado por el procedimiento de la invención, más que el tejido congelado por aire forzado de forma convencional. Estos parámetros mecánicos se conocen respecto a la textura (firmeza) en boca percibida del tejido.

## Ejemplo 6

*Visualización de la formación de hielo en tejido de patata mediante formación de imágenes por resonancia magnética*

20 Las patatas usadas en este estudio eran patatas Desiree estándares de Sainsburys, Reino Unido. Una lámina fina de 1 cm de espesor se cortó por el medio de la patata, de lo que se cortó un taco de ~8 mm con un taladrador del corcho. Las muestras se escaldaron en agua hirviendo durante 2 minutos seguido de inmersión en agua fría. Todas las muestras se colocaron luego en tubos de resonancia magnética nuclear (NMR) de 10 mm de diámetro exterior (O.D.).

25 Las imágenes de la formación de imágenes por resonancia magnética (IMR) en 2 D (en dos dimensiones) se adquirieron en un Bruker DSX 300, equipado con un accesorio de micro-formación de imágenes estándar con un resonador de jaula de pájaros de 15 mm. Las imágenes se adquirieron usando un procedimiento de eco de gradiente rápido (GEFI). Los parámetros típicos usados fueron un campo de visión de 1,5 cm, con una matriz de imagen de  
30 128\*128 que da una resolución de píxeles de ~120  $\mu\text{m}$  en el plano. El espesor de la lámina fina estudiada era de 1 mm. El espaciado de eco usado era de 5 ms con un retraso de reciclo de 100 ms. El tiempo total de adquisición de imagen era de 12 s. Generalmente, se adquirieron, simultáneamente, dos imágenes ortogonales, una en dirección vertical y una horizontalmente. La temperatura se controló usando la unidad de control de la temperatura Bruker estándar usando gas nitrógeno enfriado previamente a un caudal de 1.070 l/h. Para los ejemplos de congelación convencionales, la  
35 muestra se equilibró inicialmente a 0°C en el espectrómetro antes de que la temperatura se redujera rápidamente a -30°C. La adquisición empezó inmediatamente con datos registrados cada 30 s. Para el subenfriamiento, las muestras ejemplos se equilibraron a 0°C antes de que la temperatura se disminuyera en pasos de 1°C cada 20 minutos. No se adquirieron imágenes durante el enfriamiento inicial, pero se recogieron cada 30 s a temperaturas más bajas. El perfil de temperatura de alguna de las muestras se registró durante el experimento de formación de imágenes usando un  
40 termómetro Fluoróptico Luxtron 790, que era calibrada, inicialmente, en una mezcla de agua helada.

45 Las imágenes de MRI típicas muestran 2 imágenes ortogonales adquiridas simultáneamente. La tira opaca a través del centro de la imagen muestra la posición de la otra lámina fina de la imagen. Se piensa que la intensidad de la imagen refleja el entorno local del agua más que la cantidad absoluta de agua no congelada presente.

50 En la figura 9, se muestran las imágenes adquiridas durante la congelación convencional (a -30°C) de patata escaldada. Hay una pérdida inicial de intensidad de la señal en la parte externa de la imagen que sugiere la formación de hielo preferentemente en la parte externa de la muestra. Las imágenes sugieren la presencia de un gradiente de temperatura a través de la muestra, formándose hielo sólo en el centro de la muestra a un tiempo retardado a medida que un frente de enfriamiento se mueve a través de la muestra.

Luego, se adquirieron las imágenes en función del tiempo durante el enfriamiento controlado de la patata escaldada. El perfil de temperatura de la patata se registró también y se muestra en la Figura 10. Inicialmente la temperatura de la muestra disminuyó en línea con los ajustes de temperatura del espectrómetro. No se observaron cambios en  
55 las imágenes durante este período de enfriamiento inicial. El perfil de temperatura muestra que la muestra alcanzó una temperatura mínima de aproximadamente -10°C antes de que hubiera un rápido incremento de la temperatura, indicativo de que se empieza a formar hielo después de que la muestra se ha superenfriado inicialmente.

60 Las imágenes correspondientes alrededor de este cambio de temperatura se muestran en la figura 11. El incremento rápido de la temperatura corresponde a una gran disminución en la intensidad de la imagen (~50% de la intensidad total de la imagen) por toda la muestra. Esta pérdida de intensidad tuvo lugar entre una imagen y la siguiente, es decir en unos 30 s. Estos resultados sugieren que la inicial cristalización de hielo tuvo lugar de forma uniforme por toda la muestra. Después de este cambio, había una pérdida adicional de intensidad de la señal desde la parte externa de la imagen hacia el interior con congelación adicional. Esto sugiere un frente de enfriamiento que se mueve a través  
65 de la muestra con formación de hielo adicional que tiene lugar desde la parte externa de la muestra hacia el interior. Este período de congelación corresponde a la meseta observada en el perfil de temperatura. Cuando se había perdido toda la intensidad de la imagen, se observó que la temperatura de la muestra disminuía lo que sugiere que se había terminado la formación de hielo. El procedimiento de congelación completo requirió aproximadamente 10 minutos.

REIVINDICACIONES

5 1. Un procedimiento para la producción de una hortaliza o parte de la misma congelada, en el que dicho procedimiento comprende las etapas de:

- (i) tratar con calor una hortaliza o parte de la misma;
- (ii) sub-enfriar a una temperatura máxima de núcleo de menos que o igual a -5°C;
- 10 (iii) reducir la temperatura del núcleo a menos que o igual a -18°C;

15 2. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que al menos 40% de la formación de hielo dentro del núcleo de dicha hortaliza o de parte de la misma en la etapa (iii) aparece dentro de una pluralidad de estructuras celulares, en las que el perímetro de cada estructura celular está definido por una pared celular.

3. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que dicha hortaliza o parte de la misma se selecciona del grupo que comprende patata, colinabo, nabo, calabaza, cebolla, brécol, tomate, calabacín, berenjena, castaño de agua, pimiento, seta, guisantes, quisantes mollares, zanahoria y espinacas.

20 4. Un procedimiento según la reivindicación 1 a 2, en el que dicha hortaliza o parte de la misma es patata.

25 5. Una hortaliza o parte de la misma congelada obtenible por un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y que comprende un contenido de hielo en el núcleo, **caracterizado** porque al menos 40% de dicho contenido de hielo en el núcleo está localizado dentro de una pluralidad de estructuras celulares, en donde el perímetro de cada estructura celular está definido por una pared celular.

30 6. Una hortaliza o parte de la misma congelada según la reivindicación 5, en donde dicha hortaliza o parte de la misma se selecciona del grupo que comprende patata, zanahoria, colinabo, nabo, calabaza, cebolla, brécol, tomate, calabacín, berenjena, castaño de agua y espinacas.

7. Una hortaliza o parte de la misma congelada según la reivindicación 5 o la reivindicación 6, en donde dicha hortaliza o parte de la misma es patata.

35 8. Una comida congelada que comprende una hortaliza o parte de la misma según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7.

9. El uso de una hortaliza según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7 en una comida congelada.

Fig.1(a).

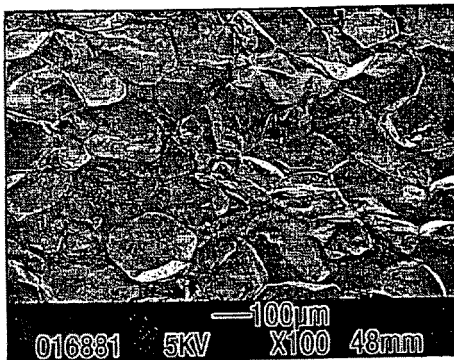


Fig.1(b).

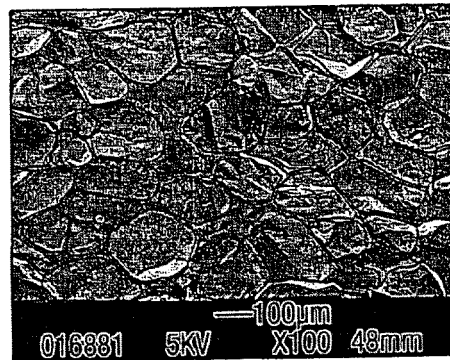


Fig.1(c).

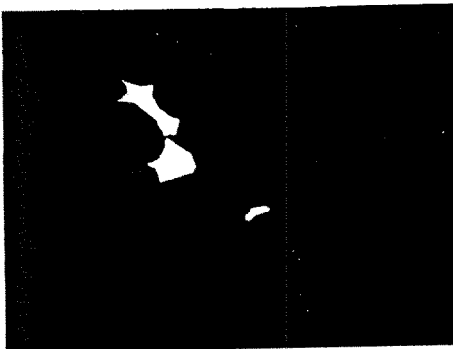


Fig.1(d).

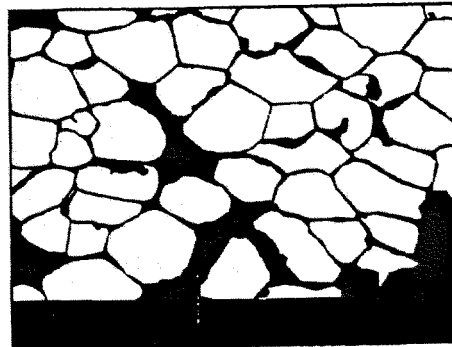


Fig.2(a).



Fig.2(b).

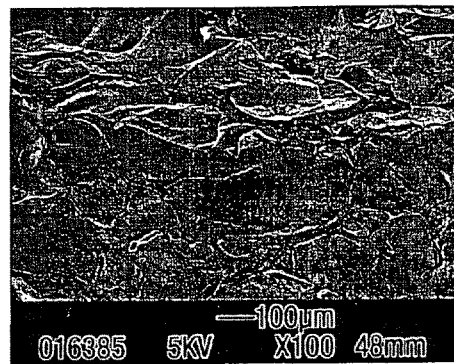


Fig.2(c).

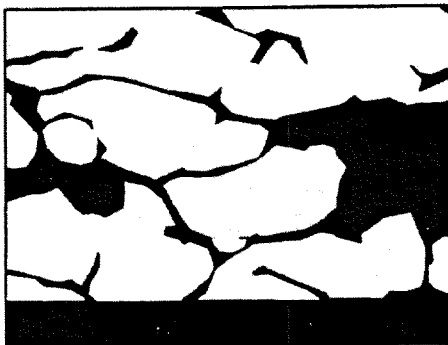


Fig.2(d).

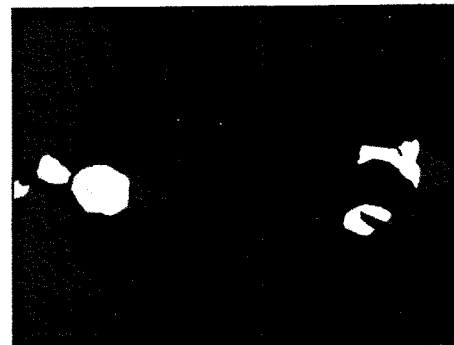


Fig.3.

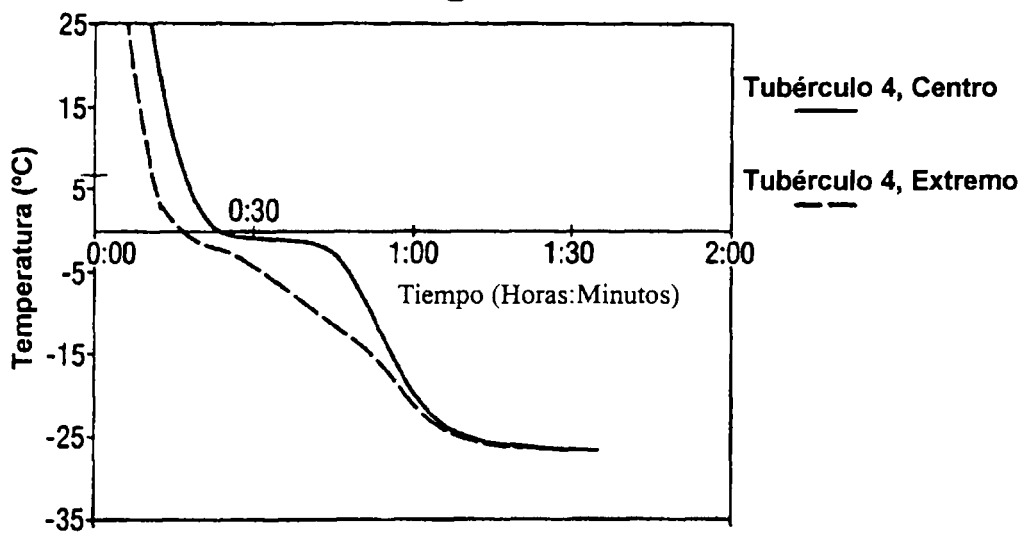


Fig.4.

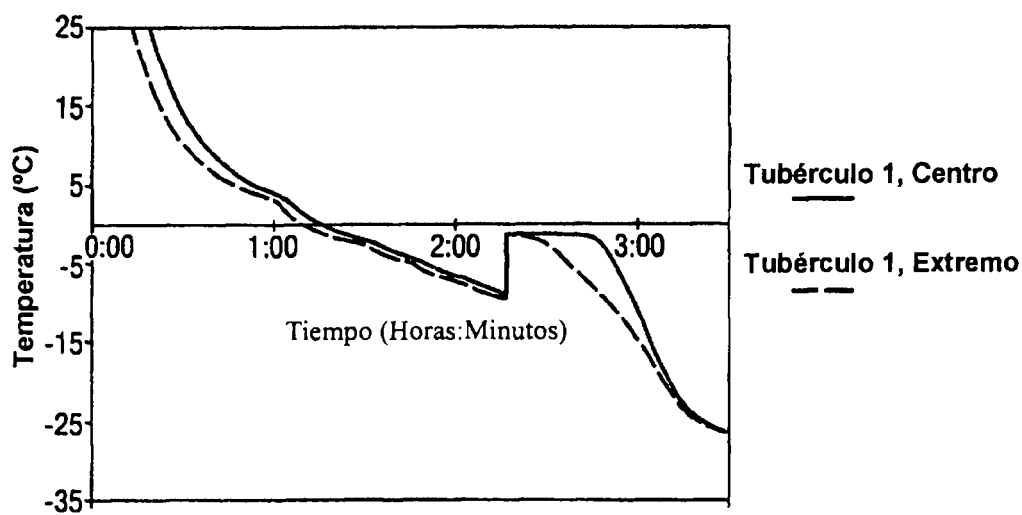


Fig.5.

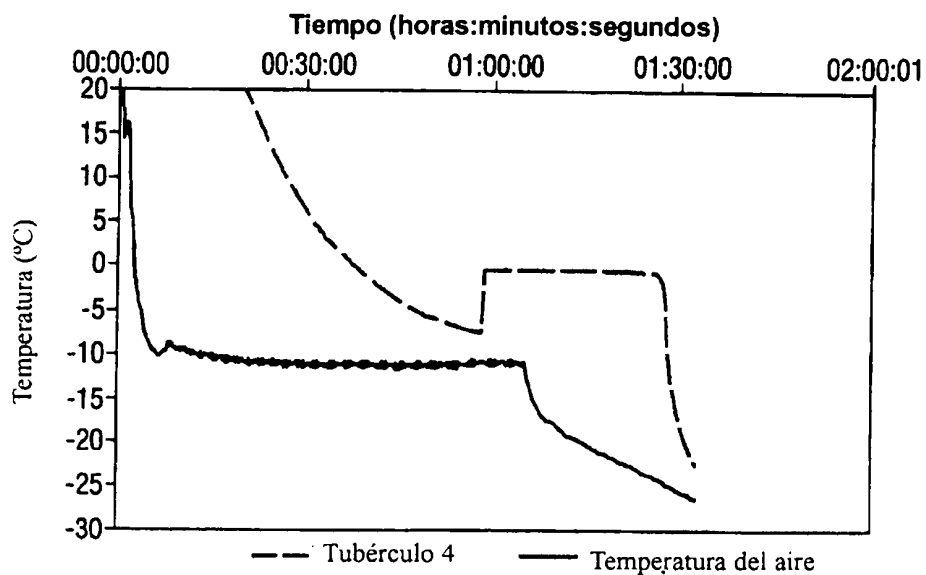


Fig.6.

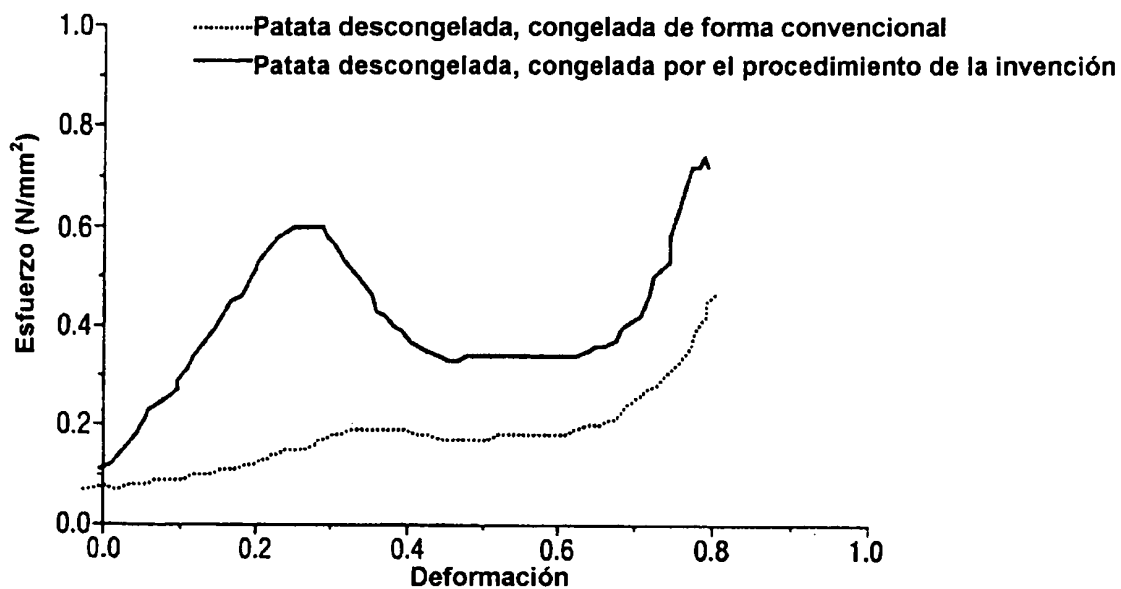


Fig.7(a).

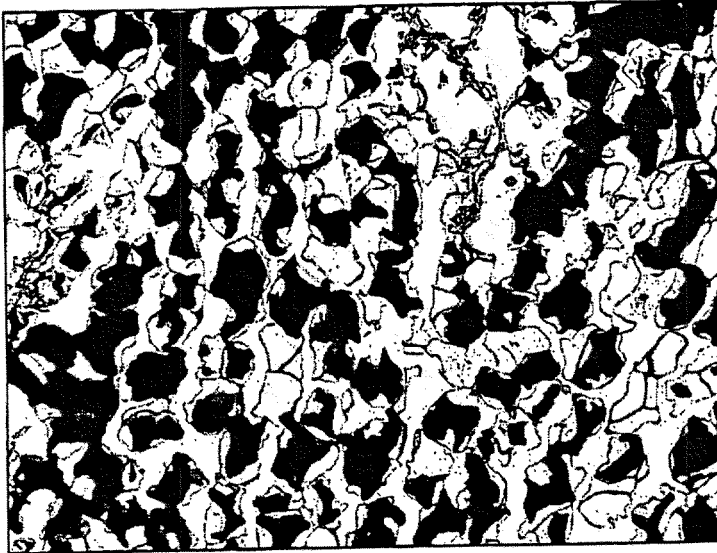


Fig.7(b).



Fig.7(c).

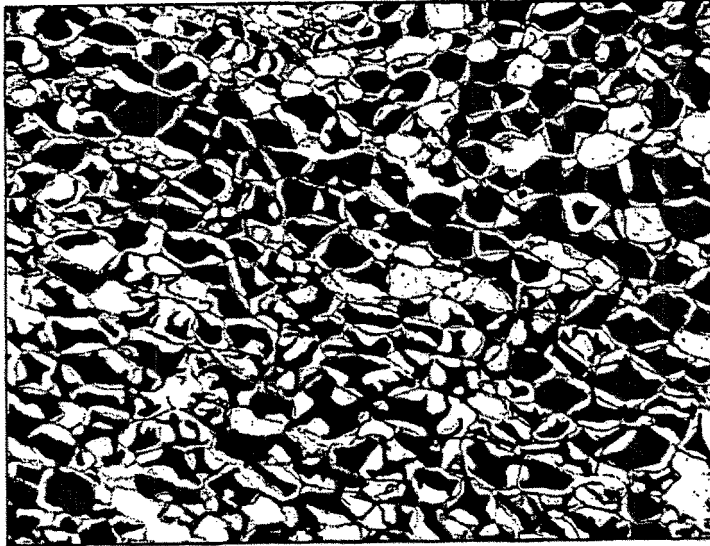


Fig.7(d).

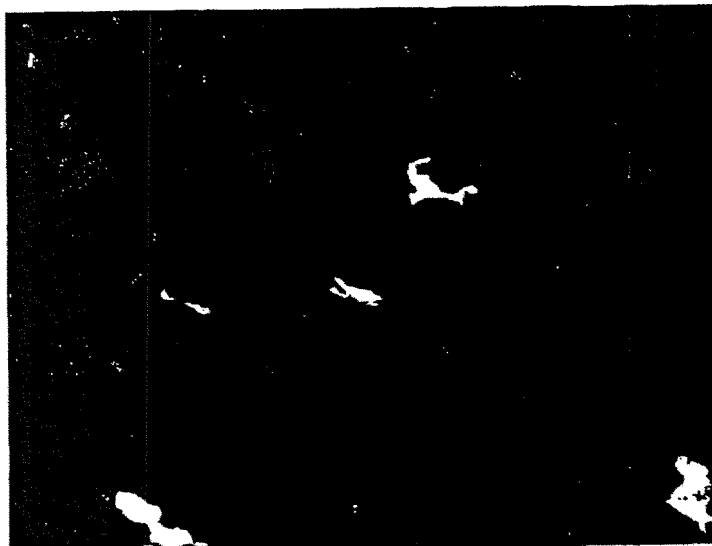


Fig.8(a).

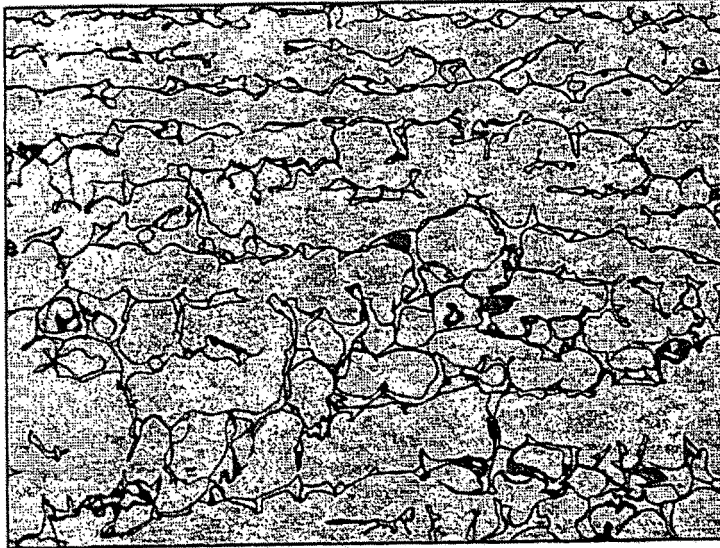


Fig.8(b).

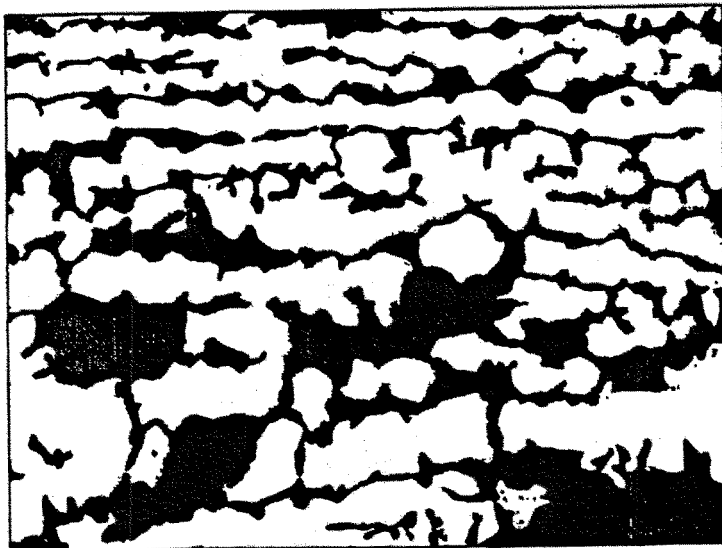


Fig.8(c).

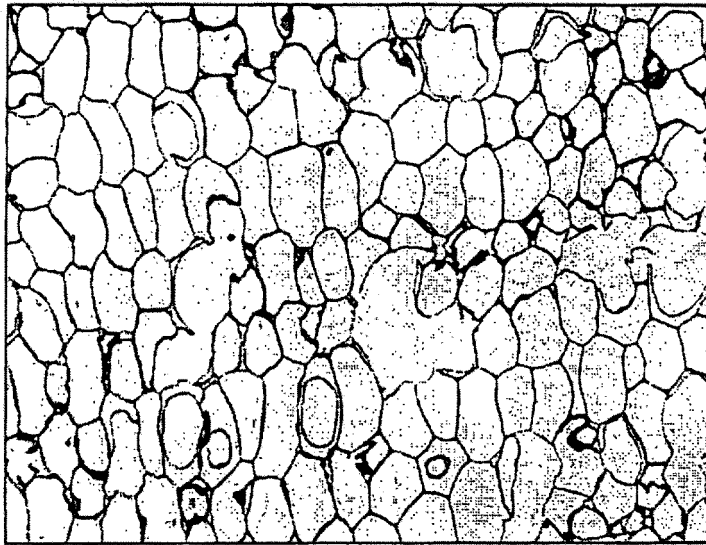


Fig.8(d).



Fig.9.

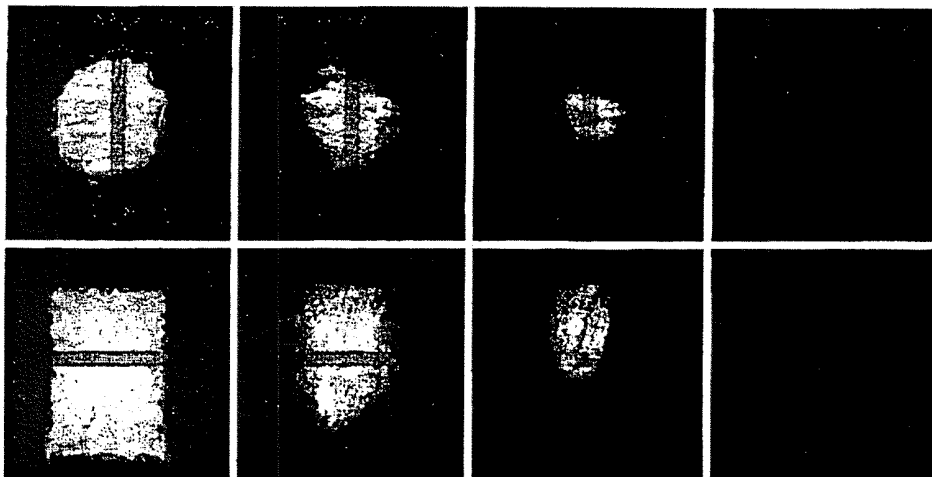


Fig.10.

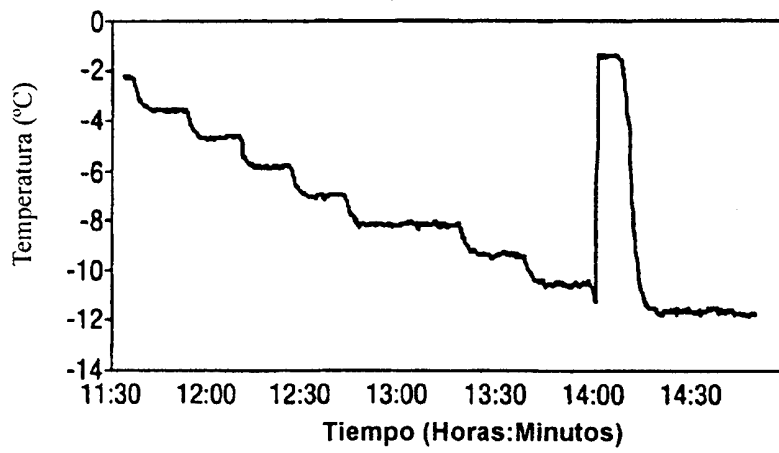


Fig.11.

