

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 451 270**

51 Int. Cl.:

A23D 7/005 (2006.01)

A23G 1/52 (2006.01)

A23L 1/305 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.10.2008 E 08167499 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2013 EP 2052628**

54 Título: **Productos aireados a base de grasa de fase continua**

30 Prioridad:

25.10.2007 EP 07119262

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

26.03.2014

73 Titular/es:

**UNILEVER N.V. (100.0%)
Weena 455
3013 AL Rotterdam, NL**

72 Inventor/es:

**ALDRED, DEBORAH LYNNE;
CRILLY, JAMES FRANCIS y
HOMAN, JENNIFER ELIZABETH**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 451 270 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

Productos aireados a base de grasa de fase continua

Campo técnico de la invención

- 5 La presente invención se refiere a productos a base de grasa de fase continua tales como chocolate y mantequilla. En particular se refiere a productos alimentarios aireados a base de grasa de fase continua y procedimientos para producirlos.

Antecedentes de la invención

- 10 Los productos a base de grasa de fase continua, tales como chocolate, mantequilla, margarina, ghee, aceites, manteca, mantequilla de cacahuete, chocolate para untar y similares generalmente no están aireados. Sin embargo, también pueden estar aireados para diversos fines, por ejemplo, para aumentar la suavidad y/o untabilidad, para alterar la textura o para cambiar la apariencia visual, por ejemplo por blanqueado u opacificación. Un ejemplo bien conocido es el chocolate aireado, tal como Aero™. A diferencia de productos a base de agua, tales como mousse o helado, es difícil airear un producto alimentario a base de grasa de fase continua hasta alto esponjamiento simplemente batiendo en presencia de un tensioactivo debido a que tanto la grasa como el aire son hidrófobos.

- 15 El chocolate habitualmente se airea por un procedimiento en el que se mezcla gas presurizado, por ejemplo dióxido de carbono, en el chocolate fundido. La presión se libera después y las burbujas de gas se expanden, formando de este modo un producto aireado. Finalmente, el chocolate aireado se enfría para solidificar la grasa y de este modo conservar la estructura aireada. Este procedimiento se ha conocido durante muchos años, por ejemplo de los documentos GB 459.583 y EP 322.952.

- 20 La mantequilla batida generalmente se prepara batiendo aire en mantequilla ablandada a temperaturas templadas, y después enfriándola. El documento US 2.937.093 desvela un procedimiento para preparar margarina batida. Este procedimiento comprende combinar margarina líquida con un gas inerte (por ejemplo, nitrógeno), enfriar la mezcla, agitar la mezcla enfriada bajo presión para producir una masa en suspensión, y después liberar la presión.

- 25 El documento EP 285.198 desvela productos plastificados comestibles tales como margarina o manteca que comprenden una fase a base de grasa y una fase de gas disperso, que muestran un mejor comportamiento de salpicadura cuando se usan para freír. El producto se produce en una línea votator y el gas se incorpora en la composición cerca del comienzo de la línea, mientras que la composición aún no comprende esencialmente ninguna grasa cristalizada.

- 30 El documento US 5.202.147 desvela un procedimiento para airear mantequilla de cacahuete que comprende someter una masa fundida de mantequilla de cacahuete a presiones de aproximadamente 1,38 a aproximadamente 3,45 MPa, enfriar en profundidad rápidamente la masa hasta una temperatura de aproximadamente 1,67 a aproximadamente 10 °C, inyectar gas inerte en la masa fundida, y después pasar la masa enfriada a través de un orificio estrecho.

- 35 Sin embargo, dichos procedimientos son complejos e inconvenientes, y además dan como resultado con frecuencia esponjamientos relativamente bajos y/o grandes burbujas de aire. Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de un procedimiento sencillo y mejorado para producir productos a base de grasa aireados, y en particular un procedimiento que dé cómo resultado esponjamientos altos y burbujas de gas pequeñas, de tamaños uniformes.

Breve descripción de la invención

- 40 En el documento de los inventores EP-A 1 623 631 estos han descubierto previamente que una proteína fúngica denominada hidrofobina permite la producción de espumas acuosas con excelente estabilidad a desproporción y coalescencia. Sin embargo, solo se desvelan productos alimentarios aireados a base de agua. Los tensioactivos/agentes de aireado que se usan para generar productos a base de agua aireados habitualmente no son tensioactivos en disolventes no polares, tales como grasas/aceites. Los inventores han descubierto ahora que usando hidrofobina, pueden producirse productos a base de grasa de fase continua aireados. Los esponjamientos resultantes son altos y las burbujas de gas son pequeñas y de tamaño relativamente uniforme.

- 45 En consecuencia, en un primer aspecto la presente invención proporciona un producto aireado a base de grasa de fase continua que comprende hidrofobina.

- 50 Preferentemente el producto es un producto alimentario; más preferentemente el producto alimentario se selecciona de chocolate, mantequilla, ghee, margarina, pastas para untar bajas en grasa, grasas de cocina y aceites, manteca, mantequilla de cacahuete y chocolate para untar.

Preferentemente el producto comprende al menos 0,001 % en peso de hidrofobina.

Preferentemente el producto comprende como máximo 1 % en peso de hidrofobina.

Preferentemente la hidrofobina está en forma aislada.

Preferentemente la hidrofobina es soluble en agua.

Preferentemente la hidrofobina es una hidrofobina de clase II.

5 Preferentemente el producto tiene un esponjamiento del 5 al 150 %, más preferentemente del 10 al 120 %, más preferentemente del 20 al 100 %.

Preferentemente, al menos el 50 % de las burbujas de gas tienen un diámetro de menos de 0,1 mm.

10 Además, los inventores han descubierto que usando hidrofobina, puede usarse un procedimiento particularmente sencillo para proporcionar productos aireados a base de grasa de fase continua, que da como resultado esponjamientos altos y burbujas de gas pequeñas, de tamaño uniforme. En consecuencia, en un segundo aspecto la presente invención proporciona un procedimiento para producir un producto aireado de acuerdo con el primer aspecto de la invención, comprendiendo el procedimiento:

a) airear una composición acuosa que comprende hidrofobina para formar una espuma;

b) mezclar la espuma en una composición a base de grasa de fase continua;

15 c) opcionalmente enfriar la composición mixta. En una realización la espuma se seca, por ejemplo por secado por pulverización o liofilización, antes de mezclarse en la composición a base de grasa de fase continua. El procedimiento de secado es tal que la espuma no se destruye durante el secado. La composición a base de grasa de fase continua debe ser suficientemente sólida o líquida para que la espuma pueda mezclarse con ella. El enfriado solidifica después la grasa.

20 En un tercer aspecto la presente invención proporciona un procedimiento alternativo para producir un producto aireado de acuerdo con el primer aspecto de la invención, comprendiendo el procedimiento.

a) dispersar un gas en una composición a base de grasa de fase continua que contiene hidrofobina;

b) enfriar opcionalmente la composición resultante. La composición a base de grasa de fase continua debe ser suficientemente blanda, o líquida para que el gas pueda mezclarse con ella para formar una espuma. El enfriado solidifica después la grasa.

25 En una realización, las etapas a) y b) tienen lugar simultáneamente mientras que la composición se somete a cizallamiento, por ejemplo en un intercambiador de calor de superficie raspada o cristizador agitado. Siempre que la composición a base de grasa de fase continua sea suficientemente blanda en el momento en que se mezcla el gas con ella, la mayor parte del enfriado puede tener lugar antes de la etapa a).

30 En otra realización, el gas se dispersa en la composición a base de grasa de fase continua bajo presión y después se libera la presión.

En una variante del segundo y tercer aspectos de la invención, el procedimiento para producir un producto aireado de acuerdo con el primer aspecto de la invención comprende:

a) formar una emulsión de aceite en agua;

35 b) enfriar la emulsión aplicando a la vez presión de cizallamiento de modo que tenga lugar la inversión de fase de la emulsión; y

c) airear la emulsión durante la etapa (a) y/o la etapa (b).

Descripción detallada de la invención

40 A no ser que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que se entiende habitualmente por un experto habitual en la materia. Las definiciones y descripciones de diversos términos y técnicas usados en sistemas de alimentos a base de grasa se proporcionan en Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6ª Edición, Shahidi y Fereidoon (eds), Vol 1-6, 2005, John Wiley and Sons. Pueden encontrarse técnicas convencionales usadas para procedimientos moleculares y bioquímicos en Sambrook y col., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3ª ed. (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. y Ausubel y col., Short Protocols in Molecular Biology (1999) 4ª Ed, John Wiley y Sons, Inc., y la versión completa titulada Current Protocols in Molecular Biology.

45 Todos los porcentajes, a no ser que se indique de otro modo, se refieren al porcentaje en peso, con la excepción de porcentajes enumerados en relación con el esponjamiento.

Hidrofobinas

Las hidrofobinas son una clase bien definida de proteínas (Wessels, 1997, Adv. Microb. Physio. 38: 1-45; Wosten, 2001, Annu Rev. Microbiol. 55: 625-646) capaces de autoensamblarse en una interfaz hidrófoba/hidrófila, y que tienen la secuencia conservada:

5 $X_n-C-X_{5-9}-C-C-X_{11-39}-C-X_{8-23}-C-X_{5-9}-C-C-X_{6-18}-C-X_m$ (SEC ID N°1)

en la que X representa cualquier aminoácido, y n y m representan independientemente un número entero. Típicamente, una hidrofobina tiene una longitud de hasta 125 aminoácidos. Los restos de cisteína (C) en la secuencia conservada son parte de enlaces disulfuro. En el contexto de la presente invención, el término hidrofobina tiene un significado más amplio para incluir proteínas funcionalmente equivalentes que aún presentan la característica de autoensamblaje en una interfaz hidrófoba-hidrófila dando como resultado una película proteica, tal como proteínas que comprenden la secuencia:

10 $X_n-C-X_{1-50}-C-X_{0-5}-C-X_{1-100}-C-X_{1-100}-C-X_{1-50}-C-X_{0-5}-C-X_{1-50}-C-X_m$ (SEC ID N° 2)

o partes de las mismas que aún presentan la característica de autoensamblaje en una interfaz hidrófoba-hidrófila dando como resultado una película proteica. De acuerdo con la definición de la presente invención, el autoensamblaje puede detectarse adsorbiendo la proteína en Teflón y usando Dicroísmo Circular para establecer la presencia de una estructura secundaria (en general, hélice α) (De Vocht y col., 1998, Biophys. J. 74: 2059-68).

15 La formación de una película puede establecerse incubando una lámina de Teflón en la solución proteica seguido de al menos tres lavados con agua o tampón (Wosten y col., 1994, Embo. J. 13: 5848-54). La película proteica puede visualizarse por cualquier método adecuado, tal como marcaje con un marcador fluorescente o mediante el uso de anticuerpos fluorescentes, como está bien establecido en la técnica. M y n típicamente tienen valores que varían de 0 a 2000, pero más habitualmente m y n en total son de menos de 100 o 200. La definición de hidrofobina en el contexto de la presente invención incluye proteínas de fusión de una hidrofobina y otro polipéptido así como conjugados de hidrofobina y otras moléculas tales como polisacáridos.

20 Las hidrofobinas identificadas hasta la fecha generalmente se clasifican como de clase I o clase II. Ambos tipos se han identificado en hongos como proteínas secretadas que se autoensamblan en interfaces hidrófobas en películas antipáticas. Los ensamblajes de hidrofobinas de clase I generalmente son relativamente insolubles mientras que los de hidrofobinas de clase II se disuelven fácilmente en una diversidad de disolventes. Preferentemente, la hidrofobina es una hidrofobina de clase II. Preferentemente la hidrofobina es soluble en agua, por lo que se entiende que es al menos 0,1 % soluble en agua, preferentemente al menos 0,5 %. Por al menos 0,1 % soluble se entiende que no se precipita hidrofobina cuando se someten 0,1 g de hidrofobina en 99,9 ml de agua a centrifugación 30.000 g durante 30 minutos a 20 °C.

25 Las hidrofobinas identificadas hasta la fecha generalmente se clasifican como de clase I o clase II. Ambos tipos se han identificado en hongos como proteínas secretadas que se autoensamblan en interfaces hidrófobas en películas antipáticas. Los ensamblajes de hidrofobinas de clase I generalmente son relativamente insolubles mientras que los de hidrofobinas de clase II se disuelven fácilmente en una diversidad de disolventes. Preferentemente, la hidrofobina es una hidrofobina de clase II. Preferentemente la hidrofobina es soluble en agua, por lo que se entiende que es al menos 0,1 % soluble en agua, preferentemente al menos 0,5 %. Por al menos 0,1 % soluble se entiende que no se precipita hidrofobina cuando se someten 0,1 g de hidrofobina en 99,9 ml de agua a centrifugación 30.000 g durante 30 minutos a 20 °C.

30 También se han identificado proteínas de tipo hidrofobina (por ejemplo, "chaplinas") en bacterias filamentosas, tales como *Actinomycete* y *Streptomyces* sp. (documento WO01/74864; Talbot, 2003, Curr. Biol, 13: R696-R698). Estas proteínas bacterianas a diferencia de hidrofobinas fúngicas, pueden formar solamente hasta un enlace disulfuro puesto que pueden tener solamente dos restos de cisteína. Dichas proteínas son un ejemplo de equivalentes funcionales a hidrofobinas que tienen las secuencias consenso mostradas en SEC ID N° 1 y 2, y están dentro del ámbito de la presente invención.

35 Las hidrofobinas pueden obtenerse por extracción de fuentes nativas, tales como hongos filamentosos, por cualquier procedimiento adecuado. Por ejemplo, pueden obtenerse hidrofobinas cultivando hongos filamentosos que secretan la hidrofobina al medio de cultivo o mediante extracción de micelios fúngicos con etanol al 60 %. Se prefiere particularmente aislar hidrofobinas de organismos huésped que secretan de forma natural hidrofobinas. Son huéspedes preferidos hifomicetes (por ejemplo *Trichoderma*), basidiomicetes y ascomicetes. Son huéspedes particularmente preferidos organismos de calidad alimentaria, tales como *Cryphonectria parasitica* que secreta una hidrofobina denominada criparina (MacCabe y Van Alfen, 1999, App. Environ. Microbiol 65: 5431-5435).

40 Como alternativa, pueden obtenerse hidrofobinas mediante el uso de tecnología recombinante. Por ejemplo pueden modificarse células huésped, típicamente microorganismos, para expresar hidrofobinas y las hidrofobinas pueden después aislarse y usarse de acuerdo con la presente invención. Se conocen bien en este campo técnicas para introducir construcciones de ácido nucleico que codifican hidrofobinas en células huésped. Se han clonado más de 34 genes que codifican hidrofobinas, de más de 16 especies fúngicas (véase por ejemplo documento WO96/41882 que proporciona la secuencia de hidrofobinas identificadas en *Agaricus bisporus*; y Wosten, 2001, Annu Rev. Microbiol. 55: 625-646). También puede usarse tecnología recombinante para modificar secuencias de hidrofobina o sintetizar nuevas hidrofobinas que tienen propiedades deseadas/mejoradas.

45 Típicamente, una célula u organismo huésped apropiado se transforma por una construcción de ácido nucleico que codifica la hidrofobina deseada. La secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido puede insertarse en un vector de expresión adecuado que codifica los elementos necesarios para transcripción y traducción y de tal manera que se expresen en condiciones apropiadas (por ejemplo en orientación apropiada y fase de lectura correcta y con

55

secuencias de expresión y dirección apropiadas). Los métodos requeridos para construir estos vectores de expresión se conocen bien por los expertos en la materia.

5 Pueden usarse varios sistemas de expresión para expresar la secuencia codificante de polipéptido. Estos incluyen pero sin limitación, bacterias, hongos (incluyendo levadura), sistemas de células de insectos, sistemas de cultivo de células vegetales y plantas todos transformados con los vectores de expresión apropiados. Son huéspedes preferidos los que se consideran de calidad alimentaria, "generalmente considerados seguros" (GRAS).

10 Las especies fúngicas adecuadas incluyen levaduras tales como (pero sin limitación) las de los géneros *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Candida*, *Schizo saccharomyces* y similares, y especies filamentosas tales como (pero sin limitación) las de los géneros *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Neurospora*, *Fusarium* y similares.

15 Las secuencias que codifican las hidrofobinas son preferentemente al menos 80 % idénticas al nivel de aminoácidos a una hidrofobina identificada en la naturaleza, más preferentemente al menos 95 % o 100 % idénticas. Sin embargo, los expertos en la materia pueden realizar sustituciones conservativas u otros cambios de aminoácidos que no reducen la actividad biológica de la hidrofobina. Para el fin de la invención estas hidrofobinas que poseen este alto nivel de identidad con una hidrofobina que aparece de forma natural también están abarcadas dentro del término "hidrofobinas".

20 Las hidrofobinas pueden purificarse de los medios de cultivo o extractos celulares mediante, por ejemplo, el procedimiento descrito en el documento WO01/57076 que implica adsorber la hidrofobina presente en una solución que contiene hidrofobina a la superficie y después poner en contacto la superficie con un tensioactivo, tal como Tween 20, para eluir la hidrofobina de la superficie. Véase también Collen y col., 2002, *Biochim Biophys Acta*. 1569: 139-50; Calonje y col., 2002, *Can. J. Microbiol.* 48: 1030-4; Askolin y col., 2001, *Appl Microbiol Biotechnol.* 57: 124-30; y De Vries y col., 1999, *Eur J Biochem.* 262: 377-85.

25 La cantidad de hidrofobina presente en el producto generalmente variará dependiendo de la formulación y volumen de la fase de gas. Típicamente, el producto contendrá al menos 0,001 % en peso de hidrofobina, más preferentemente al menos 0,005 o 0,01 % en peso. Típicamente, el producto contendrá menos del 1 % en peso de hidrofobina, más preferentemente menos del 0,5 % en peso, por ejemplo aproximadamente 0,1 % en peso. La hidrofobina puede ser de una única fuente o una pluralidad de fuentes, por ejemplo, una mezcla de dos o más hidrofobinas diferentes.

30 La hidrofobina se añade en una forma y en una cantidad tal que esté disponible para estabilizar la fase de gas, es decir la hidrofobina se introduce deliberadamente en el producto para el fin de aprovechar sus propiedades estabilizadoras de espuma. En consecuencia, cuando están presentes o se añaden ingredientes que contienen contaminantes fúngicos, que pueden contener polipéptidos de hidrofobina, esto no constituye añadir hidrofobina dentro del contexto de la presente invención.

35 Típicamente, la hidrofobina se añade al producto de la invención en una forma aislada, típicamente al menos parcialmente purificada, tal como al menos 10 % pura, basándose en el peso de los sólidos. Por "forma aislada", los inventores indican que la hidrofobina no se añade como parte de un organismo de origen natural, tal como un hongo, que expresa de forma natural hidrofobinas. En su lugar, la hidrofobina típicamente se habrá extraído de una fuente de origen natural o se habrá obtenido por expresión recombinante en un organismo huésped.

Productos a base de grasa de fase continua

40 Las grasas son generalmente triglicéridos, es decir triésteres de glicerol y ácidos grasos. El término "grasa" incluye aceites que son líquidos a temperatura ambiente, así como grasas que son sólidas.

45 El producto a base de grasa de fase continua es preferentemente un producto alimentario, tal como chocolate, análogos de chocolate, chocolate para untar, mantequilla, ghee, margarinas/pastas para untar, aceites de cocina/para freír, mantecas, mantequilla de cacahuete y similares. Las grasas típicamente usadas en productos alimentarios incluyen aceite de coco, aceite de palma, aceite de palmiste, manteca de cacao, grasa de leche, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de oliva, aceite de linaza, aceite de soja, aceite de colza, aceite de nuez, aceite de maíz, aceite de uva, aceite de sésamo, aceite de germen de trigo, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de pescado, aceite de almendra, aceite de perilla, aceite de semilla de sandía, aceite de arroz, aceite de cacahuete, aceite de pistacho, aceite de avellana, aceite de maíz y mezclas, fracciones o hidrogenados de los mismos.

55 El término "chocolate" como se usa en el presente documento incluye chocolate negro, chocolate blanco y chocolate con leche; la expresión "análogo de chocolate" significa composiciones de confitería basadas en grasa parecidas a chocolate realizadas con grasas distintas de manteca de cacao (por ejemplo equivalentes de manteca de cacao, aceite de coco u otros aceites vegetales). El chocolate y los análogos de chocolate pueden contener polvo de cacao, sólidos de leche, azúcar u otros edulcorantes y saporíferos.

5 Los términos “margarina” y “pasta para untar” se refieren a los numerosos tipos diferentes de sustitutos de mantequilla que consisten en emulsiones de agua en aceite compuestas de grasas vegetales y/o animales. Además de la emulsión, las margarinas/pastas para untar pueden contener proteínas de la leche, sal, emulsionantes, colorantes, saporíferos, etc. Estos términos también abarcan mezclas de margarina y mantequilla, y pastas para untar bajas en grasas a base de grasa de fase continua que típicamente contienen menos del 40 % en peso de grasa.

La manteca es un producto graso comestible que típicamente contiene aproximadamente 100 % de grasa y se prepara a partir de aceites animales y/o vegetales. La manteca se usa para freír, cocinar, hornear y como ingrediente de rellenos, glaseados y otros artículos de confitería.

10 Además de la hidrofobia y grasa, los productos alimentarios aireados de la invención pueden contener otros ingredientes habitualmente hallados en productos alimentarios, tales como azúcares, sal, proteínas, fruta y/o material vegetal, emulsionantes, estabilizadores, conservantes, colorantes, saporíferos y ácidos.

Aireación y esponjamiento

15 El término “aireado” significa que se ha incorporado intencionadamente gas en un producto, por ejemplo por medios mecánicos. El gas puede ser cualquier gas, pero es preferentemente, en el contexto de los productos alimentarios, un gas de calidad alimentaria tal como aire, nitrógeno, óxido nitroso o dióxido de carbono. El alcance de la aireación se mide con respecto a “esponjamiento”, que se define como:

$$\text{esponjamiento} = \frac{\text{peso de la mezcla no aireada} - \text{peso del producto aireado}}{\text{Peso del producto aireado}} \times 100$$

20 en la que los pesos se refieren a un volumen fijo de producto aireado y la mezcla no aireada (de la que está hecho el producto). El esponjamiento se mide a presión atmosférica.

25 Preferentemente, el producto alimentario tiene un esponjamiento de al menos el 5 %, más preferentemente al menos 10 %, más preferentemente al menos 20 %. Preferentemente el producto alimentario tiene un esponjamiento de cómo máximo 150 %, más preferentemente como máximo 120 %, más preferentemente como máximo 100 %. En una realización, el producto alimentario es una mantequilla aireada, margarina o pasta para untar, en cuyo caso el esponjamiento es preferentemente del 5 al 50 %, más preferentemente del 10 al 20 %, por ejemplo aproximadamente 15 %. En otra realización, el producto alimentario es un aceite para cocinar que se airea para reducir las salpicaduras, en cuyo caso el esponjamiento es preferentemente menor del 10 %, típicamente aproximadamente 5 %.

30 En una realización las burbujas de gas son suficientemente pequeñas para que no sean visibles al ojo desnudo. Esto tiene la ventaja de que el producto no está evidentemente aireado y tiene una apariencia similar a productos no aireados, lo que puede preferirse por los consumidores. (Los productos aireados pueden no obstante ser de color ligeramente más claro o más opacos debido a dispersión de la luz por las burbujas pequeñas). Por ejemplo, el chocolate puede estar aireado, y por lo tanto tener un contenido calórico significativamente reducido por volumen unitario, siendo aun así similar en apariencia al chocolate no aireado. Preferentemente, al menos el 50 % de las burbujas de gas tienen un diámetro de menos de 0,1 mm, más preferentemente menos de 0,05 mm (determinado a partir de la frecuencia acumulada normalizada como se describe en los ejemplos 1 y 2 posteriores).

La presente invención se describirá ahora adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos que son ilustrativos solamente y no limitantes, y las figuras en las que:

40 La Figura 1 muestra microfotografías de SEM de la microestructura de (a) chocolate aireado con una espuma de HFBII y (b) chocolate aireado con una espuma de hygel.

La Figura 2 muestra fotografías de la estructura del chocolate aireado con dióxido de carbono: (a) chocolate; (b) chocolate con agua; (c) chocolate con solución de hidrofobia

La Figura 3 muestra la frecuencia acumulada normalizada en función del diámetro de las burbujas para los chocolates aireados mostrados en las Figuras 2(b) y (c).

45 La Figura 4 muestra fotografías de (a) mantequilla no aireada y (b) mantequilla aireada que contiene hidrofobia.

Ejemplos

Ejemplo 1: Chocolate aireado mediante adición de espuma

El chocolate que tiene la formulación mostrada en la Tabla 1 se calentó a 45 °C.

Tabla 1

Ingrediente	Cantidad (% en peso)
Azúcar	39,5
Manteca de cacao	24,5
Masa de cacao	21,0
Leche entera en polvo	9,5
Aceite de mantequilla	5,0
Lecitina	0,4
Vainillina	0,05

Se obtuvo hidrofobina HFBII de VTT Biotechnology, Finlandia. Se había purificado a partir de *Trichoderma reesei* esencialmente como se describe en el documento WO00/58342 y Linder y col., 2001, Biomacromolecules 2: 511-517. Se aireó una solución acuosa de 20 ml de HFBII 0,05 % en peso hasta un volumen de 50 ml usando una batidora a pilas portátil Aerolatte (Aerolatte Ltd, Radlett Hertfordshire, Reino Unido). El rotor de la batidora es una bobina de alambre moldeada en un círculo horizontal con un diámetro externo de 22 mm rotado en torno a un eje vertical a través de su centro a una velocidad rotacional de aproximadamente 12.000 rpm. Se dejó secar la espuma y después de 10 minutos se retiró el agua libre por pipeta y se descartó, para minimizar la cantidad de agua añadida al chocolate (se sabe que la adición de cantidades incluso pequeñas de agua afecta a las cualidades de la textura del chocolate). Después la espuma se incorporó al chocolate fundido usando un cuchillo de paleta metálica para formar 100 ml de chocolate aireado.

Como comparación, se preparó un chocolate aireado usando una espuma estabilizada con un agente de aireado alimentario convencional, Hygel (Kerry Foods, Irlanda) en lugar de hidrofobina. La muestra de hygel se produjo por el mismo método, excepto que no se dejó secar la espuma sino que se usó inmediatamente. Se formó espuma con 12,4 ml de una solución de hygel 0,8 % en peso y se mezcló en 50 ml de chocolate fundido.

Los esponjamientos se determinaron pesando un volumen fijo de los chocolates no aireados y aireados. Los chocolates aireados se vertieron en moldes y se permitió que endurecieran a -10 °C durante dos horas. Se evaluaron las texturas y apariencias visuales de los chocolates. Ambos productos tuvieron texturas suaves sin la fragilidad normal asociada con el chocolate. La muestra de hygel tuvo una textura grumosa mientras que la muestra de hidrofobina tuvo una textura de tipo trufa, aún grumosa pero con una apariencia más suave. La muestra de hygel tuvo un esponjamiento relativamente bajo y algunas de las burbujas de aire eran visibles al ojo desnudo. La muestra de hidrofobina tuvo un esponjamiento mayor y las burbujas eran demasiado pequeñas para ser visibles. Los resultados se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2

Muestra	Esponjamiento	Textura	Apariencia
Ejemplo de HFBII	58,5 %	Tipo trufa	Sin burbujas de aire visibles
Control e hygel	15 %	Suave, grumosa	Algunas burbujas de aire visibles

La microestructura de cada producto se visualizó usando Microscopía Electrónica de Barrido a Baja Temperatura. Cada muestra se enfrió a -80 °C en hielo seco, y se cortó una sección de aproximadamente 5 mm x 5 mm x 10 mm de tamaño y se montó en un soporte de muestras usando un compuesto Tissue Tek: OCT™ (PVA 11 %, Carbowax 5 % y componentes no reactivos 85 %). La muestra que incluía el soporte se sumergió en pasta de nitrógeno líquido y se transfirió a una cámara de preparación de baja temperatura (Oxford Instruments CT1500HF). La cámara se mantuvo al vacío, aproximadamente 10^{-5} MPa. La muestra se calentó hasta -90 °C durante 60 a 90 segundos, después se enfrió a -110 °C y se revistió con oro usando plasma de argón con una presión aplicada de 10^{-2} kPa y corriente de 6 miliamperios durante 45 segundos. La muestra se transfirió finalmente a un microscopio electrónico de barrido (JSM 5600), equipado con una fase fría Oxford Instruments mantenida a una temperatura de -160 °C. La muestra se examinó y se capturaron áreas representativas mediante software de adquisición de imágenes digitales.

La Figura 1 muestra las imágenes de SEM. La muestra de hidrofobina contiene muchas burbujas de aire pequeñas (de menos de 50 µm de diámetro) mientras que en la muestra de hygel, hay menos burbujas de aire más grandes. El Ejemplo 1 muestra que el uso de hidrofobina da como resultado un esponjamiento mayor y burbujas más pequeñas

que un chocolate equivalente producido con un agente de aireación alimentario convencional. Esta estructura de aire proporcionó una textura blanda, de tipo trufa al chocolate.

Ejemplo 2: Chocolate aireado con dióxido de carbono

5 Se vertió chocolate (que tenía la formulación proporcionada en la Tabla 1 anterior) a 45 °C en latas de aerosol de 75 ml. Se añadió 1 g de solución de HFBII acuosa 100 mg/ml al chocolate y se agitó. Como comparación, también se prepararon latas de aerosol que contenían chocolate con 1 g de agua pura y chocolate solamente. Las latas se sellaron, agitaron, presurizaron hasta 0,4 MPa con dióxido de carbono y se volvieron a agitar. Se observó que los chocolates en las latas que contenían la solución de HFB y agua eran más espesos al agitar que el chocolate puro, como se esperaba puesto que se sabe que la adición de agua tiene el efecto de aumentar la viscosidad en el chocolate. Las latas se almacenaron durante una noche a 45 °C y se volvieron a presurizar a 0,4 MPa con dióxido de carbono. Sus contenidos se dispersaron después a través de una válvula (Válvula de Precisión, Peterborough, Reino Unido; vástago de 4,8 mm I.D. que tenía 2 orificios de 3,2 x 4,6 mm, localizados en una copa de 2,54 cm convencional y que tenía una caja con 4 ranuras y un orificio posterior) en recipientes de plástico. La liberación de la presión abriendo la válvula hace que las burbujas de gas se expandan, formando un chocolate aireado. Los recipientes llenos se colocaron inmediatamente en un congelador rápido y se almacenaron durante una noche a -25 °C. Después del almacenamiento las muestras de chocolate se fracturaron y se observó y se fotografió la estructura de burbujas de gas.

La densidad del chocolate se midió de la siguiente manera. Se colocaron 2 litros de agua (4 °C) en un vaso de precipitados en una balanza. Después se taró la balanza. Se colocó un trozo de chocolate (aproximadamente 30 g) en la balanza junto al vaso de precipitados y se pesó (m₁). El trozo se mantuvo después bajo la superficie del agua usando tenazas, teniendo cuidado de no tocar los lados o el fondo. Se registró lectura de la balanza (m₂). Por el principio de Arquímedes, la diferencia entre las lecturas antes y después de la inmersión (m₁ - m₂) es igual a la densidad del agua multiplicado por el volumen del agua desplazada. El volumen del agua desplazada es el volumen del trozo de chocolate. La densidad del chocolate es su masa (m₁) dividida por su volumen. El esponjamiento se calcula como antes (usar la densidad en la ecuación anterior para calcular el esponjamiento es equivalente a usar un volumen fijo). Se midieron dos repeticiones y se tomó la media. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3

Muestra	Esponjamiento (%)
Chocolate	57,2
Chocolate + agua	62,0
Chocolate + HFBII	62,7

30 Como se esperaba, el gas aireó exitosamente el chocolate hasta un alto esponjamiento (aproximadamente 60 %) en cada caso. Sin embargo, aunque los esponjamientos fueron similares, HFBII tuvo un efecto sustancial en el tamaño y distribución de las burbujas, como se muestra en la Figura 2. En el chocolate convencional hubo una amplia distribución de los tamaños de burbujas y las burbujas habían formado nata hacia la superficie. En el chocolate con agua las burbujas eran algo más pequeñas y no hubo nata, probablemente debido a la mayor viscosidad del chocolate. En el chocolate que contenía HFBII, hubo una distribución de tamaño de burbujas mucho más uniforme y se observaron algunas burbujas muy pequeñas (aunque estas eran mayores que en la muestra de hidrofobina del ejemplo 1).

Las distribuciones de tamaño de las burbujas de gas de las muestras de chocolate aireado que contenían agua y solución de HFBII se determinaron a partir de las Figuras 2B y 2C, respectivamente usando el siguiente procedimiento. En primer lugar un operario entrenado (es decir uno familiarizado con las microestructuras de los sistemas aireados) identificó las burbujas y trazó sus perfiles en las imágenes digitales (es decir la representación bidimensional de la microestructura tridimensional) usando una interfaz de usuario gráfica. El tamaño de las burbujas se calculó a partir de cada perfil definido por el operario, como sigue. Se determinó el área máxima (A) de la burbuja y se multiplicó por un factor de cambio de escala definido por el aumento de la imagen. El diámetro de las burbujas se definió como el diámetro circular equivalente d:

$$45 \quad d = 2\sqrt{A/\pi}$$

Esta es la definición exacta del diámetro de la sección transversal bidimensional a través de una esfera perfecta. Puesto que la mayoría de las burbujas de gas son aproximadamente esféricas, es una buena medida del tamaño. La distribución de tamaño se obtuvo construyendo un histograma que consistía en grupos de anchura W μm. B(j) es el número de burbujas por área unitaria en el grupo j^o (es decir en el intervalo de diámetro j x W a (j+1) x W). B(j) se

obtiene sumando todas las contribuciones individuales de las burbujas de gas con un diámetro en el intervalo $j \times W$ a $(j+1) \times W$. Las distribuciones de tamaños de burbujas se describen convenientemente con respecto a frecuencia acumulada normalizada, es decir el número total de burbujas con diámetro de hasta un tamaño dado, expresado como una fracción del número total de burbujas medidas. La determinación del tamaño y construcción de la distribución puede realizarse convenientemente de forma automática en un ordenador, por ejemplo usando software tal como software MATLAB R2006a (MathWorks, Inc).

La Figura 3 muestra las frecuencias acumuladas normalizadas resultantes. Estas demuestran que las burbujas producidas cuando se airea chocolate con hidrofobina son menores que cuando no se usa hidrofobina.

Ejemplo 3: mantequilla aireada

Se produjo mantequilla a partir de nata doble (40 % de grasa, Dairy Crest Ingredients, Reino Unido) cortando a 15-20 °C. Esto provocó que los glóbulos de grasas en la nata se pegaran entre sí y coalescieran, dando como resultado con el tiempo una inversión de fase a mantequilla a base de grasa. La mezcla se pasó después a través de muselina y se retiró el suero de mantequilla. Se obtuvo una mantequilla blanda, flexible que era suficientemente plástica para permitir que se incorporara una espuma en ella para crear el producto aireado.

Se produjo una espuma aireando 12 ml de solución de HFBII 9.76 mg/ml hasta un volumen de 80 ml usando el dispositivo Aerolatte. La mitad de esta espuma (40 ml) se mezcló con 72 g de mantequilla. Se produjo una espuma de hygel acuosa aireando 12,4 ml de una solución de hygel 8 mg/ml hasta 60 ml con el dispositivo Aerolatte. Esta espuma se combinó con 76 g de mantequilla. Las muestras resultantes se pusieron en recipientes y se endurecieron durante 1 semana a 5 °C y sus esponjamientos se midieron como en el Ejemplo 1. La dureza de las mantequillas aireadas también se midió usando un Analizador de Texturas LFRA Brookfield con un cono de 30 mm de diámetro de base, de 45°. El cono se introdujo en el producto a 2 mm/s hasta una profundidad de 10 mm y se registró la carga máxima. También se midió una muestra de mantequilla no aireada para comparación. Los resultados se proporcionan en la Tabla 4.

Tabla 4

Muestra	% de esponjamiento	Dureza Máxima a 5 °C (g)
Mantequilla no aireada	0	>1000*
Mantequilla + espuma Hygel	0	>1000*
Mantequilla + espuma HFBII	30	531
* es decir demasiado duro para medirse en este equipamiento		

La mantequilla preparada usando la espuma de hygel tuvo un esponjamiento de cero (es decir se perdió completamente el aire) y una dureza similar a la mantequilla no aireada. La espuma de HFBII fue suficientemente estable para mezclarse en la mantequilla, aunque se perdió algo del esponjamiento. El producto resultante fue sustancialmente más blando que la mantequilla no aireada. La incorporación de aire significa que el contenido calorífico de la mantequilla (por unidad de volumen) se redujo en aproximadamente un tercio. Las burbujas de aire eran demasiado pequeñas para ser visibles al ojo desnudo, sin embargo, la mantequilla aireada era más blanca que la mantequilla no aireada, lo que indica la presencia de muchas burbujas de aire pequeñas. Las fotografías de la mantequilla no aireada y la mantequilla aireada que contenía hidrofobina se muestran en la Figura 4.

Ejemplo 4: pastas para untar aireadas

Se prepararon pastas para untar basadas en grasa de fase continua (margarinas) usando la formulación proporcionada en la Tabla 5.

Tabla 5

Ingrediente	Cantidad (% en peso)
Aceite de girasol	58,50
Mezcla de grasas duras	11,14
Lecitina	0,35
Monoglicérido saturado	0,03

Agua	28,80
------	-------

(continuación)

Ingrediente	Cantidad (% en peso)
Polvo de suero	0,80
Sal	0,31
Sorbato Potásico	0,05

5 Se prepararon emulsiones de la siguiente manera. La mezcla de grasa dura (40 % de aceite de palma endurecido, 60 % de aceite de palmiste endurecido), lecitina y monoglicérido saturado se disolvieron en el aceite de girasol. El polvo de suero, sal y sorbato potásico se dispersaron en agua caliente y el pH se ajustó a 4,7 usando ácido cítrico. Esta fase acuosa se añadió después a la fase grasa y se mezcló a alta velocidad en un mezclador Silverson durante 10 minutos para asegurar una buena emulsificación. La emulsión se transfirió a un tanque premezcla con camisa y se agitó. Se prepararon pastas para untar a partir de esta emulsión usando dos procedimientos diferentes.

10 Una parte de la emulsión se procesó a través de una línea de votator a pequeña escala consistente en las siguientes unidades: HSC (mezclador de varilla de alta velocidad), A (intercambiador de calor de superficie raspada - SSHE), C (mezclador de varilla), A (SSHE). La unidad C inicial no se enfrió, pero todas las unidades posteriores se enfriaron a 5 °C. Todas las unidades se procesaron a 1000 rpm con un rendimiento de producto de 50 g/min. La temperatura de salida del producto fue de 15,7 °C. Se recogieron muestras de pasta para untar no aireada. Se obtuvo un conjunto adicional de muestras mezclando manualmente una solución con espuma de HFBII en agua en la pasta para untar hasta esponjamientos de 15, 25 y 50 %, con una concentración de HFB II final de 0,05 %. Todas las muestras se almacenaron en frío.

20 Se procesó una segunda parte de la emulsión a través de un mini intercambiador de calor de superficie raspada (SSHE), que permite que se incorpore aire durante el procedimiento de mezcla y enfriado. El mini SSHE consistió en un barril cilíndrico con camisa, horizontal (volumen de trabajo de 145 ml) que se enfrió con un refrigerante de aceite de silicio. El barril contenía un aspa consistente en dos hojas de raspado de acero inoxidable montadas en un astil que rotaba en torno al eje del barril, de modo que las hojas rasparan la superficie interna fría del barril. Las hojas se espaciaron uniformemente en torno a la circunferencia del astil y se articularon libremente. El congelador alojaba una válvula de entrada/salida, una válvula de ventilación y una sonda de temperatura. Las condiciones de procedimiento fueron las siguientes: caudal de emulsión 30 ml/min, velocidad del aspa 910 rpm, temperatura de la camisa 0 °C y temperatura de salida 6,2 °C. Se recogió una muestra que no contenía aire; después se introdujo aire a un caudal de 20 ml/min y se recogieron muestras aireadas (esponjamiento del 30 %). Finalmente se añadió una solución acuosa de HFBII a la emulsión para proporcionar una concentración final de 0,05 % en el producto, y se recogieron muestras aireadas adicionales (esponjamiento del 33 %). La dureza de las pastas para untar se midió como se ha descrito en el ejemplo 3, pero usando un cilindro de 6 mm como la sonda en lugar del cono. Los resultados se proporcionan en la Tabla 6.

Tabla 6

Muestra	% de Esponjamiento	Carga Máxima (g)
Votator	0	145
Votator + HFB II	25	74
Mini SSHE	0	177
Mini SSHE	30	108
Mini SSHE + HFB II	33	91

35 La Tabla 6 muestra que, como se esperaba, la inclusión de aire ablanda la pasta para untar. Las pastas para untar producidas en el mini SSHE fueron más duras que las muestras de votator debido a que las primeras tenían una distribución de gotas de agua más finas. La comparación de las muestras de mini SSHE aireadas muestra que la muestra que contenía HFB II era más blanda que la que no tenía HFB II. Esto se debe en parte al esponjamiento ligeramente más alto de la muestra de HFB II, pero también se debe en parte a una diferencia de la estructura aérea. El microscopio confocal indicó que las burbujas de aire en la muestra que contenía HFB II eran más homogéneas. Las muestras de mini SSHE se untaron en papel impermeable a la grasa y después se evaluaron

visualmente. La muestra que contenía HFB II proporcionó una superficie más suave después de untarla que la muestra aireada sin HFB II.

Ejemplo 5: margarina líquida aireada

5 Se prepararon dos soluciones acuosas: la primera contenía 0,25 % en peso de HFB II y la segunda contenía 0,25 % en peso de Hygel. Se produjeron espumas aireando 100 ml de cada solución hasta su volumen de fase aérea máxima. Esto se realizó usando en primer lugar un mezclador Bamix portátil, refinando después la distribución de burbujas usando un dispositivo Aerolatte portátil. Después se dejó secar las espumas de modo que se transfiriera tan poca agua como fuera posible al producto final. Se permitió que la espuma de HFB II se secase durante 30 minutos, pero solamente se requirieron unos pocos minutos para la solución de Hygel.

10 Se prepararon después margarinas líquidas aireadas mezclando suavemente 34 ml de cada espuma en 66 ml de margarina líquida Blue Band (Unilever, Reino Unido) para crear un producto que tuviera un esponjamiento diana del 50 %.

15 Tras su incorporación en la margarina líquida la espuma de Hygel perdió algo del volumen de fase aérea dando como resultado un volumen final reducido (~90 ml), y eran visibles burbujas de aire pequeñas. Por el contrario, la espuma de HFB II se incorporó bien en la margarina líquida y no perdió nada de aire. Después de almacenamiento durante cinco días, la muestra de HFBII aún no había perdido nada de volumen.

Ejemplo 6: chocolate atemperado aireado

20 Se prepararon dos espumas acuosas usando HFB II e Hygel como se ha descrito en el ejemplo 5. Se colocó chocolate con leche (Cadbury's Dairy milk) en un vaso de precipitados y se calentó suavemente sobre un recipiente mayor de agua templada (55 °C). El chocolate se agitó suavemente para asegurar una fusión homogénea. La temperatura final fue de aproximadamente 30 °C (es decir suficientemente caliente para fluidificar el chocolate sin fundir toda la grasa). Se incorporaron 75 ml de espuma seca en partes de 100 g del chocolate fundido hasta que la mezcla fue homogénea. Las muestras se cargaron en recipientes de plástico de 30 ml y se permitió que se enfriaran a temperatura ambiente, para mantener el estado atemperado.

25 Tras la incorporación en el chocolate, la espuma de Hygel se colapsó y perdió mucho de su volumen de fase aérea, dando como resultado un esponjamiento final reducido de solamente el 3,6 %. Por el contrario, la espuma de HFB II se mezcló uniformemente en el chocolate, y tuvo un esponjamiento final del 16 %.

30 En resumen, los ejemplos 1 a 6 demuestran que pueden producirse exitosamente productos basados en grasa aireados, tales como el chocolate, mantequilla y pastas para untar usando hidrofobina. Los productos resultantes tienen propiedades mejoradas (tales como burbujas de gas más pequeñas y/o más uniformes, y/o mayor esponjamiento) en comparación con productos aireados en los no se usa hidrofobina.

35 Los diversos elementos y realizaciones de la presente invención, a los que se ha hecho referencia en secciones individuales anteriormente se aplican, según sea apropiado, a otras secciones, cambiando lo que deba cambiarse. En consecuencia los elementos especificados en una sección pueden combinarse con elementos especificados en otras secciones, según sea apropiado.

REIVINDICACIONES

1. Un producto aireado a base de grasa de fase continua que comprende hidrofobina.
2. Un producto de acuerdo con la reivindicación 1, que es un producto alimentario.
- 5 3. Un producto de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el producto alimentario se selecciona de chocolate, mantequilla, ghee, margarina, pastas para untar bajas en grasas, grasas y aceites para cocinar, manteca, mantequilla de cacahuate y chocolate para untar.
4. Un producto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende al menos 0,001 % en peso de hidrofobina.
- 10 5. Un producto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende como máximo 1 % en peso de hidrofobina.
6. Un producto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la hidrofobina está en forma aislada.
7. Un producto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la hidrofobina es soluble en agua.
- 15 8. Un producto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la hidrofobina es una hidrofobina de clase II.
9. Un producto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que tiene un esponjamiento del 5 al 150 %.
10. Un producto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que al menos el 50 % de las burbujas de gas tienen un diámetro de menos de 0,1 mm.
- 20 11. Un procedimiento de producción de un producto aireado a base de grasa de fase continua que comprende hidrofobina, comprendiendo el procedimiento:
 - a) airear una composición acuosa que comprende hidrofobina para formar una espuma;
 - b) mezclar la espuma en una composición basada en grasa de fase continua;
 - c) opcionalmente enfriar la composición mezclada.
- 25 12. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que la espuma se seca antes de mezclarse en la composición a base de grasa de fase continua.
13. Un procedimiento de producción de un producto aireado a base de grasa de fase continua que comprende hidrofobina, comprendiendo el procedimiento:
 - a) dispersar un gas en una composición a base de grasa de fase continua que contiene hidrofobina;
 - b) opcionalmente enfriar la composición resultante.
- 30 14. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, en el que las etapas a) y b) tienen lugar simultáneamente mientras la composición se somete a cizallamiento.
15. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 14, en el que en la etapa a) el gas se dispersa en la composición a base de grasa de fase continua bajo presión y después se libera la presión.

Fig.1(a)

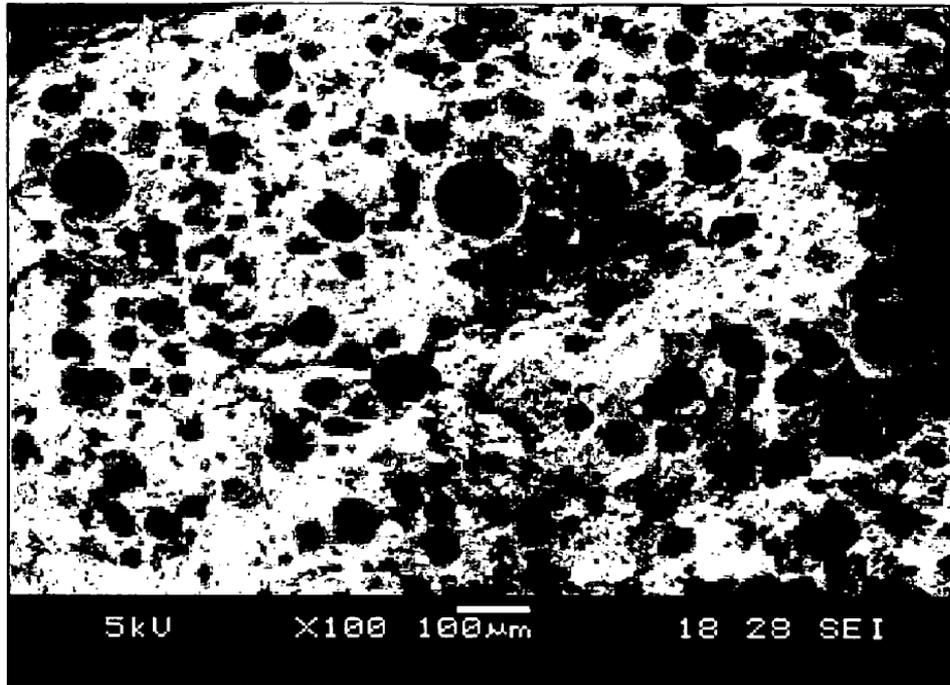


Fig.1(b)

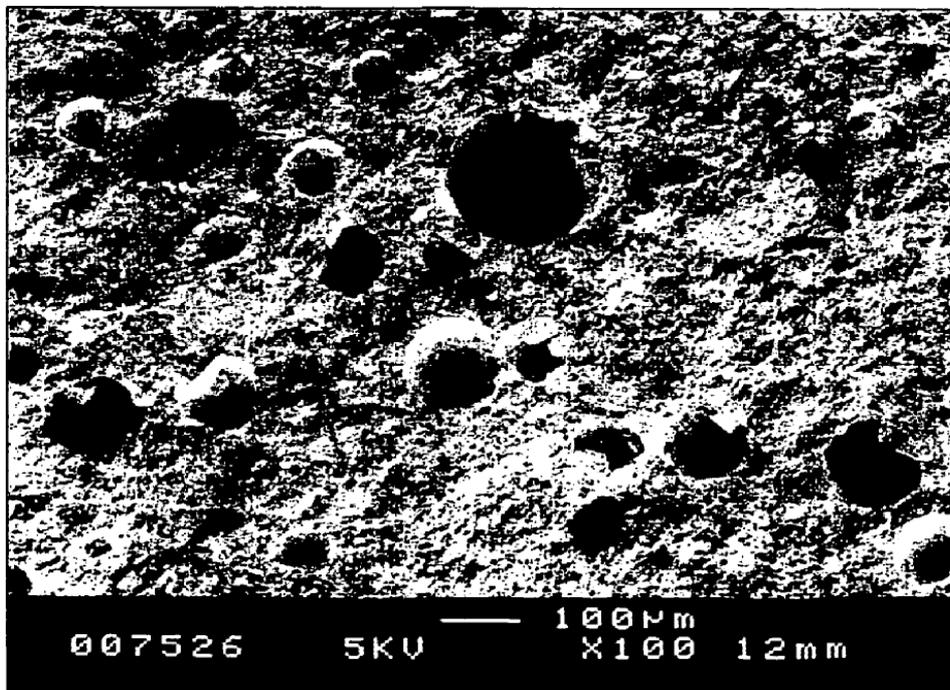


Fig.2(a)
Chocolate Convencional



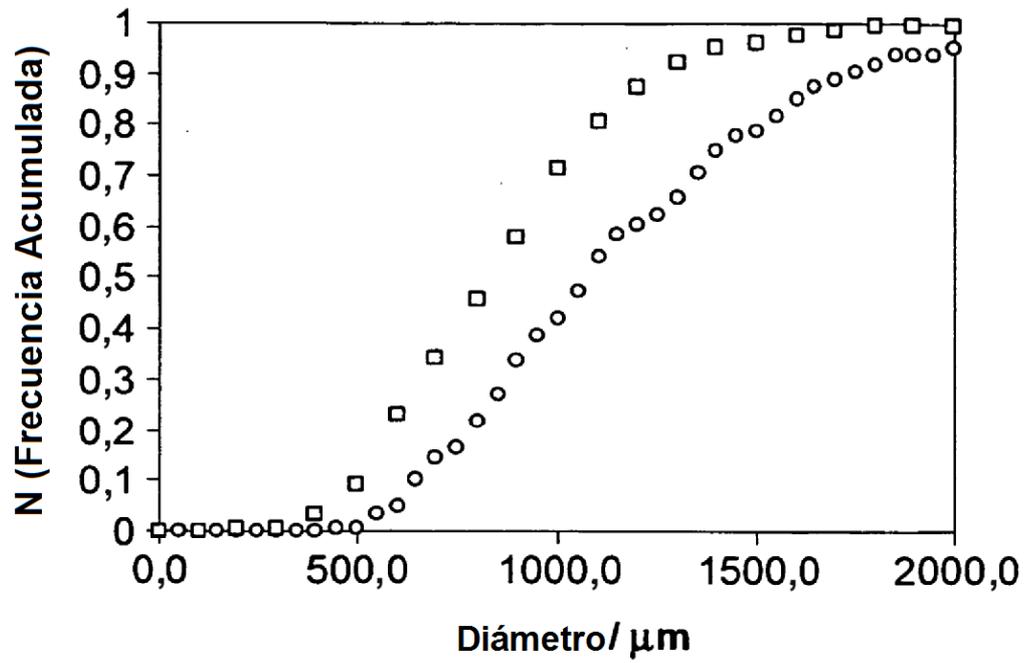
Fig.2(b)
Chocolate Convencional Más Agua



Fig.2(c)
Chocolate Convencional Más HFBI



Fig.3.



◦ *Chocolate Aireado + Agua*
 ◻ *Chocolate Aireado + Agua + HFBII*

Fig.4(a)

Mantequilla no aireada

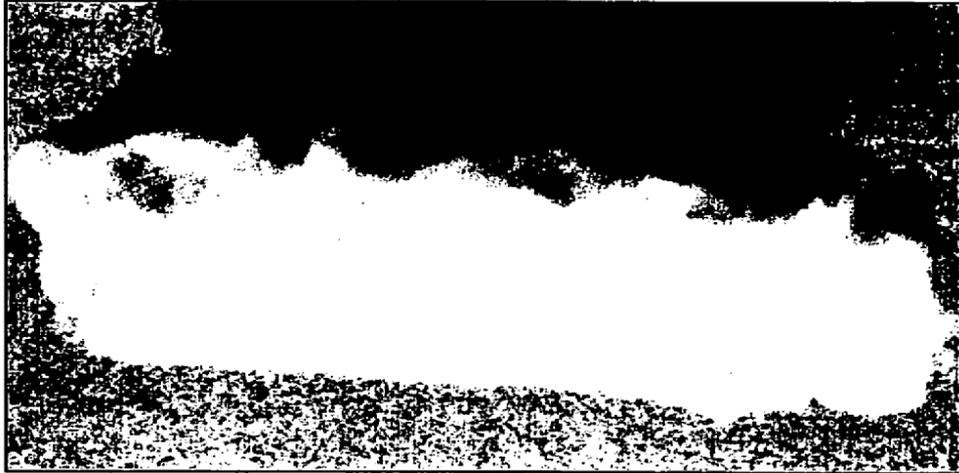


Fig.4(b)

Mantequilla aireada con HFBII

