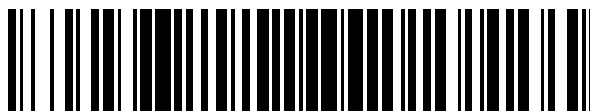


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 423 999**

51 Int. Cl.:

**A23C 9/142** (2006.01)

**A23C 9/146** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.03.2010** **E 10710393 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2013** **EP 2408311**

54 Título: **Desmineralización y fraccionamiento de suero de leche o leche cruda**

30 Prioridad:

**17.03.2009 GB 0904557**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**26.09.2013**

73 Titular/es:

**SEPARATION TECHNOLOGIES INVESTMENTS  
LIMITED (100.0%)  
Mill Race Compton Abdale  
Cheltenham GL54 4DR, GB**

72 Inventor/es:

**SCOTT, STEPHEN NIALL y  
KRISHNAPILLAI, ASHOK**

74 Agente/Representante:

**BALLESTER CAÑIZARES, Rosalía**

ES 2 423 999 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****DESMINERALIZACIÓN Y FRACCIONAMIENTO DE SUERO DE LECHE O LECHE CRUDA**

**[0001]** La presente invención hace referencia a un proceso mejorado para la desmineralización de suero de leche o leche cruda.

5 **[0002]** En general, la elaboración de queso consiste en la coagulación de proteína de leche (caseína) para recolectar los sólidos de la leche y la grasa de la leche en una base de cuajada, ya sea por la acción de enzimas en la leche o al reducir el pH de la leche usando un ácido apropiado. Esta base de cuajada se concentra entonces para expresar una fracción líquida, conocida como suero de queso. El suero de queso contiene sólidos de leche que no se mantienen en la base de cuajada, en particular

10 las proteínas solubles y los sacáridos de leche. El suero contiene el 80-90% del total del volumen de leche usado en el proceso de elaboración de queso y contiene más de la mitad de los sólidos de la leche entera original, incluido el 20% de la proteína y la mayor parte de la lactosa y tiene un contenido orgánico muy alto.

**[0003]** La eliminación del suero de leche siempre ha sido un problema en el sector de los lácteos

15 debido a su alto contenido orgánico. En la actualidad, es posible recuperar proteínas solubles del suero de leche y el valor de la lactosa y es claramente deseable recuperar la mayor cantidad de contenido orgánico como sea posible para reducir la carga orgánica de la corriente del efluente y para obtener un mayor rendimiento del suero. Las empresas de elaboración de queso no están escatimando en esfuerzos para desarrollar usos para este producto.

20 **[0004]** El suero como subproducto del sector de elaboración de queso está compuesto de aproximadamente 6 a 6,5% de sólidos. Los sólidos de suero de leche se componen del 75 al 80% de lactosa, 8,5 al 9,2% de proteína verdadera, 2,5 al 3% de NPN (nitrógeno no proteico), 8 al 12% de cenizas y menos del 1% de grasas. Se produce suero dulce durante la elaboración de quesos de pasta dura como el Cheddar o el Gouda, que son de coagulado por cuajo. El suero ácido se produce

25 durante la elaboración de quesos como el requesón y tiene una proporción menor de proteína con una proporción superior correspondiente de cenizas. La composición del suero de leche puede variar dependiendo de factores como la raza de las vacas, la época del año, los diferentes cultivos iniciadores de queso o los tipos de cuajo.

**[0005]** Existen numerosas técnicas disponibles para la conversión de suero de leche dulce en

30 alimentos para bebés por la eliminación parcial o casi total de los minerales. Principalmente, el proceso conlleva el uso de la tecnología de resina por sí sola o una combinación de de tecnología de membrana y de resina. Las resinas utilizadas son una combinación de resina de cationes y aniones, ambas necesitan el uso considerable de productos químicos para el proceso de limpieza. Además, los efluentes de limpieza necesitan tratamiento y eliminación. Puesto que la cantidad de productos

35 químicos necesaria es una función directa del contenido de cenizas en el suero de leche, y el suero ácido tiene una menor proporción de proteínas y una mayor proporción de cenizas que las que tiene el suero dulce, tradicionalmente se ha considerado que la desmineralización del suero ácido mediante procesos de intercambio de iones y su transformación en comida para bebés es cara debido a los volúmenes de productos químicos necesarios.

40 **[0006]** La solicitud de patente PCT WO-A-2008/077071 divulga un procedimiento en el que se

somete la leche cruda a ultrafiltración y el permeado resultante se somete entonces a una etapa de nanofiltración.

**[0007]** Un objetivo de la presente invención es proporcionar un procedimiento mejorado para la desmineralización y fraccionamiento del suero de leche o de la leche cruda con el mínimo uso de o sin usar productos químicos y en el que la fuente del suero de leche o la leche cruda está poco relacionada con el coste del proceso global.

**[0008]** En consecuencia, un primer aspecto de la presente invención presenta un procedimiento para el fraccionamiento del suero de leche o la leche cruda que consta de las siguientes etapas:

a) someter el suero de leche o leche cruda a ultrafiltración (UF) para proporcionar una fracción retenida y un permeado de suero de leche.

b) concentrar la fracción de permeado de suero de leche por nanofiltración (NF) para proporcionar un retenido rico en lactosa; y

c) someter el retenido de nanofiltración a la cromatografía de permeación de iones a temperaturas elevadas de entre 50 y 80 °C usando una resina apropiada; y

d) eluir el retenido de nanofiltración en fracciones a partir de la resina usando agua como eluyente.

**[0009]** El procedimiento de la presente invención posibilita la desmineralización de suero de leche o leche cruda sin usar productos químicos, mientras que a su vez se obtienen productos de valor comercial. En concreto, el procedimiento es adecuado para la desmineralización de suero de leche para proporcionar productos como 3'sialyl lactosa, a partir de la corriente del efluente recogiendo dos corrientes principales separadas del eluato de cromatografía de permeación de iones.

**[0010]** La fracción retenida producida en la etapa a) es rica en proteínas con niveles bajos de minerales mientras que la fracción de permeado es una corriente de lactosa que contiene la mayor concentración de los minerales. En la etapa b) el permeado de NF contiene una gran proporción de iones monovalentes, así como urea, etc. El retenido concentrado se compone principalmente de lactosa, algunas proteínas, NPN y minerales.

**[0011]** La resina de separación cromatográfica es preferiblemente CR1310K, como la suministra Rohm and Haas. Sin embargo, existen otras resinas adecuadas. Entre los ejemplos se incluyen, sin carácter limitativo, las suministradas con los siguientes nombres comerciales: CR1310Ca & NA o CR1320 Ca, K o NA de Rohm and Haas, DOWEX Monosphere 99Ca/320 de Dow o Diaion UBK530 de Mitsubishi o PCR145K de Purolite.

**[0012]** Preferentemente, la etapa b) eleva el contenido de sólidos a al menos el 20%, más preferiblemente a al menos el 25% o más. Cualquier membrana de NF con un corte de peso molecular (MWCO, en inglés) de entre 90 y 350 daltons puede utilizarse en esta etapa. Es preferible trabajar cerca del MWCO alto del componente de interés (es decir, la lactosa) y, por tanto, se prefiere una membrana que tiene un MWCO de 320 a 342. Entre los ejemplos específicos de dichas membranas se incluyen aquellas suministradas con los nombres comerciales de membranas Koch TFC-SR2, SeIRO MPF-44.

**[0013]** La etapa c) se lleva a cabo preferiblemente a una temperatura elevada de entre 65 y 75 °C. Los volúmenes de carga en la resina de permeación de iones pueden ser de entre el 10 y el 25% del volumen de resina. No obstante, es deseable limitar a un máximo del 15% del volumen de resina para

reducir la pérdida de lactosa.

**[0014]** Una primera fracción retenida de la elución en la etapa d) es la fracción rica en minerales, que contiene más del 98% de los minerales y aproximadamente del 5 al 10% de la lactosa, junto con una proporción mayor de NPN. Esta fracción también contiene otros componentes de valor comercial, como los oligosacáridos 6'-sialyl lactosa y 3'-sialyl lactosa. Puesto que el proceso se realiza con agua, estos componentes de valor comercial no se destruyen y, por tanto, pueden ser recuperados, concentrados y/o aislados.

**[0015]** Una segunda fracción retenida de la elución en la etapa d) es la corriente de lactosa, que se recoge por separado.

**[0016]** Debe tenerse en cuenta que las fracciones individuales eluidas de la columna de cromatografía de permeación de iones pueden cortarse en puntos estratégicos para obtener mejores resultados y/o proporcionar una mayor pureza.

**[0017]** De acuerdo con un aspecto preferido de la presente invención, el proceso comprende además la concentración de la segunda fracción rica en lactosa por ósmosis inversa (OI) o NF. Más preferentemente, se añade de nuevo la fracción rica en lactosa a la fracción retenida de UF obtenida en la etapa a) para lograr suero de leche desmineralizado. Mediante esta técnica, el grado de desmineralización puede controlarse por el grado de retención por la planta de UF.

**[0018]** En general, se considera económico concentrar los sólidos por UF en la etapa a) a no más del 25%, lo que en efecto es una concentración de 20 a 30 veces más de la proteína. Esto se traduce en una tasa de desmineralización de entre el 85 y el 90%. Con el fin de obtener una tasa mayor del 90% de desmineralización, puede ser necesario diafiltrar la fracción retenida de UF además de eliminar más cenizas. El permeado total se conjugaría y concentraría entonces por NF antes de la cromatografía de la permeación de iones de la etapa c) como se describe anteriormente.

**[0019]** De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, el procedimiento comprende además la concentración de la primera fracción rica en minerales por ultrafiltración para proporcionar un producto rico en oligosacáridos, específicamente 3'-sialyl lactosa y/o fosfato de calcio. El fosfato de calcio puede utilizarse en levadura en polvo, productos dentales y en la producción de fertilizantes, plásticos y vidrio.

**[0020]** Más preferentemente, la primera fracción retenida de la elución de la columna de cromatografía de permeación de iones, que contiene los minerales, algunos NPN y 3'-sialyl lactosa, puede recogerse y someterse a un proceso de desmineralización moderada para eliminar un cierto nivel de los minerales y, de este modo, obtener una fracción rica en 3'-sialyl lactosa. Esta fracción también puede someterse a una etapa de aislamiento mediante la cual, después de la desmineralización, pueda aislarse 3'-sialyl lactosa por la recogida en una resina del anión adecuada (ya sea una base débil o una base fuerte). Después, se puede eluir el material de interés con una solución de hidróxido de amonio, ácido fórmico, ácido acético o combinaciones de los mismos para obtener una solución volátil que contenga suficientes contraiones para eluir 3'-sialyl lactosa de la resina. La ventaja de un sistema tan volátil es que el material puede secarse directamente sin dejar residuos. Como alternativa, la elución puede realizarse mediante el uso de una solución que contiene cloruro, acetato o formiato como el anión y calcio, sodio, amonio o potasio como el catión. En este proceso de elución, el material debe ser sometido a continuación a un proceso adicional para eliminar

el exceso de cationes y aniones ya sea mediante el uso de un sistema de membrana o de un sistema de resina o una combinación de los dos.

**[0021]** La presente invención proporciona la gran ventaja de que no se necesitan productos químicos en el proceso de cromatografía de permeación de iones. Otra ventaja significativa de este sistema es que puesto que no se utilizan productos químicos en la resina de cromatografía de permeación de iones, el eluato total de la resina puede someterse a ósmosis inversa (OI) y, de ese modo, puede recuperarse una proporción mayor del agua y reciclarse de forma segura. Lo que permite la concentración del eluato y, de este modo, contribuye a un ahorro mayor en una etapa posterior del proceso.

**[0022]** Puesto que el suero ácido tiene una menor proporción de proteínas y una mayor proporción de cenizas que las que tiene el suero dulce, tradicionalmente se ha considerado que la desmineralización del suero ácido mediante procesos de intercambio de iones y su transformación en alimentación de bebés son caras debido a los volúmenes de productos químicos necesarios. No obstante, una ventaja de la presente invención es que el suero ácido puede ser desmineralizado sin ningún coste adicional. Básicamente, la fuente de suero tiene poca relación con los costes operativos, ya que la desmineralización se logra mediante una combinación de ultrafiltración y permeación de iones o exclusión, sin usar productos químicos.

**[0023]** La presente invención se ilustra a continuación con mayor detalle en relación con los siguientes ejemplos.

#### **Ejemplo 1**

**[0024]** El primer paso en todos los ejemplos de la presente invención es una etapa de ultrafiltración (UF) mediante la cual se elimina una gran proporción de la proteína en el suero de queso. La etapa de UF puede incluir la producción de WPC35, 60, 80 u 85. Un subproducto de este proceso es el permeado de suero aproximadamente en el 4 al 7% de sólidos que se compone aproximadamente del 90 al 95% de lactosa, 1 al 5% de proteína (NPN y proteína verdadera), 4 al 7% de ceniza y 0,05 al 0,25% de 3'-sialyl lactosa (3-SL) y otros oligosacáridos. En ciertas épocas del año, la proporción de 3-SL puede ser significativamente superior, hasta tanto como el 0,5% en peso de los sólidos.

**[0025]** La corriente de permeado/lactosa a partir de la UF se somete a NF para aumentar los sólidos de un 20 a 25%. La elección de la membrana de NF puede ser significativa. La mayoría de las membranas de NF están en el corte de 100 daltons (por ejemplo: membranas GE, DK, DL, membrana TFC\_HR de Koch). No obstante, necesitan niveles de presión altos para funcionar de forma eficaz. Otras membranas de NF tienen un corte molecular más alto de entre 200 y 300 daltons. Puede usarse cualquier membrana de NF con un corte de peso molecular (MWCO) de entre 90 y 350 daltons, el punto de corte más alto está limitado por el peso molecular del componente de interés, en este caso, lactosa, en concreto 342.29648 daltons. Trabajar cerca del MCWO más alto sin perder lactosa es una ventaja significativa puesto que el procedimiento puede realizarse a una presión de trabajo significativamente menor, lo que resulta en un ahorro de energía. Ejemplos específicos de dichas membranas son las membranas TFC-SR2, SeIRO MPF-44 de Koch.

**[0026]** Una vez concentrada la corriente de lactosa, se somete entonces a fraccionamiento en una resina de permeación de iones apropiada (o de exclusión de iones) como CR1310K a 70-80°C. La primera fracción, que contiene los minerales, es descartada o tratada más adelante, según el caso.

**[0027]** La segunda fracción, que contiene lactosa, es recogida, concentrada por OI o NF y después recombinada con la proteína a partir de la etapa de UF para proporcionar suero de leche desmineralizado. Los volúmenes de carga en la resina de permeación de iones pueden ser de entre el 10 y el 25% del volumen de resina. No obstante, es deseable limitar a un máximo del 15% del volumen de resina para reducir la pérdida de lactosa. La columna se mantiene a temperatura constante de entre 50 y 80 °C. Es deseable que se mantenga entre 65 y 75°C. Si es inferior a 65°C, el crecimiento de bacterias termófilas podría ser un problema y si es superior a 75°C las burbujas de aire formadas en el lecho serían otro problema. Con el fin de reducir y/o evitar las burbujas de aire, resulta deseable llevar la columna de resina a presiones positivas usando presión de aire o gas por encima del lecho de resina.

**[0028]** También es posible concentrar el 6% de suero (suero de queso o ácido) en un contenido de sólidos del 20 al 30% usando NF con un MCWO suficiente para retener la lactosa. La concentración también puede lograrse mediante evaporación. Entonces es sometida a fraccionamiento usando la resina de exclusión iónica. La primera fracción contiene todas las proteínas, oligosacáridos y minerales, mientras que la segunda fracción contiene la lactosa. Se recogen ambas fracciones. La fracción 1 se somete a NF para retener la proteína y los oligosacáridos en el retenido, así como concentrarlo y eliminar algunos de los iones monovalentes y el agua del permeado. La fracción de lactosa se concentra por NF y se combina con el concentrado de proteína desmineralizada para producir suero de leche desmineralizado. El nivel de desmineralización durante la UF se determina por el nivel al que se ultrafiltra el material.

**[0029]** El siguiente ejemplo compara la desmineralización de suero dulce o suero de queso mediante el uso de un método de intercambio iónico convencional y del procedimiento de la presente invención.

### **Ejemplo 2**

**[0030]** En un proceso de desmineralización de intercambio iónico, el suero dulce en 6% de los sólidos se somete a nanofiltración para eliminar aproximadamente el 40% de los iones monovalentes. Después, se somete a la desmineralización mediante el uso de resinas de iones y cationes. Los requisitos químicos para procesar una tonelada de materia seca (tras la NF) son aproximadamente 0,14 toneladas de 36% HCl, aproximadamente 0,09 toneladas de 48% NaOH y 12,5 toneladas de agua de calidad del proceso. Además, esto produce aproximadamente 0,202 toneladas de lodos efluentes, que contienen la materia sólida del suero de leche, así como los productos químicos utilizados (HCl y NaOH). También pueden llevarse a cabo las etapas adicionales de procesamiento anteriores al intercambio iónico, como la electrodiálisis para reducir la carga en las resinas de intercambio iónico y, de este modo, reducir el consumo de productos químicos. Lo que, sin embargo, se traduce en un consumo de energía significativo y hace necesario el uso de productos químicos, aunque una cantidad inferior, para obtener el objetivo final de desmineralización.

**[0031]** En cambio, la presente invención produce aproximadamente 0,14 toneladas de lodo efluente por cada tonelada de materia seca procesada, que consiste principalmente en cenizas y NPNs de suero de leche. Puesto que no se ha utilizado HCl ni/o NaOH para limpiar las resinas, el efluente se somete de manera bastante fácil a OI para reciclar agua. Un beneficio adicional es el hecho de que la corriente del efluente también contiene componentes valiosos que los productos químicos no han dañado, y estos pueden aislarse para su posterior procesamiento. Ejemplos típicos son los

oligosacáridos de la leche 6'-sialyl lactosa y 3'-sialyl lactosa. La corriente de efluente puede someterse a una posterior desmineralización mediante el uso de una resina del tipo de Sephadex G-25, G-15 o G-10 según el cual se eliminan los minerales y puede obtenerse 3'-sialyl lactosa en los niveles del 2 al 5% o más en el peso de sólidos. Ha sido posible aislar 3'-sialyl lactosa a partir de la corriente de efluente, obteniéndolo a niveles del 15 al 40% en peso de sólidos, como describe la solicitud no publicada pendiente del Solicitante.

**[0032]** En caso de utilizar suero ácido como material de partida en lugar de suero dulce, el contenido químico del material de partida es considerablemente mayor y la cantidad correspondiente de lodos producidos es también significativamente mayor en el proceso anterior. No obstante, con la presente invención, la cantidad de lodo producida no debería ser mayor de 0,18 toneladas por tonelada de materia seca procesada.

**[0033]** La presente invención es también aplicable a la desmineralización del permeado de leche cruda, como se detalla en el siguiente ejemplo.

### **Ejemplo 3**

**[0034]** Los ensayos se llevaron a cabo usando permeado de leche cruda.

**[0035]** El permeado de leche cruda obtenido mediante ultrafiltración de leche cruda se sometió a nanofiltración para obtener un retenido con un contenido de sólidos de aproximadamente el 20%. Este retenido de NF se sometió a cromatografía de permeación de iones en una columna de 50mm de diámetro y aproximadamente 900mm de profundidad de lecho de resina con una camisa de agua para mantener a la temperatura uniforme de 70 °C. Se eluyó la columna con agua desionizada a una velocidad de flujo de aproximadamente 1 a 2 bv/h.

**[0036]** El eluato resultante se dividió en dos fracciones principales. La primera fracción contenía - 98% de toda la ceniza, ~95% de todos los oligosacáridos de sialyl y ~90% de todas las proteínas, incluido -98% de todos los NPN. La concentración de 3'-sialyl lactosa se midió a >1% en peso de sólidos. Sin embargo, el contenido de cenizas de este material es bastante elevado, que puede eliminarse por cromatografía adicional en Sephadex G25 o G 10 o por intercambio de iones para obtener una fracción rica 3-SL libre de minerales. La segunda fracción estaba prácticamente libre de cenizas con menos del 1% de proteínas y >95% de toda la lactosa. El flujo de lactosa libre de cenizas se combina con el retenido de UF original para obtener >90% de leche desmineralizada.

**Reivindicaciones**

1. Un procedimiento para la desmineralización y fraccionamiento de leche cruda o suero de leche que comprende las etapas de:
  - a. exponer el suero de leche o la leche cruda a una ultrafiltración para proporcionar una fracción de retenido y un permeado de suero de leche;
  - b. concentrar el permeado de suero por medio de una nanofiltración para ofrecer un retenido rico en lactosa concentrado;
  - c. exponer el retenido de nanofiltración a una cromatografía de permeación de iones a temperaturas elevadas de entre 50°C y 80°C, utilizando una resina apropiada; y
  - d. eluir el retenido de nanofiltración en diversas fracciones de la resina usando agua como eluyente.
2. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que el material fuente es queso o suero ácido.
3. Un procedimiento según la reivindicación 1 o 2, en el que la etapa b) aumenta el contenido en sólido del permeado de suero de leche por lo menos en un 20%.
4. Un procedimiento según la reivindicación 1, 2 o 3, en el que el permeado de suero de leche se concentra en la etapa b) usando una membrana de nanofiltración que tiene un corte de peso molecular de entre 320 y 342 daltons.
5. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 4, en el que la etapa c) se lleva a cabo a temperatura de entre 65°C y 75°C.
6. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicación de la 1 a la 5, en el que los volúmenes de carga en la resina de permeación de iones se limitan a un máximo del 15% del volumen de resina.
7. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes que comprende además la elución, en la etapa b), de una fracción rica en lactosa con un contenido bajo en minerales de la resina de cromatografía de permeación de iones.
8. Un procedimiento según la reivindicación 7 que además comprende la concentración de la fracción rica en lactosa por nanofiltración u ósmosis inversa.
9. Un procedimiento según la reivindicación 7 u 8 que además comprende la adición de la fracción rica en lactosa a la fracción de retenido de ultrafiltración obtenida en la etapa a) para ofrecer suero de leche desmineralizado.
10. Un procedimiento según la reivindicación 9 que además comprende la exposición de la fracción de retenido de ultrafiltración a una diafiltración, antes de que el permeado de diafiltración, se concentre por nanofiltración anterior a la adición de la fracción rica en lactosa obtenida según la reivindicación 7 u 8.
11. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 6 que comprende además la elución en la etapa d) de una fracción rica en minerales baja en lactosa que contiene 3'-sialyl lactosa a partir de la resina de permeación de iones.
12. Un procedimiento según la reivindicación 11 que comprende además la exposición de la fracción rica en minerales a una etapa de desmineralización moderada para eliminar un cierto

nivel de minerales y, de ese modo, obtener una fracción rica en 3'-sialyl lactosa.

13. Un procedimiento según la reivindicación 12 que además comprende el aislamiento de 3-sialyl lactosa absorbiéndolo en una resina aniónica adecuada.
14. Un procedimiento según la reivindicación 12 que además comprende la elución de 3'-sialyl lactosa a partir de la resina aniónica usando una solución de hidróxido de amonio, ácido fórmico, ácido acético o combinaciones de los mismos.
15. Un procedimiento según la reivindicación 13 que además comprende la elución de 3'-sialyl lactosa a partir de la resina aniónica usando una solución que contiene cloruro, acetato o formiato como el anión y calcio, sodio, amonio o potasio como el catión.

5