

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 403 174**

51 Int. Cl.:

**A23C 9/12** (2006.01)

**A23C 19/05** (2006.01)

**A23C 9/142** (2006.01)

**A23J 1/20** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2000 E 00984168 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.02.2013 EP 1241947**

54 Título: **Productos y procesos de proteína láctea**

30 Prioridad:

**09.12.1999 NZ 50167699**

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

**16.05.2013**

73 Titular/es:

**NEW ZEALAND DAIRY BOARD (100.0%)  
9 Princes Street  
Auckland, NZ**

72 Inventor/es:

**BHASKAR, GANUGAPATI, VIJAYA;  
SINGH, HARJINDER y  
BLAZEY, NEIL, D.**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 403 174 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 y procesos de proteína láctea.

**Campo técnico.**

5 Esta invención se refiere a productos lácteos, procesos para su preparación y uso, particularmente en fabricación de queso.

**Antecedentes de la técnica.**

Un "concentrado de proteína láctea" (CPL) es un producto de proteína láctea en el que más de 55%, preferentemente más de 75% de la materia seca es proteína láctea y la proporción entre caseína y proteína del suero es aproximadamente la de la leche. Tales concentrados son conocidos en la técnica.

10 El término "aislado de proteína láctea" (APL) se refiere a una composición de proteína láctea que comprende una proporción sustancialmente inalterada entre caseína y proteínas del suero donde la materia seca contiene más de 85% de proteína láctea. Tales aislados son conocidos en la técnica.

Estos productos difieren de los concentrados lácteos en que son ricos en proteína y pobres en grasa y lactosa. Difieren de concentrados de leche desnatada en que son ricos en proteína y pobres en lactosa.

15 Un uso de CPL y APL es la fabricación de queso. Mediante su adición para incrementar la concentración de proteína en la leche usada en la fabricación de queso, fabricar queso se puede hacer más consistente y más eficaz.

20 Usando evaporación y secado, es posible obtener CPL y APL seco. Sin embargo, estos productos secos sufren desventajas que se asocian a la formación de "pepitas" en el queso. Las pepitas son geles pobres en proteína de un color diferente en el queso. La formación de pepitas es un problema consistente cuando se usa como proteína láctea CPL seco con 85% de materia seca. La formación de pepitas se da algunas ocasiones pero no en todas ocasiones cuando se usa como proteína láctea un CPL seco con 70% de materia seca. Estos problemas se pueden solucionar mediante el uso de temperaturas elevadas después de mezclar el CPL o APL seco con la leche. Sin embargo, esto añade una etapa extra al proceso de fabricación de queso.

25 St. Gelais et al (J. Dairy Sci. 75, 2344-52 (1992), Milchwissenschaft 48, 603-606 (1993) y Milchwissenschaft 50, 71-75 (1995)) han descrito ultrafiltración de leche desnatada acidificada a pH 5,6 con posterior secado para producir polvo de retenido diafiltrado acidificado. Este polvo tiene calcio reducido en relación con polvos de retenido no acidificado. La patente WO 9918807 describe un queso untable que tiene granulosis reducida.

30 Un objeto de la presente invención es preparar un producto de proteína láctea seco con una tendencia reducida a formar pepitas en fabricación de queso en relación con los correspondientes productos secos de proteína láctea de la técnica anterior o al menos proporcionar una elección al público.

**Descripción de la invención.**

En un aspecto, la invención proporciona un método para fabricar queso que comprende:

- (a) dispersar en leche un CPL o APL seco que tiene al menos 70% de materia seca como proteína láctea y reducción de calcio de 30-100%;
- 35 (b) tratar la mezcla resultante con una o más enzimas coagulantes para producir una cuajada, y
- (c) procesar la cuajada para fabricar queso sustancialmente libre de pepitas, en el que el CPL o APL seco es un MPC o APL con disminución de calcio y la cantidad de la reducción de calcio es suficiente para permitir la fabricación de queso sustancialmente libre de pepitas.

40 La cantidad de la reducción de calcio requerida varía según el contenido de proteína del CPL o APL. Se requiere el grado más alto de reducción de calcio. Para CPL que tiene 85% de materia seca como proteína láctea se requiere reducción de calcio de 30-100%. Cuando la reducción de calcio es solo 25%, aparecen problemas con la formación de pepitas. Por contra, si el contenido de proteína es 70%-80% de materia seca, es suficiente una cantidad de reducción de calcio más baja, por ejemplo 20% de reducción.

45 En otro aspecto, la invención proporciona un método para fabricar queso que incluye la etapa de añadir un 30-100%, preferentemente 40-100%, más preferentemente 50-100% de polvo de CPL o APL con reducción de calcio a la leche usada como material de inicio. En particular la invención proporciona un método para fabricar queso que comprende:

- (a) dispersar en leche un CPL o APL seco que tiene al menos 70% de materia seca como proteína láctea;
- (b) tratar la mezcla resultante con una o más enzimas coagulantes para producir una cuajada, y
- (c) procesar la cuajada para fabricar queso;

donde el CPL o APL seco tiene reducción de calcio de 30-100%.

En un aspecto más la invención proporciona un método para preparar un producto de CPL o APL seco, que comprende:

- 5 (a) proporcionar un CPL o APL que tiene al menos 70% de materia seca como proteína láctea en disolución/suspensión acuosa;
- (b) eliminar 30-100% de los iones de calcio mediante un método escogido a partir de al menos uno de (1) intercambio de cationes sobre un intercambiador de iones en la forma de sodio y/o potasio (2) acidificación a pH 4,6-6 con uno o más tratamientos posteriores seleccionados a partir de diálisis, ultrafiltración y diafiltración, con posterior neutralización después de la eliminación del calcio o (3) mediante adición de un agente quelante; y/o ligando una proporción de iones de calcio con un agente quelante;
- 10 (c) opcionalmente mezclar el producto de la etapa (b) con otra disolución láctea mientras se mantiene al menos 30% de la reducción de calcio; y
- (d) secado para preparar un producto seco.

15 El término "solubilidad en frío" o "soluble en frío" se refiere a la propiedad de un producto que tras reconstitución con disolución al 5% p/v a 20°C proporciona menos de 5% de sedimento al centrifugar durante 10 minutos a 700 g.

El término iones de calcio se usa ampliamente según el aspecto anterior, para preparar un producto de CPL o APL, que comprende:

- (a) proporcionar un CPL o APL que tiene al menos 70% de materia seca como proteína láctea en disolución/suspensión acuosa;
- 20 (b) eliminar 40-100% de los iones de calcio mediante un método escogido a partir de al menos uno de (1) intercambio de cationes sobre un intercambiador de iones en la forma de sodio y/o potasio (2) acidificación a pH 4,6-6 con uno o más tratamientos posteriores seleccionados a partir de diálisis, ultrafiltración y diafiltración, con posterior neutralización después de la eliminación del calcio o (3) mediante adición de un agente quelante; y/o ligando una proporción de iones de calcio con un agente quelante;
- 25 (c) opcionalmente mezclar el producto de la etapa (b) con otra disolución láctea mientras se mantiene el porcentaje de reducción de calcio en el intervalo de 40-100%; y
- (d) secado para preparar un producto seco.

En otro aspecto se usan procesos análogos a los de los primeros dos aspectos pero el material de inicio es una disolución que deriva de leche que contiene caseína y proteínas del suero que comprende 5-60% de la proteína.

30 En esas realizaciones en las que la eliminación de calcio se hace mediante acidificación y posterior diálisis y/o ultrafiltración y/o diafiltración, se ajusta el pH para estar en el intervalo 4,6-6, preferentemente 4,8-5,5. La membrana elegida normalmente tiene un límite de peso molecular nominal de 10.000 Daltons o menos. Una membrana de ultrafiltración preferente es una membrana tipo Koch S4 HFK 131 con un límite de peso molecular nominal a 10.000 Daltons. El ajuste de pH se puede hacer con cualquier ácido adecuado para ajustar el pH de un alimento o bebida, por ejemplo, HCl diluido, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluido, ácido acético diluido, ácido cítrico diluido, preferentemente ácido cítrico diluido.

40 Cuando la eliminación de calcio se hace por medio de adición de un agente quelante, agentes quelantes preferentes para usar incluyen ácido cítrico, EDTA, fosfatos/polifosfatos alimentarios, acidulantes alimentarios, ácido tartárico, citratos y tartratos. Los agentes quelantes preferentes son agentes acidulantes alimentarios. Preferentemente, los agentes quelantes se usan en conjunción con diálisis y/o ultrafiltración y diafiltración.

Los intercambiadores de cationes preferentes están basados en resinas que aguantan grupos fuertemente ácidos, preferentemente grupos sulfonato.

45 Una resina de intercambio de cationes con ácido fuerte para usar en esta y otras realizaciones de la invención es IMAC HP 111E fabricada por Rohm & Haas. Esta resina tiene una matriz de copolímero estireno divinilbenceno. Los grupos funcionales son grupos de ácido sulfónico que se pueden obtener en la forma de Na<sup>+</sup> o alternativamente convertir a la forma K<sup>+</sup>. Es preferente el uso de la forma Na<sup>+</sup> o K<sup>+</sup>.

Mediante la manipulación del pH y la elección de sodio o potasio o una mezcla de ambos, es posible variar el sabor del producto. En algunas circunstancias también será útil proporcionar cationes de micronutrientes además del sodio o potasio.

50 Un catión preferente para usar con sodio y/o potasio es magnesio.

El producto líquido obtenido al final de la etapa (d) o (c) se puede secar mediante técnicas estándar que incluyen evaporación de película descendiente termal y secado por pulverizado. El secado puede ser precedido por desaguado.

5 Es preferente el uso de intercambiadores de cationes de ácido fuerte porque con intercambiadores de cationes de ácido débil también se elimina el fosfato lo cual baja el valor nutricional del producto.

10 El producto tiene ventajas particulares a porcentaje de proteína alto (por ejemplo 85%) en su relativamente alta solubilidad en agua fría, leche y otras disoluciones acuosas. Esto permite almacenarlo en forma seca y después reconstituirlo mediante adición de agua cuando se requiera usar en estado líquido. En material reconstituido no sedimenta de la misma manera que se da con CPL y APL sin reducción de calcio con porcentaje de proteína más alto después de almacenamiento. Esto proporciona ventajas no sólo en fabricación de queso si no también en otras aplicaciones.

En otro aspecto la invención proporciona un método para la fabricación de queso usando CPL o APL con reducción de calcio preparado mediante el método de estos aspectos de la invención. Se obtienen las ventajas de concentración más alta de proteína en fabricación de queso pero se evita el problema de formación de "pepitas".

15 El CPL o APL aplicado al intercambiador de cationes preferentemente tiene el pH en el intervalo 5,6-7,0, más preferentemente 5,6-6,2. Una vez que el CPL o APL ha pasado a través de la columna, su pH incrementa. Si incrementa por encima de 7,0, generalmente se ajustará a aproximadamente 6,5-7,0 para hacerlo más palatable.

El intercambio de cationes es el método preferente para eliminar calcio.

20 En otra realización la invención proporciona un polvo de CPL o APL con 30-100% de reducción de calcio que tiene al menos 70% en peso de proteína. A lo largo del intervalo de reducción de calcio los polvos se usan para preparar bebidas nutricionales y tienen la ventaja de solubilidad superior después de almacenamiento en relación con polvos de CPL o APL que no tienen tal reducción de calcio particularmente después de almacenamiento.

25 En una forma preferente de esta realización de la invención, el polvo de CPL o APL tiene 40-100%, preferentemente 50-100% de reducción de calcio donde el calcio es sustituido por sodio y/o potasio. Estos CPL y APL tienen ventajas en evitar la formación de "pepitas" cuando se añaden a la leche que se usa para preparar el queso en contraste con la formación de pepitas que se observa cuando se usa CPL y APL de técnicas anteriores. Una combinación de CPL o APL seco con 30-100% de reducción de calcio y leche entera en polvo puede ser útil para usar en fabricación de queso.

30 En una realización preferente más la invención proporciona un método para preparar un CPL o APL seco que comprende:

- (a) proporcionar una disolución de leche baja en grasa, por ejemplo leche desnatada, en forma líquida;
- (b) eliminar 30-100% de los iones de calcio mediante un método escogido a partir de al menos uno de (1) intercambio de cationes sobre un intercambiador de iones en la forma de sodio y/o potasio (2) acidificación a pH 4,6-6 opcionalmente con posterior diálisis con posterior neutralización después de la eliminación del calcio;
- (c) opcionalmente mezclar la leche con reducción de calcio con otra disolución láctea mientras se mantiene el porcentaje de reducción de calcio en el intervalo de 30-100%;
- (d) concentrar la disolución obtenida por ultrafiltración, opcionalmente con diafiltración, para formar un CPL o APL que tiene al menos 70% de peso seco como proteína; y
- (e) secado para preparar un producto seco.

En una variación el CPL o APL formado en la etapa (d) se mezcla con un CPL o APL de porcentaje diferente de reducción de calcio mientras que se mantiene el porcentaje de reducción de calcio en el intervalo 30-100% antes del secado.

45 Este método difiere del método descrito previamente en que el material que se somete a intercambio de cationes no es un CPL o APL, pero posteriormente se convierte en uno en una etapa que sigue al intercambio de iones.

Es preferente el uso del método de intercambio de cationes.

De nuevo es preferente el uso de un intercambiador de cationes de ácido fuerte. El producto es útil en las mismas aplicaciones que las descritas anteriormente, incluyendo provisión de una bebida nutritiva y su uso además de leche antes de la fabricación de queso.

50 Por lo tanto son igualmente aplicables variaciones tales como la sustitución preferente de calcio por sodio o potasio o una mezcla de ellos en este aspecto.

Las etapas de intercambio de iones preferentemente se llevan a cabo a 4-12°C, pero se pueden llevar a cabo a temperaturas tan altas como 50°C.

Los productos CPL y APL tienen la propiedad de buena estabilidad durante almacenamiento. Esto se puede demostrar mediante la observación del retenido de buena solubilidad en frío durante almacenamiento.

5 **Breve descripción de los dibujos.**

La figura 1 es un dibujo esquemático de un proceso para preparar CPL seco con reducción de calcio.

La figura 2 muestra el porcentaje de solubilidad a 20°C y 5% (p/v) en agua de cuatro muestras de CPL seco almacenado a (A) 20°C y (B) 40°C.

10 La figura 3 muestra el porcentaje de solubilidad a 20°C y 5% (p/v) en agua de dos muestras de CPL con reducción de calcio y control donde la reducción de calcio se hizo mediante diafiltración a pH bajo.

**Ejemplos.**

Los siguientes ejemplos ilustran más la práctica de la invención.

Ejemplo 1. Preparación de CPL seco con reducción de calcio mediante intercambio de iones.

15 Como se ilustra en la figura 1, se somete leche desnatada a concentración sobre una membrana de ultrafiltración (o una microfiltración) (membranas del tipo Koch S4 HFK 131 que tienen un límite de peso molecular nominal de 10.000 Daltons) para producir un retenido de CPL. Dependiendo del factor de concentración usado, el retenido de CPL tendrá un contenido de proteína en el intervalo de 42-85% de la materia seca que es proteína láctea.

Por ejemplo cuando una leche desnatada de 1.000 kg de concentración que se da en la tabla 1, se concentra 2,5 veces, se obtendrán 400 kg de retenido de CPL56 y 600 kg de permeado.

20 Una parte de los 400 kg del retenido de CPL56, que tenía un pH de 6,8 se redujo a 5,9, usando 3,3% de ácido cítrico. El ácido se añadió al retenido a 10°C, mientras que se agitaba continuamente el retenido. Por ejemplo, para producir CPL56 con 50% de reducción de calcio, se ajustó el pH de 200 kg del retenido a 5,9. Después de 15 minutos, se midió otra vez el pH del retenido. Dependiendo de la capacidad tampón del retenido, el pH del retenido con pH ajustado incrementó de 0,1 a 0,15 unidades. El pH se ajustó de nuevo a 5,9 con algo más de 3,3% de ácido cítrico.

25 Los 200 kg del retenido de CPL56 contenían 0,26% de calcio o un contenido total de calcio de 530 g de calcio. Para eliminar todo este calcio se usaron aproximadamente 70 l de resina de intercambio de cationes fuerte en la forma de sodio. La resina era IMAC HP 111 E, una resina de intercambio de cationes de ácido fuerte con una capacidad total de intercambio de 2 eq/l de sodio. La resina fue fabricada por Rohm & Haas y tenía grupos funcionales de ácido sulfónico.

30 La resina se cargó en recipientes de acero inoxidable de aproximadamente 40 cm de diámetro y una altura de 110 cm o un volumen total de 104 l. Setenta litros de lecho de resina tenían una altura de 55 cm. Después los 200 kg del retenido pasaron a través de la resina a 2 volúmenes de lecho por hora o 140 l/h. Procesar 200 kg del retenido tarda aproximadamente una hora y media. El retenido que resulta tenía aproximadamente 0,005% de calcio y un pH de aproximadamente 7,1. El CPL56 con reducción de calcio se mezcló con CPL56 sin tratar en iguales proporciones para producir un retenido que contenía 0,13% de calcio. La composición del polvo se muestra en la columna A de la tabla 2. La evaporación preferentemente se lleva a cabo a pH 6,4.

35 Si se usa un retenido de CPL70 o de CPL85 como un caudal de alimentación en vez del retenido CPL56, entonces se pueden producir las composiciones CPL70 y CPL85 con reducción de calcio que se dan en las columnas B y C respectivamente de la tabla 2 siguiente. Los retenidos de CPL70 y CPL85 se diluyen antes de pasar a través de la columna de intercambio de iones.

Tabla 1. Composición de la leche

Componente	Leche desnatada (%)
Ceniza	0,76
Lactosa	5,17
Grasa	0,06
Proteína caseína	2,88
Proteína del suero	0,58
Proteína total	3,67

Tabla 2. Composición de concentrados de proteína de leche

CPL	A	B	C
Proteína total	56	70	85
Ceniza	7-9	7-9	6-8
Lactosa	28-30	14-16	<5
Grasa	0,9-1,1	1,5-1,6	>1,7
Calcio	0,8	0,9	1,1
Sodio (%)	2,0	2,1	2,4

Todos estos CPL muestran tener alta solubilidad en frío al principio así como después de almacenamiento. Por el contrario, los CPL hechos sin proceso de intercambio de iones tenían baja solubilidad en agua fría que se reducía hasta 50% en almacenamiento.

- 5 Cuando la resina de intercambio de iones se seca se puede regenerar pasando 2-3 volúmenes de lecho de disolución de NaCl 2 molar. El eluyente contenía un alto nivel de calcio soluble que derivaba del intercambio del retenido.

#### Ejemplo 2. Solubilidad.

- 10 Se analizó la solubilidad de cuatro muestras de CPL seco con 85% de proteína láctea después de almacenamiento durante un periodo de tiempo. Para cada muestra se preparó 5% p/v de disolución en agua después de 1, 6, 15, 22 y 36 días. Después de reconstituir en una disolución 5% p/v a 20°C, las disoluciones se centrifugaron durante 10 minutos a 700 g. Los resultados se muestran en las figuras 2A y 2B. Las tres muestras con reducción de calcio (reducción de 33%, 50% y 83%) almacenadas a 20°C mostraban todas aproximadamente 100% de solubilidad en cada ocasión. Las muestras de CPL seco control mostraban aproximadamente 70-80% de solubilidad los días 1-6 y esta disminuía a aproximadamente 50% los días 15 a 36. Se obtuvieron resultados similares con almacenamiento a 40°C.

#### Ejemplo 3. Preparación de queso.

Se analizaron cuatro muestras de CPL con 85% de proteína láctea para fabricar queso.

- 20 El material de inicio fue 3,6 kg de leche desnatada fresca que contenía 3,55% de proteína y 0,05% de grasa. Se añadió nata fresca (400 gramos) bajo cizallamiento medio a la leche desnatada fresca previamente llevada a 32,5°C. La disolución láctea resultante contenía 3,42% de proteína y 4,26 de grasa como se determinó por Milkoscan Analyses.

- 25 La disolución láctea se dividió en cuatro lotes. En cada lote se añadió un CPL diferente que contenía 85% de proteína. Un lote recibió CPL control sin reducción de calcio. La temperatura de reconstitución fue 6,5-8,5°C. Los otros tres lotes recibieron CPL con reducción de calcio cada uno con 85% de proteína. La reducción de calcio fue 25%, 50% y 98%. La reconstitución se llevó a cabo a una temperatura de 6,5-8,5°C para el CPL con 33% de reducción de calcio. Para el CPL con 50% y 98% de reducción de calcio se usó una temperatura de 4,5-6,0°C.

- 30 Todos los polvos se dispersaron en el recipiente de leche. No se vieron problemas con polvos en grumos, sin humedecer o flotando en la superficie de la leche. El pH de todas las leches reconstituidas era similar a un pH entre 6,5 y 6,7 cuando se midió a 32,5°C.

La fabricación de queso se hizo mediante un proceso estándar de cheddar. El cuajo usado era Australian DS.

- 35 Después de dos días se examinaron las preparaciones de queso. En las cuatro preparaciones de queso a las que se había añadido control y CPL con 25% de reducción de calcio, se hicieron obvias muchas pepitas grandes, grises, translúcidas. No se observaron pepitas en las preparaciones en las que se ha añadido CPL con 50% de reducción de calcio o CPL con 98% de reducción de calcio.

Se hicieron observaciones durante las etapas de fabricación de queso que mostraron que los estárteres funcionaron excelentemente en todas las leches reconstituidas y que el pH varió de 6,66 a pH 6,54 durante los 15 minutos de incubación.

- 40 Excepto para la preparación a la que se ha añadido CPL con 98% de reducción de calcio todas las preparaciones desarrollaron un coágulo a 40 minutos después de añadir el cuajo. No se formó coágulo con la muestra de CPL con 98% de reducción de calcio hasta que se añadió calcio (0,05%). El coágulo con CPL con 50% de reducción de calcio era frágil, sin embargo la cuajada frágil se hacía firme cuando empezaba el cocinado. Se observó que la cuajada en

el tanque con CPL con 98% de reducción de calcio se cocinaba mucho más deprisa que el resto. Para las cuatro muestras las características de la cuajada cocinada eran excelentes.

Para cada muestra se midió la caseína del suero, proteína, grasa, TS, a-lac, b-lg, BSA y Gmp. No se identificaron diferencias entre los sueros y en la separación todas las muestras de suero mostraban turbidez similar.

- 5 Ninguna de las cuajadas presentó ningún problema durante las etapas de salado y prensa. Los polvos de CPL con reducción de calcio aguantaron la formación de queso cheddar sin pepitas en el laboratorio con polvos que requerían tener más de 25% de reducción de calcio.

Ejemplo 4. Preparación de CPL soluble en frío por diafiltración a bajo pH.

- 10 Se somete leche desnatada a concentración sobre una membrana de ultrafiltración (membranas del tipo Koch S4 HFK 131 que tienen un límite de peso molecular nominal de 10.000 Daltons) del siguiente modo.

- 15 Se concentran aproximadamente 150 litros de leche desnatada hasta que los sólidos totales en el retenido es aproximadamente 15% para dar 50 l de retenido y 100 l de permeado. La proteína en el retenido se concentra más usando diafiltración continua, hasta que los sólidos del permeado fueron aproximadamente 1,5%. Después se ajustó el pH del retenido usando ácido sulfúrico 55 hasta un pH por debajo de 5,8. El retenido con pH ajustado de nuevo se somete a diafiltración continuamente con agua (preferentemente desmineralizada) hasta que la concentración de los sólidos del permeado alcanza por debajo de 0,1%. Después el retenido final se neutraliza usando disolución de NaOH al 5% a un pH de 6,7 y después se seca para producir polvo de CPL de la composición dada en la tabla 3. Dependiendo del pH de la acidificación, el calcio en el producto final se puede reducir al 30% a pH=5,8, y aproximadamente al 45% a pH=5,4.

- 20 Tabla 3. Composición del concentrado de proteína láctea del ejemplo 4.

Grasa	Humedad	Proteína	Lactosa	Calcio	pH de acidificación
% p/p	% p/p	% p/p	% p/p	%	
2,97	4,59	86,13	0,26	1,3	5,8
2,09	3,98	88,682	0,13	1,9	Control
2,16	3,66	88,682	0,27	1,0	5,6

Los polvos de CPL se almacenaron a 40°C durante muchas semanas y se anotó su solubilidad. La figura 3 muestra claramente que la solubilidad de CPL, que se ha sometido a diafiltración ácida, mantenía su solubilidad inicial, mientras que el control, hecho sin diafiltración ácida, tenía una solubilidad continuamente reducida.

Ejemplo 5. Preparación de queso usando CPL70.

- 25 Se analizaron cuatro muestras de CPL con 70% de proteína láctea para fabricar queso.

Se preparó leche de queso con una proporción entre grasa y proteína de 1,2 mezclando leche desnatada enriquecida fresca con nata fresca. Normalmente, se añadió 1 parte de nata a 7 partes de leche. La nata (a 30°C) se añadió a la leche (también a 30°C) bajo cizallamiento medio.

- 30 La leche mezclada se dividió en cuatro lotes. Se añadió un CPL diferente que contenía 70% de proteína a cada lote. Tres lotes recibieron CPL comercial sin reducción de calcio. Un lote recibió CPL con 70% de proteína y 20% de reducción de calcio (por intercambio de cationes). La reconstitución se llevó a cabo a una temperatura de 18°C.

Todos los polvos se dispersaron en los recipientes de leche. No se vieron problemas con polvos en grumos, sin humedecer o flotando en la superficie de la leche. El pH de todas las leches reconstituidas era similar a un pH entre 6,4 y 6,5 cuando se midió a 32,5°C.

- 35 La fabricación de queso se hizo mediante un proceso estándar de cheddar. Se añadió cloruro cálcico a todos los lotes a una velocidad de 0,2 g/l de leche. El cuajo usado era Australian DS.

- 40 Las preparaciones de queso se examinaron después de prensarse durante la noche a 5°C. En las tres preparaciones de queso a las que se había añadido CPL que contenía 70% de proteína eran obvias pepitas pequeñas, grises, translúcidas. No se observaron pepitas en la preparación de queso en la que se había añadido CPL con 20% de reducción de calcio.

Ejemplo 6. Preparación de queso usando CPL ultrafiltrado a bajo pH.

Se analizaron tres muestras de CPL con 85% de proteína láctea para fabricar queso.

Se preparó leche de queso con una proporción entre grasa y proteína de 1,2 mezclando leche desnatada enriquecida fresca con nata fresca. Normalmente, se añadió una parte de nata a 7 partes de leche. La nata (a 30°C) se añadió a la leche (a 30°C) bajo cizallamiento medio.

5 La leche mezclada se dividió en tres lotes. Se añadió un CPL diferente que contenía 85% de proteína a cada lote. Un lote recibió CPL control sin reducción de calcio. Los otros dos lotes recibieron CPL con 80% de proteína con reducción de calcio preparado como se describió en el ejemplo 4. La reducción de calcio se efectuó mediante ultrafiltración a bajo pH. Los niveles de reducción de calcio eran 33% y 46%. La reconstitución se llevó a cabo a una temperatura de 18°C.

10 Todos los polvos se dispersaron en los recipientes de leche. No se vieron problemas con polvos en grumos, sin humedecer o flotando en la superficie de la leche. El pH de todas las leches reconstituidas era similar a un pH entre 6,4 y 6,5 cuando se midió a 32,5°C.

La fabricación de queso se hizo mediante un proceso estándar de cheddar. Se añadió cloruro cálcico a todos los lotes a una velocidad de 0,2 g/l de leche. El cuajo usado era Australian DS.

15 Las preparaciones de queso se examinaron después de prensarse durante la noche a 5°C. En la preparación de queso en la que se había añadido CPL control eran obvias pepitas de tamaño medio, grises, translúcidas. No se observaron pepitas en la preparación de queso en la que se había añadido CPL con 33% o 46% de reducción de calcio.

Ejemplo 7. Preparación de queso usando CPL 85 con el calcio quelatado.

Se analizaron dos muestras de CPL con 85% de proteína láctea para fabricar queso.

20 Se preparó leche de queso con una proporción entre grasa y proteína de 1,2 mezclando leche desnatada enriquecida fresca con nata fresca. Normalmente, se añadió una parte de nata a 7 partes de leche. La nata (a 30°C) se añadió a la leche (también a 30°C) bajo cizallamiento medio.

25 La leche mezclada se dividió en dos lotes. Se añadió un CPL diferente que contenía 85% de proteína a cada lote. Un lote recibió CPL control sin reducción de calcio. El otro lote recibió CPL con 85% de proteína a la que se había añadido EDTA durante la fabricación (83 g EDTA por kg de CPL). Según los análisis de calcio, el EDTA secuestró el 10% del calcio. La reconstitución se llevó a cabo a una temperatura de 18°C.

Todos los polvos se dispersaron en los recipientes de leche. No se vieron problemas con polvos en grumos, sin humedecer o flotando en la superficie de la leche. El pH de todas las leches reconstituidas era similar a un pH entre 6,4 y 6,5 cuando se midió a 32,5°C.

30 La fabricación de queso se hizo mediante un proceso estándar de cheddar. Se añadió cloruro cálcico a todos los lotes a una velocidad de 0,2 g/l de leche. El cuajo usado era Australian DS.

35 Las preparaciones de queso se examinaron después de prensarse durante la noche a 5°C. En la preparación de queso en la que se había añadido CPL control eran obvias pepitas de tamaño medio, grises, translúcidas. Se observaron pocas pepitas pequeñas en la preparación de queso en la que se había añadido CPL tratado con EDTA. El número y tamaño de las pepitas era el esperado para un CPL con 85% de proteína con un 10% de reducción de calcio. Se cree que el incremento en la cantidad de reducción de calcio a 30% habría eliminado el problema de las pepitas completamente.

#### **General.**

40 Se hicieron observaciones durante las etapas de fabricación de queso que mostraron que los estérteres se comportaron excelentemente en todas las leches reconstituidas.

Todas las preparaciones desarrollaron un coágulo 40 minutos después de añadir el cuajo. El estado de la cuajada cocinada era excelente para todas las muestras. Ninguna de las cuajadas presentaron problemas durante las etapas de salado y prensado.

#### **Conclusiones.**

45 Los polvos de CPL con reducción de calcio con 85% de proteína aguantan la formación de queso cheddar sin pepitas en el laboratorio requiriendo polvos que tienen más de 30% de reducción de calcio.

Los polvos de CPL con reducción de calcio con 70% de proteína aguantan la formación de queso cheddar sin pepitas en el laboratorio requiriendo polvos que tienen más de 20% de reducción de calcio.

**REIVINDICACIONES**

1. Un método para fabricar queso que comprende:
  - (a) dispersar en leche un CPL o APL seco que tiene al menos 70% de materia seca como proteína láctea y disminución de calcio de 30-100%;
  - 5 (b) tratar la mezcla resultante con una o más enzimas coagulantes para producir una cuajada, y
  - (c) procesar la cuajada para fabricar queso sustancialmente libre de pepitas, en el que el CPL o APL seco es un MPC o APL con disminución de calcio y la cantidad de la reducción de calcio es suficiente para permitir la fabricación de queso sustancialmente libre de pepitas.
- 10 2. Un método de fabricación de queso según la reivindicación 1, en el que el CPL o APL seco tiene una reducción de calcio de 30-100%.
3. Un método para fabricar un producto de CPL o APL seco que comprende:
  - (a) proporcionar un CPL o APL que tiene al menos 70% de materia seca como proteína láctea en disolución/suspensión acuosa;
  - 15 (b) eliminar 30-100% de los iones de calcio mediante un método escogido a partir de al menos uno de (1) intercambio de cationes sobre un intercambiador de iones en la forma de sodio y/o potasio (2) acidificación a pH 4,6-6 con uno o más tratamientos posteriores seleccionados a partir de diálisis, ultrafiltración y diafiltración, con posterior neutralización después de la eliminación del calcio o (3) mediante adición de un agente quelante; y/o ligando una proporción de iones de calcio con un agente quelante;
  - 20 (c) opcionalmente mezclar el producto de la etapa (b) con otra disolución láctea mientras se mantiene al menos 30% de la reducción de calcio; y
  - (d) secado para preparar un producto seco.
4. Un método según la reivindicación 3 para preparar un CPL o APL seco que tiene al menos 70% en peso de proteína láctea que comprende:
  - 25 (a) proporcionar un CPL o APL, en disolución/suspensión acuosa;
  - (b) eliminar 40-100% de los iones de calcio mediante un método escogido a partir de al menos uno de (1) intercambio de cationes sobre un intercambiador de iones en la forma de sodio y/o potasio (2) acidificación a pH 4,6-6 con posterior diálisis y/o ultrafiltración y/o diafiltración o (3) mediante adición de un agente quelante; y/o ligando una proporción de iones de calcio con un agente
  - 30 (c) opcionalmente mezclar el producto de la etapa (b) con otra disolución láctea mientras se mantiene el porcentaje de reducción de calcio en el intervalo de 40-100%; y
  - (d) secado para preparar un producto seco.
5. Un método según la reivindicación 3 para preparar un CPL o APL seco que comprende:
  - 35 (a) proporcionar un CPL o APL que tiene al menos 70% de materia seca como proteína láctea en disolución/suspensión acuosa;
  - (b) poner en contacto al menos una parte del CPL o APL con un intercambiador de cationes durante un tiempo suficiente para eliminar 30-100% de los iones de calcio en el CPL o APL mediante sustitución por iones de sodio y/o potasio;
  - 40 (c) opcionalmente mezclar el CPL o APL con reducción de calcio con otro CPL o APL mientras se mantiene el porcentaje de reducción de calcio en el intervalo 30-100%; y
  - (d) secado para preparar un producto seco.
6. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5 en el que el intercambiador de cationes tiene grupo fuertemente ácidos.
- 45 7. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6 en el que el calcio se sustituye por iones de sodio, iones de potasio o una mezcla de ambos.
8. Un método según la reivindicación 5 en el que la reducción de calcio es de 40-100%.

9. Un método según la reivindicación 5 en el que la reducción de calcio es de 50-100%.
10. Un método para preparar un CPL o APL seco que comprende:
- 5 (a) proporcionar una disolución de leche baja en grasa, por ejemplo leche desnatada, en forma líquida;
- (b) eliminar 30-100% de los iones de calcio mediante intercambio de cationes sobre un intercambiador de iones en la forma de sodio y/o potasio;
- (c) opcionalmente mezclar la leche con reducción de calcio con otra disolución láctea mientras se mantiene el porcentaje de reducción de calcio en el intervalo de 30-100%;
- 10 (d) concentrar la disolución obtenida por ultrafiltración, opcionalmente con diafiltración, para formar un CPL o AIC que tiene al menos 70% de peso seco como proteína; y
- (e) secado para preparar un producto seco.
11. Un método según la reivindicación 10 en el que se usa intercambio de cationes.
12. Un método según la reivindicación 10 en el que el calcio se sustituye por iones de sodio, iones de potasio o una mezcla de ambos, opcionalmente junto con iones de magnesio.
- 15 13. Un método según la reivindicación 10 en el que la reducción de calcio es de 40-100%.
14. Un método para fabricar queso que comprende:
- (a) dispersar en leche un CPL o APL preparado mediante un método según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 13;
- (b) tratar la mezcla resultante con una o más enzimas coagulantes para producir una cuajada; y
- 20 (c) procesar la cuajada para fabricar queso.
15. Un método para preparar un producto combinado que comprende un polvo de leche entera y un CPL o APL que comprende mezclar un CPL o APL preparado mediante un método según cualquiera de las reivindicaciones 3-13 con un polvo de leche entera.
16. Un método para fabricar leche que comprende:
- 25 (a) dispersar en una disolución acuosa, un producto combinado preparado mediante el método de la reivindicación 15;
- (b) tratar la mezcla resultante con una o más enzimas coagulantes para producir una cuajada; y
- (c) procesar la cuajada para fabricar queso.
- 30 17. Un método según la reivindicación 3 o la reivindicación 4 en el que la eliminación de calcio se hace mediante acidificación y posterior diálisis y/o ultrafiltración y/o diafiltración.
18. Un método según la reivindicación 3 o la reivindicación 4 en el que la eliminación de calcio se hace mediante la adición de un agente quelante.
19. Un método según la reivindicación 17 en el que el agente quelante es un acidulante alimentario.
- 35 20. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 12 en el que la reducción de calcio es al menos 50%.
21. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 y 14 en el que la reducción de calcio es al menos 50%.
22. Un método para preparar un producto de CPL seco, el método comprende:
- 40 (a) concentrar leche desnatada sobre membranas tipo Koch S4 HFK 131 que tienen un límite de peso molecular nominal de 100.000 Daltons hasta que los sólidos totales en el retenido sean aproximadamente 15%;
- (b) concentrar más la proteína en el retenido usando diafiltración continua hasta que los sólidos del permeado sean aproximadamente 1,5%;
- (c) ajustar el pH por debajo de 5,8 usando ácido sulfúrico;

## ES 2 403 174 T3

- (d) diafiltrar continuamente el retenido con el pH ajustado con agua hasta que la concentración de sólidos del permeado alcance por debajo de 0,1%;
- (e) neutralizar el producto de la etapa (e) usando disolución de hidróxido sódico al 5% a un pH de 6,7;
- (f) secado para producir un producto seco.

5

Preparación de CPL con reducción de calcio

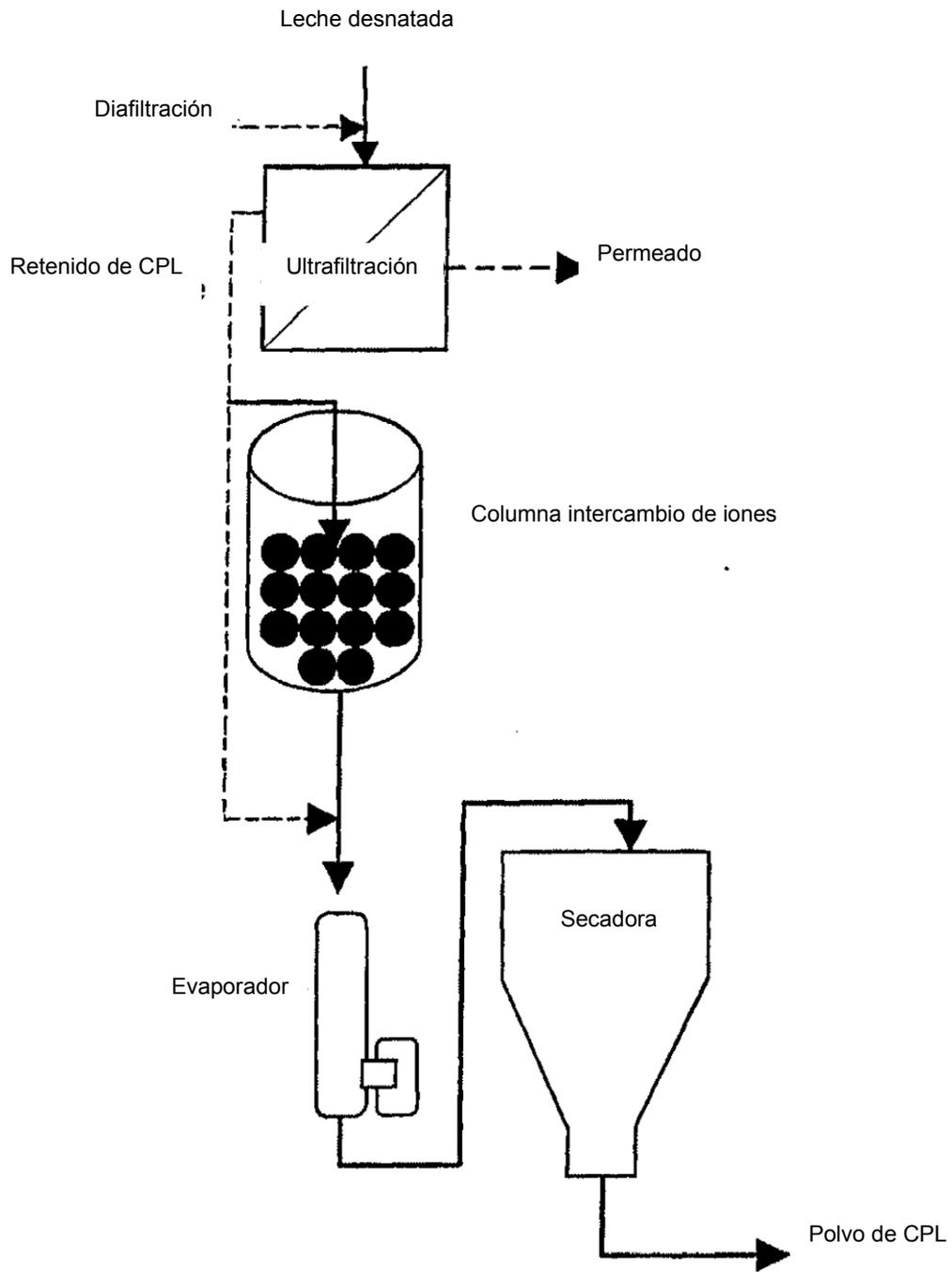


Figura 1

Solubilidad tras almacenamiento a 20°C

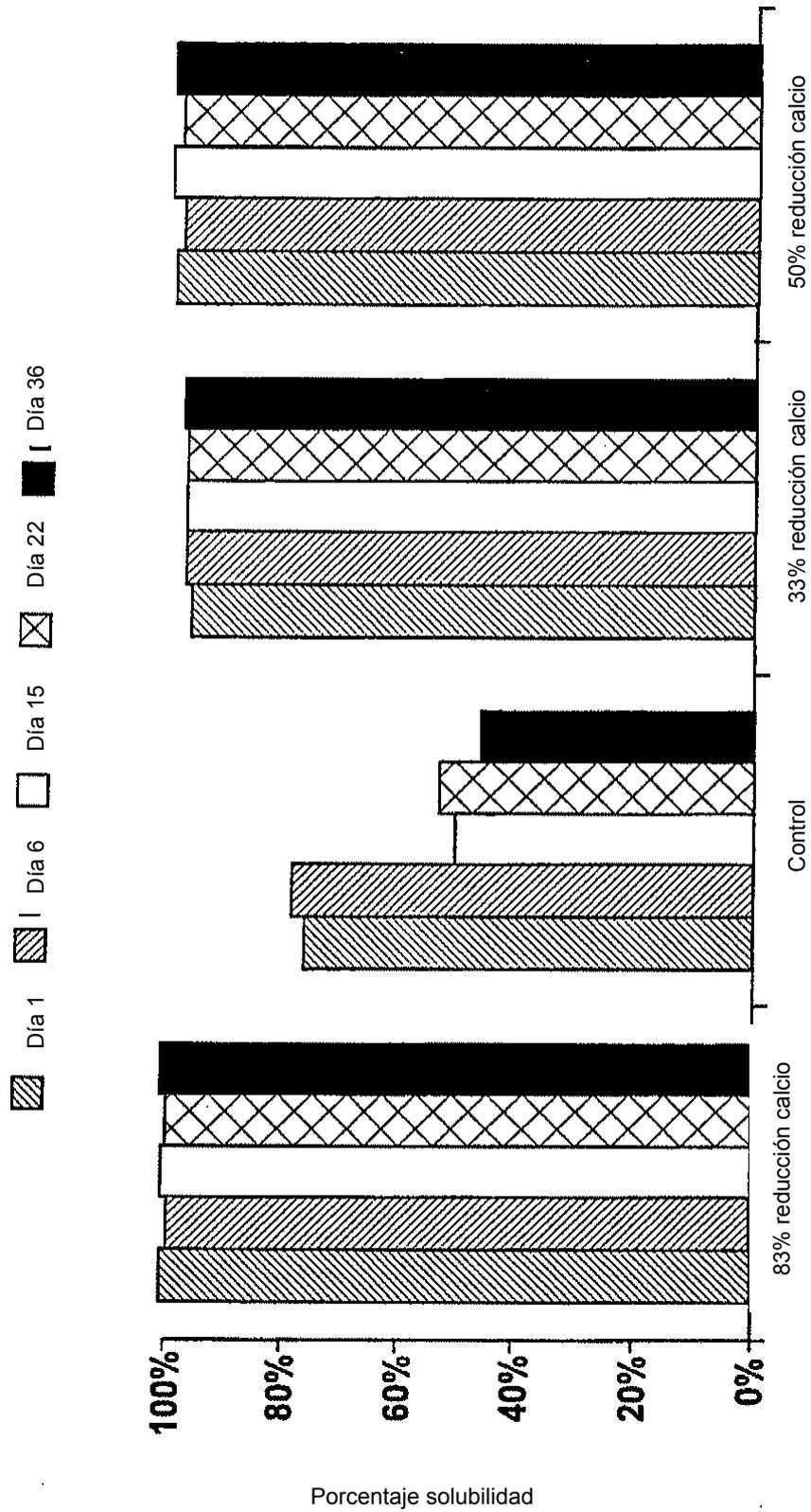


Figura 2A

Solubilidad tras almacenamiento a 40°C

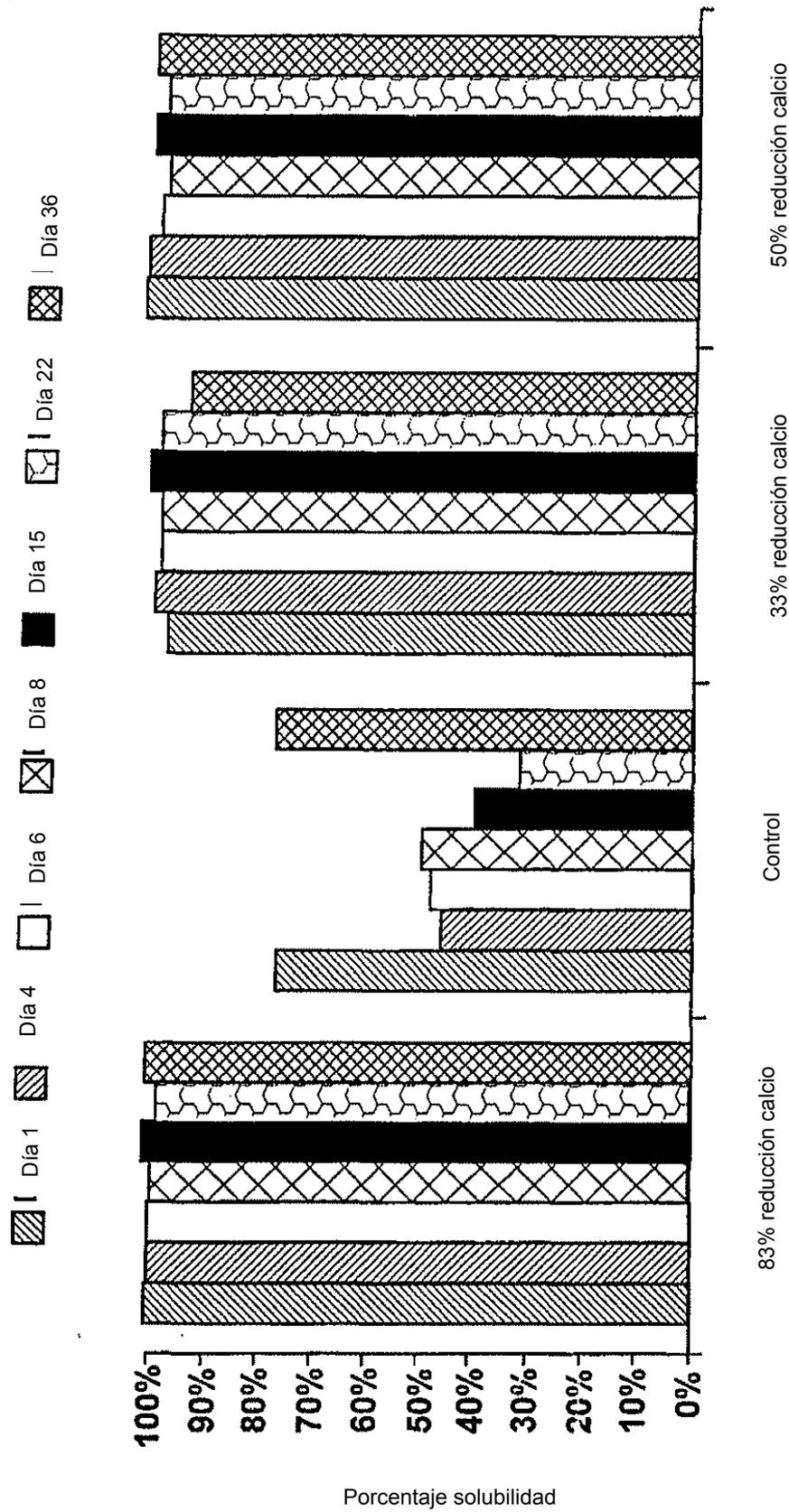


Figura 2B

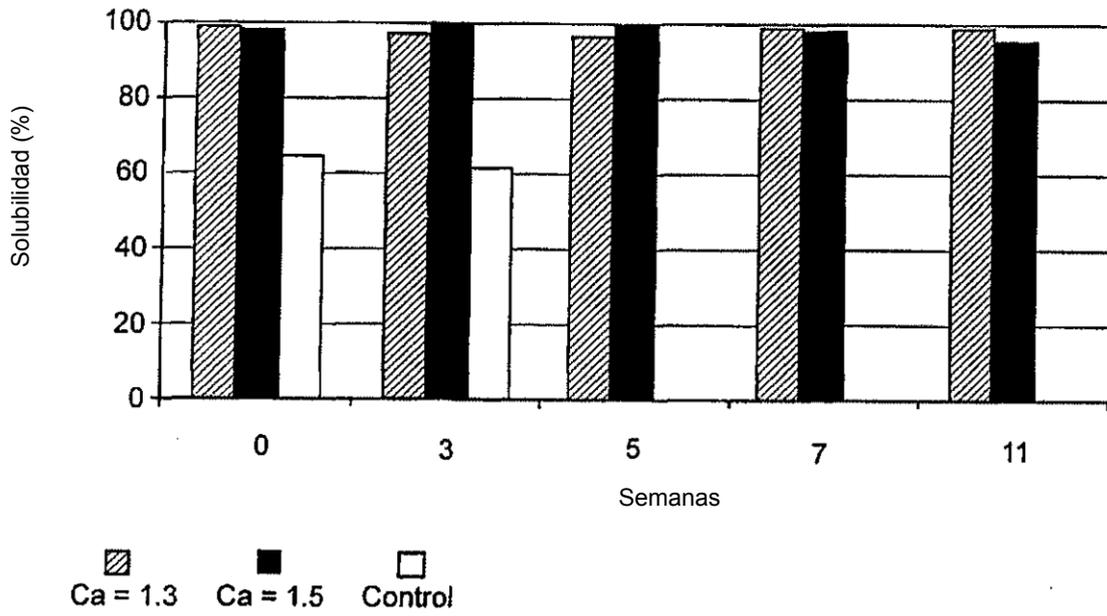


Figura 3