

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 507 216**

51 Int. Cl.:

A23C 9/142 (2006.01)

A23C 7/04 (2006.01)

A23C 3/037 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.01.2010 E 10702017 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.06.2014 EP 2391222**

54 Título: **Leche y productos relacionados con la leche de larga vida en almacenamiento y un procedimiento e instalación de tratamiento de leche para su fabricación**

30 Prioridad:

27.01.2009 US 147614 P

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

14.10.2014

73 Titular/es:

**ARLA FOODS AMBA (100.0%)
Sønderhøj 14
8260 Viby J, DK**

72 Inventor/es:

**HOLST, HANS HENRIK;
GUNTHER, WILLIAM STUART;
ANDERSEN, JOERGEN y
LUNDGREN, KRISTOFFER**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 507 216 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

Leche y productos relacionados con la leche de larga vida en almacenamiento y un procedimiento e instalación de tratamiento de leche para su fabricación

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a leche y productos relacionados con la leche de larga vida en almacenamiento, así como a un método para producir estos productos de larga vida en almacenamiento y una instalación de tratamiento de leche para la realización del método.

Antecedentes

10 La leche y los productos derivados de la leche son tratados con calor con el fin de inactivar enzimas no deseables y destruir agentes patógenos y microorganismos patógenos. El procedimiento de calentamiento puede provocar adicionalmente cambios físicos y químicos (desnaturalización de proteínas, oscurecimiento, etc.) que afectan de forma positiva o negativa a las características sensoriales de los productos a su valor nutricional. La leche y los productos derivados de la leche pueden ser tratados mediante una gama de procedimientos, que difieren en la intensidad del tratamiento con calor. Independientemente del tratamiento con calor, el objetivo es minimizar los posibles riesgos para la salud que surgen de los microorganismos patógenos asociados a la leche y minimizar los cambios físicos, químicos, sensoriales y nutricionales para el producto final.

15 Los tres tipos generales de tratamiento con calor (desde suave hasta intensos) son la termización, pasteurización y esterilización. La termización es un tratamiento con calor suave (normalmente 57-68°C durante 15 s) suficiente para destruir microorganismos vegetativos psicotrópicos gram-negativos y aumentar la vida en almacenamiento refrigerado. La pasteurización (normalmente 72°C durante 15 s) destruye la mayoría de los organismos patógenos vegetativos (bacterias, levaduras y mohos) que pueden provocar el envenenamiento de los alimentos. La esterilización es el tratamiento con calor más intenso (normalmente 121°C durante 3 minutos) y destruye todos los microorganismos (vegetativos y esporas) y los hace incapaces de crecer más.

20 La intensidad del procedimiento de tratamiento con calor afectará a la vida en almacenamiento, así como a las cualidades del producto final, y se escoge basándose en el uso previsto de los productos. El aumento de la intensidad del tratamiento con calor puede reducir generalmente la proporción de deterioro del producto; sin embargo, este debe estar equilibrado frente a los cambios químicos, físicos, sensoriales y nutricionales aumentados para el producto final. Cuando los tiempos entre producción y consumo son cortos, puede ser suficiente un nivel mínimo de tratamiento con calor. Cuando los tiempos antes del consumo son más largos o los productos son expuestos a entornos adversos (tropicales), el producto puede tener una buena calidad microbiana y pueden ser aceptados los efectos adversos de los tratamientos intensos con calor.

25 Para prolongar la vida en almacenamiento de la leche a temperatura ambiente más allá de varios días, debe ser calentada a temperaturas superiores que durante la pasteurización y debe ser eliminada la contaminación posterior al tratamiento. Se necesitan temperaturas por encima de 100°C, sin embargo, esto provoca cambios no deseables en la leche: pH disminuido, precipitación de calcio, desnaturalización de proteínas, oscurecimiento de Maillard y modificación de caseína; estos cambios son importantes y afectan a las características sensoriales, valor nutricional, susceptibilidad de ensuciar los intercambiadores de calor y formación de sedimentos.

30 El tratamiento a temperaturas ultra-elevadas (UHT) es bien conocido en la técnica anterior como un procedimiento de flujo continuo, en el que la leche es calentada por encima de 135°C, mantenida durante aproximadamente 4 segundos, rápidamente enfriada y asépticamente envasada. El UHT puede implicar el uso de intercambiadores de calor tradicionales para calentar y enfriar la leche (UHT indirecta) o mezclar directamente leche y vapor de agua, seguido de enfriamiento para separar el vapor de agua condensado (UHT directo). La leche UHT experimenta menos reacciones químicas que la leche esterilizada, dando lugar a un producto que es más blando, tiene un sabor menos acaramelado, tiene una desnaturalización reducida de proteínas de suero y una pérdida reducida de vitaminas sensibles al calor. Incluso así, el desarrollo de sabores extraños, especialmente sabor u oxidados durante el almacenamiento es el factor más importante que limita la aceptación de la leche UHT. Este desarrollo de sabores extraños está asociado con reacciones y cambios químicos (por ejemplo, reacción y oscurecimiento de Maillard) que se producen durante el tratamiento y que continúan en el posterior almacenamiento.

Otro tipo de tratamiento con calor se describe en el documento WO 98/07.328, en el que un líquido como leche fría es calentado a 150°C durante 1/100 segundos. Este tratamiento con claro se describe que es más suave sobre la leche tratada que el tratamiento UHT, pero no es tan efectivo cuando se trata de destruir microorganismos.

5 Rysstad et al. ("Extended shelf life milk advances in technology", International journal of dairy technology, vol. 59, no. 2, 2 de mayo de 2006, páginas 85-96) describe un sistema de infusión de vapor de agua para producir leche EL, que eleva la temperatura de la alimentación de leche hasta una temperatura de 130-145°C en menos de 0,2 segundos, mantiene la temperatura de la leche dentro de ese intervalo durante menos de 1 segundo y enfría la leche mediante enfriamiento súbito en menos de 0,3 segundos.

10 El documento US 6.372.276 B1 describe un método para producir un producto de leche de larga vida en almacenamiento prolongada mediante microfiltración de una alimentación de leche para separar algunos de los microorganismos y posteriormente calentar la leche filtrada a una temperatura de aproximadamente 78°C a aproximadamente 121°C durante aproximadamente 4 a aproximadamente 15 segundos. El documento US 6.372.276 B1 establece claramente que la alimentación de leche no es calentada por encima de 121°C durante el tratamiento.

15 El documento NL 1.014.900 C2 describe un método para tratar leche calentándola rápidamente a una temperatura de 160-180°C y enfriando inmediatamente la leche de forma que el líquido se mantenga a esta temperatura durante aproximadamente 0,1-0,2 s.

Sumario de la invención

20 Un objeto de la presente invención es proporcionar leche o productos relacionados con la leche de larga vida en almacenamiento que tienen un sabor mejorado y, particularmente, un sabor cocinado reducido así como a métodos para producir estos productos de leche o relacionados con la leche y a instalaciones de tratamiento de leche para realizar dichos métodos.

25 Otro objeto de la presente invención es proporcionar productos de leche o relacionados con la leche de larga vida en almacenamiento que, con relación a la leche de larga vida en almacenamiento de la técnica anterior, son más sanos para los consumidores cuando los ingieren, así como a método para producir estos productos de leche o relacionados con la leche mejorados y a instalaciones de tratamiento de la leche para realizar dichos métodos.

Los presente inventores han encontrado que la combinación de la supresión de microorganismos mediante separación física y tratamiento con calor a una temperatura en el intervalo de 140-180°C durante un período como máximo de 200 microsegundos mejora sorprendentemente el sabor del producto de leche de largar vida en almacenamiento resultante con relación a un producto de leche en el que se haya omitido la etapa de separación física.

30 Los inventores han encontrado adicionalmente que la combinación reduce sorprendentemente el grado de desnaturalización de beta-lactoglobulina. El grado de desnaturalización de beta-lactoglobulina es un indicador de la desnaturalización y bio-inactivación de las otras proteínas del suero de leche. Un bajo grado de desnaturalización indica una cantidad mayor de proteínas bioactivas y, por lo tanto, un producto de leche de larga vida en almacenamiento más sano que el obtenido en productos de tipo de larga vida en almacenamiento de la técnica anterior.

35 Se describen seguidamente objetos y ventajas adicionales de la invención.

Un aspecto de la invención se refiere a un método para producir un producto de leche o relacionado con la leche, en que el producto de leche o relacionado con la leche contiene D unidades/ml formadoras de colonias, comprendiendo el método las etapas de:

a) proporcionar un derivado de leche,

40 b) separar físicamente microorganismos a partir de dicho derivado de leche, obteniendo así un derivado de leche parcialmente esterilizado, y

45 c) exponer una primera composición que comprende dicho derivado de leche parcialmente esterilizado a un tratamiento a temperatura elevada (HT), en que la primera composición es calentada a una temperatura en el intervalo de 140-180°C, mantenida en ese intervalo de temperaturas durante un período como máximo de 200 milisegundos y finalmente enfriada.

El método de la invención puede ser realizado usando una instalación de tratamiento de leche para convertir un derivado de leche en un producto de leche o relacionado con la leche que tiene una larga vida en almacenamiento, comprendiendo dicha instalación:

- una sección de separación física adaptada para separar microorganismos del derivado de leche,
- 5 - una sección de tratamiento con HT en comunicación fluida con dicha sección de separación física, en que la sección de tratamiento HAT está adaptada para calentar el producto líquido de la sección de separación física a una temperatura en el intervalo de 140-180°C durante un período como máximo de 200 milisegundos y enfriar posteriormente el producto líquido, y
- 10 - una sección de envasado para envasar el producto de la instalación de tratamiento de leche, en que la sección de envasado está en comunicación fluida con la sección de tratamiento con HT.

En el contexto de la presente invención, la expresión "Y y/o X" significa "Y" o "X" o "Y y X". Dentro de la misma línea lógica, las expresiones " n_1, n_2, \dots, n_{j-1} o n_j " significa " n_1 " o " n_2 " o ... o " n_{j-1} " o " n_j " o cualquier combinación de los componentes n_1, n_2, \dots, n_{j-1} y n_j .

- 15 En el contexto de la presente invención, la expresión "producto de leche o relacionado con la leche" se refiere a productos basados en la leche que pueden contener muchos, si no la totalidad, de los componentes de la leche desnatada y, opcionalmente, puede contener diversas cantidades de grasa de leche y, posiblemente, también aditivos no lácteos como sabores no lácteos, edulcorantes, minerales y/o vitaminas.

- 20 La expresión "larga vida en almacenamiento", cuando se usa en el contexto de la presente invención, se refiere a productos que tienen vidas en almacenamiento más largas que la leche ordinariamente pasteurizada. Ejemplos de la duración de la vida en almacenamiento y los ensayos para medir la vida en almacenamiento real de la leche o producto relacionado con la leche se describen en la presente memoria descriptiva. En el contexto de la presente invención, la expresión "vida en almacenamiento prolongada" o ESL se usa como un sinónimo para "larga vida en almacenamiento".

Breve descripción de las figuras

- 25 La figura 1 muestra un diagrama de flujo de una realización del método de la invención y es también una exposición de una instalación útil de tratamiento de la leche. Se usan las siguientes abreviaturas. PHE: placa de intercambio de calor para precalentar; DSI (UHT): inyección directa de vapor de agua (esterilización a temperaturas ultra-elevadas); IIS: sistema de infusión instantánea (por ejemplo, aparato de infusión directa de vapor de agua APV); LSI: inyección favorable de vapor de agua (por ejemplo, inyector de vapor de agua GEA/NIRO Saniheat). My: micrómetros.
- 30 Las figuras 2a-c muestran algunos componentes que pueden ser usados para la microfiltración. 2a: membranas tubulares de cerámica Isoflux que comprenden múltiples canales con una longitud de 500-2000 mm y un tamaño de poros de 0,8 micrómetros; 2b: se muestra un ejemplo de una membrana tubular en lección transversal a la izquierda; 2c: diagrama de un alojamiento diseñado para su finalidad (cárter) para membranas tubulares, que muestra la altura del cárter correspondiente a la longitud de la membrana tubular (1); entrada (2) y salida (3).
- 35 La figura 3 muestra un gráfico del sabor cocinado encontrado en la leche o producto relacionado con la leche de la presente invención en comparación con la leche ESL y UHT de la técnica anterior.

La figura 4 muestra un gráfico del grado de desnaturalización de beta-lactoglobulina encontrado en la leche o producto relacionado con la leche de la presente invención en comparación con leche ESL y UHT de la técnica anterior.

Descripción detallada de la invención

- 40 Como se describió anteriormente, un aspecto de la invención se refiere a un método para producir un producto de leche o relacionado con la leche, en que el producto de leche o relacionado con la leche contiene D unidades/ml formadoras de colonias, comprendiendo el método las etapas de:

a) proporcionar un derivado de leche,

b) separar físicamente microorganismos de dicho derivado de leche, obteniendo así un derivado de leche parcialmente esterilizado¹,

5 c) exponer una primera composición que comprende dicho derivado de leche parcialmente esterilizado¹ a un tratamiento a temperatura elevada (HT), en que la primera composición es calentada a una temperatura en el intervalo de 140-180°C, mantenido a ese intervalo de temperaturas durante un período de como máximo 200 milisegundos y seguidamente es finalmente enfriada.

Preferentemente, el método se realiza como un procedimiento continuo y, por ejemplo, en una instalación de tratamiento de leche como se describe en la presente memoria descriptiva.

10 Los presentes inventores han encontrado que los productos de leche o relacionados con la leche proporcionados por el método anteriormente mencionados tienen un sabor cocinado reducido en relación a los productos de leche o relacionados con la leche que han sido expuestos a un tratamiento con HT sin separación física previa de microorganismos. Los productos de leche o relacionados con la leche, por lo tanto, tienen un sabor más fresco que los productos de leche comparables de la técnica anterior.

15 Adicionalmente, los presentes inventores han encontrado que los productos de leche o relacionados con la leche proporcionados mediante el método de la invención tienen un porcentaje sorprendentemente inferior de beta-lactoglobulina desnaturalizada que los productos de leche o relacionados con la leche que han sido expuestos a un tratamiento con HT sin separación física previa de microorganismos.

20 Todavía, una ventaja de la presente invención es que proporciona una leche de sabor fresco más favorable para el CO₂. Debido a su larga vida en almacenamiento y resistencia a temperaturas superiores, los presentes productos de leche o relacionados con la leche pueden ser transportados a temperatura ambiente en lugar de a 5°C. Las logísticas a bajas temperaturas consumen mucha energía y normalmente requieren un transporte de un número relativamente más elevado de pequeñas cargas enfriadas de producto que un ajuste logístico comparable a temperatura ambiente. Los productos de leche o relacionados con la leche de la presente invención, por tanto, pueden ser producidos y transportados a los minoristas con una menor emisión de CO₂ que los productos de leche de la técnica anterior que tienen un sabor fresco similar.

25 En una realización preferida de la invención, el método comprende además la etapa de:

d) envasar una segunda composición que comprende la primera composición tratada por HT.

30 Como resultará claro para el experto en la técnica, el método puede contener una o más etapa(s) adicional(es) como una etapa de homogeneización, una etapa de almacenamiento, una etapa de mezclado, una etapa de ajuste de la temperatura, una etapa de pasteurización, una etapa de termización, una etapa de centrifugación, así como sus combinaciones.

35 Los presentes inventores han encontrado adicionalmente que el método de la invención aumenta sorprendentemente el tiempo de una instalación de tratamiento de leche, en la que el método ha sido realizado, puede funcionar antes de que la instalación tenga que ser limpiada. Esto es percibido como ventajoso y permite ahorros de costes en la producción de los productos de leche. Se cree que la separación física y supresión de microorganismos durante la etapa b) reduce significativamente la formación de biopelículas en dirección descendente en la instalación, que reduce y/o retrasa nuevamente la necesidad de limpieza.

40 El derivado de leche proporcionado en la etapa a) es preferentemente un derivado de leche líquido. Como se usa en la presente memoria descriptiva, la expresión "derivado de leche" incluye leche entera, leche desnatada, leche exenta de grasas, leche de bajo contenido en grasas, leche con toda su grasa, leche exenta de lactosa o con contenido reducido de lactosa (producida hidrolizando la lactosa mediante enzima lactasa a glucosa y galactosa, o mediante otros métodos como tecnologías de nanofiltración, electrodiálisis, cromatografía de intercambio iónico y centrifugación), leche concentrada o leche seca.

45 La leche exenta de grasa es un producto de leche no grasa o desnatada. La leche con bajo contenido de grasas se define normalmente como leche que contiene de aproximadamente 1% a aproximadamente 2% de grasa. La leche con bajo contenido de grasas se define normalmente como leche que contiene de aproximadamente 1% a aproximadamente 2% de grasa. La leche con todo el contenido de grasas a menudo contiene aproximadamente 3,25% de grasa. Como se usa en la presente memoria descriptiva, el término "leche" está previsto que abarque también leches

de fuentes animales y vegetales.

Las fuentes animales incluyen, pero sin limitaciones, seres humanos, vacas, ovejas, cabras, búfalo, camello, llama, yegua y ciervo.

En una realización preferida de la invención, el derivado de leche comprende leche bovina.

- 5 Las fuentes vegetales de leche incluyen, pero sin limitación, leche extraída de soja. Además, la expresión “derivado de leche” se refiere no solamente a leche entera, sino también leche desnatada o cualquier componente líquido derivado de la misma, como lactosuero o suero de leche. Mediante “lactosuero” o “suero de leche” se quiere indicar el componente de leche que permanece después de que la totalidad o una parte sustancial de la grasa de la leche y la caseína contenida en la leche son separadas. El término lactosuero abarca también el denominado suero de leche dulce, que es el subproducto de la producción de queso basada en el cuajo, y lactosuero ácido, que es el subproducto de la acidificación de la leche que tiene lugar normalmente durante la producción de caseinato o cuajada y leche cremosol.

En una realización de la invención, el derivado de leche de la etapa a) comprende como máximo 60% p/p de grasa de leche. Un ejemplo de este derivado de leche es la nata para montar.

- 15 En otra realización de la invención, el derivado de leche de la etapa a) comprende como máximo 40% p/p de grasa de leche. Un ejemplo de este derivado de leche es la nata montada.

Todavía, en otra realización de la invención, el derivado de leche de la etapa a) comprende como máximo 20% p/p de grasa de leche. Un ejemplo de este derivado de leche es nata líquida/media crema que contiene aproximadamente 18% p/p de grasa de leche.

- 20 En una realización adicional de la invención, el derivado de leche de la etapa a) comprende como máximo 4% p/p de grasa de leche. Un ejemplo de este derivado de leche es una leche con grasa completa que contiene normalmente 2-4% p/p de grasa de leche y, preferentemente, aproximadamente 3% p/p de grasa de leche.

- 25 En una realización adicional de la invención, el derivado de leche de la etapa a) comprende como máximo 2% p/p de grasa de leche. Un ejemplo de este derivado de leche es la leche semidesnatada que contiene normalmente 0,7-2% p/p de grasa de leche y, preferentemente, 1-1,5 p/p de grasa de leche.

En una realización adicional de la invención, el derivado de leche de la etapa a) comprende como máximo 0,7 p/p de grasa de leche. Un ejemplo de este derivado de leche es la leche desnatada que contiene normalmente 0,1-0,7% p/p de grasa de leche y, preferentemente, 0,2-0,6% p/p de grasa de leche, como aproximadamente 0,5% p/p de grasa de leche.

- 30 En una realización preferida de la invención, el derivado de leche de la etapa a) comprende como máximo 0,1% p/p de grasa de leche. Un ejemplo de este derivado de leche es la leche desnatada que tiene un contenido de grasa en el intervalo de 0,05-0,1% p/p. Esta realización es particularmente preferida cuando la separación física de la etapa b) incluye microfiltración.

- 35 En el contexto de la presente invención, cuando una composición se dice que comprende, contiene o tiene X% (p/p) de un componente especificado, el porcentaje en peso del componente especificado se calcula con relación al peso total de la composición, salvo que se establezca otra cosa.

En una realización particularmente preferida de la invención, el derivado de leche de la etapa a) comprende leche con contenido reducido de lactosa. El derivado de leche puede consistir, por ejemplo, en leche con contenido reducido de lactosa.

- 40 En el contexto de la presente invención, la expresión “leche con contenido reducido de lactosa” se refiere a una leche que comprende como máximo 0,5 g de lactosa por kg de leche. Puede ser incluso preferido que el derivado de leche esté exento de lactosa. En el contexto de la presente invención, la expresión “leche exenta de lactosa” se refiere a una leche que comprende como máximo 0,05 g de lactosa por kg de leche.

En una realización preferida de la invención, el derivado de leche de la etapa a) comprende 2,5-4,5% p/p de caseína.

na, 0,25-1% p/p de proteína de suero de leche y 0,01-3% p/p de grasa de leche. En una realización incluso más preferida de la invención, el derivado de leche de la etapa a) con comprende 2,5-4,5% p/p de caseína, 0,25-1% p/p de proteína de suero de leche y 0,01-0,1% p/p de grasa de leche.

5 El método de la invención puede ser usado preferentemente para tratar un derivado de leche fresca, es decir, un derivado de leche basado en leche que ha sido recientemente ordeñado de la fuente del derivado de leche, por ejemplo, de vacas. Por ejemplo, puede ser preferido que el derivado de leche sea como máximo de 48 horas de antigüedad, es decir, como máximo 48 horas desde el ordeño, y más preferentemente como máximo de 36 horas de antigüedad, tal como un máximo de 24 horas de antigüedad.

10 Es preferido que el derivado de leche sea de buena calidad y normalmente el derivado de leche comprende como máximo 100.000 unidades formadoras de colonias (dfu)/ml, preferentemente como máximo 50.000 dfu/ml e incluso más preferentemente como máximo 25.000 dfu/ml. Puede ser incluso preferido que el derivado de leche comprenda como máximo 10.000 dfu/ml. como un máximo de 7.500 dfu/ml.

El derivado de leche de la etapa a) puede comprender uno o más aditivos. Por ejemplo, el uno o más aditivos pueden contener un sabor. Los sabores útiles son, por ejemplo, fresa, chocolate, banana, mango y/o vainilla.

15 Alternativamente, o adicionalmente, el uno o más aditivos pueden contener una o más vitaminas. Las vitaminas útiles son, por ejemplo, vitamina A y/o vitamina D. Pueden ser útiles también otras vitaminas como vitamina B, C y/o E.

20 Alternativamente, o adicionalmente, el uno o más aditivos pueden contener también uno o más minerales. Un ejemplo de un mineral útil es el complemento mineral para leche Capolac MM-0525 (Arla Foods Ingredients Amba, Dinamarca). Otro aditivo útil es proteína de lactosuero.

En una realización referida de la invención, el derivado de leche de la etapa a) ha sido pasteurizado y posiblemente también homogeneizado.

25 La etapa b) del presente método implica separar físicamente microorganismos del derivado de leche y obtener así un derivado de leche parcialmente esterilizado. Esta separación separa realmente microorganismos del derivado de leche, contrariamente a otras técnicas de esterilización que solo matan los microorganismos y dejan los microorganismos muertos en la leche.

En el contexto de la presente invención, el término "microorganismos" se refiere, por ejemplo, a bacterias y esporas bacterianas, levaduras, mohos y esporas fúngicas.

30 La separación física puede separar, por ejemplo, al menos un 90% de los microorganismos del derivado de leche, preferentemente al menos un 95% de los microorganismos e incluso más preferentemente al menos un 99% de los microorganismos del derivado de leche.

En una realización de la invención, la separación física de la etapa b) implica la bactofugación de dicho derivado de leche.

35 En otra realización de la invención, la separación física de la etapa b) implica la microfiltración de dicho derivado de leche.

En una realización preferida de la invención, la microfiltración se realiza usando un filtro que tiene un tamaño de poros en el intervalo de 0,5-1,5 micrómetros, preferentemente en el intervalo de 0,6-1,4 micrómetros, incluso más preferentemente en el intervalo de 0,8-1,2 micrómetros.

40 Estos intervalos de tamaños se ha encontrado que son ventajosos ya que retienen la mayor parte de los microorganismos del derivado de leche sin alteración sustancial de la composición de proteínas del derivado de leche.

En una realización de la invención, el microfiltro usado es un microfiltro de flujos cruzados.

Se puede encontrar un sistema de microfiltración adecuado, por ejemplo, en el manual Tetra Pak Dairy processing Handbook 2003 (ISBN 91-631-3427-7) que se incorpora como referencia a la presente memoria descriptiva para

todos los fines.

Todavía, en una realización de la invención, la separación física de la etapa b) implica tanto la bactofugación como la microfiltración de dicho derivado de leche.

5 En una realización de la invención, la bactofugación comprende el uso de al menos un bactofugo, preferentemente al menos dos bactofugos en serie, e incluso más preferentemente al menos tres bactofugos en serie.

La separación física se realiza preferentemente a temperatura ambiente, por debajo o ligeramente por encima. Por tanto, la temperatura del derivado de leche puede ser como máximo de 60°C durante la separación física, por ejemplo, como máximo 40°C, tal como un máximo de 20°C o como máximo 10°C.

10 La temperatura del derivado de leche durante la separación física puede estar, por ejemplo, en el intervalo de 2-60°C y, preferentemente, en el intervalo de 25-50°C.

Se pueden encontrar bactofugos adecuados, que incluyen bactofugos de una fase o de dos fases, por ejemplo, en el manual Tetra Pak Dairy processing Handbook 2003 (ISBN 91-631-3427-6), que se incorpora como referencia a la presente memoria descriptiva para todos los fines.

15 La etapa c) del método implica exponer una primera composición que comprende dicho derivado de leche parcialmente esterilizado¹ a un tratamiento a temperaturas elevadas (HT). La primera composición es calentada a una temperatura en el intervalo de 140-180°C, es conservada o mantenida a esa temperatura durante un período como máximo de 200 milisegundos y seguidamente es finalmente enfriada.

En una realización de la invención, la primera composición consiste en el derivado de leche parcialmente esterilizado¹ de la etapa a).

20 Sin embargo, en otra realización de la invención, al derivado de leche parcialmente esterilizada se han añadido uno o más aditivos, por ejemplo, una grasa de leche, antes del tratamiento con HT y en este caso la primera composición comprende el uno o más aditivos (por ejemplo, grasa de leche) y el derivado de leche parcialmente esterilizado¹.

25 En otra realización de la invención, la primera composición comprende al menos 50% (p/p) de derivado de leche parcialmente esterilizado¹ de la etapa b), preferentemente al menos 75% (0/0) de derivado de leche parcialmente esterilizada e incluso más preferentemente al menos 85% (p/p) de derivado de leche parcialmente esterilizada. Por ejemplo, la primera composición puede comprender al menos 90% (p/p) de derivado de leche parcialmente esterilizada de la etapa b), preferentemente al menos 95% (p/p) de derivado de leche parcialmente esterilizada e incluso más preferentemente al menos 97,5% (p/p) de derivado de leche parcialmente esterilizada.

30 La primera composición comprende normalmente agua y puede comprender, por ejemplo, al menos 50% (p/p) de agua, preferentemente al menos 70% (p/p) de agua e incluso más preferentemente al menos 80% (p/p) de agua. Por ejemplo, la primera composición puede comprender al menos 85% (p/p) de agua, preferentemente al menos 90% (p/p) de agua e incluso más preferentemente al menos 95% (p/p) de agua.

En una realización preferida de la invención, la primera composición comprende adicionalmente una o más fuentes de lípidos.

35 Las una o más fuentes de lípidos pueden comprender, por ejemplo, una grasa vegetal y/o un aceite vegetal. Además, es posible que las una o más fuentes de lípidos consistan en una grasa vegetal y/o un aceite vegetal. Esto es normalmente el caso cuando la leche o el producto relacionado con la leche es una denominada leche complementada, es decir, un producto de leche en el que al menos una parte de la leche original a sido sido sustituida con una fuente de lípidos no lácteos como un aceite vegetal o grasa vegetal.

40 El aceite vegetal puede comprender, por ejemplo, uno o más aceites seleccionados entre el grupo que consiste en aceite de girasol, aceite de maíz, aceite de sésamo, aceite de soja, aceite de palma, aceite de linaza, aceite de semillas de uva, aceite de oliva, aceite de cacahuete y sus combinaciones.

Si se desea una grasa vegetal, la grasa vegetal puede comprender, por ejemplo, una o más grasas seleccionadas entre el grupo que consiste en grasa vegetal basada en aceite de palma, grasa vegetal basada en aceite de semilla

de palma, manteca de cacahuete, manteca e cacao, manteca de coco y sus combinaciones.

En una realización preferida de la invención, las una o más fuentes de lípidos comprende(n), o incluso consiste(n) en una fuente de grasa de leche.

5 La fuente de grasa de leche puede comprender, por ejemplo, una o más fuentes de lípidos seleccionadas entre el grupo que consiste en una crema, nata líquida, una grasa de manteca anhidra, una crema de lactosuero, un aceite de manteca, una fracción de aceite de manteca o sus combinaciones.

10 La producción de leche de larga vida en almacenamiento implica el tratamiento UHT de la fracción de grasa de leche de la leche. Los presentes inventores han encontrado que incluso aunque la grasa de leche tratada mediante UHT, por ejemplo, crema, solamente es añadida a la leche de larga vida en almacenamiento en cantidades relativamente pequeñas, todavía puede contribuir a un sabor cocinado no deseado. Los presentes inventores han encontrado adicionalmente que se puede exponer la grasa de leche, por ejemplo, crema, a un tratamiento térmico más suave del que normalmente se hace sin pérdida de la larga vida en almacenamiento de la leche.

15 Por tanto, en una realización preferida de la invención, la una o más fuentes de lípidos, por ejemplo, la fuente de grasa de leche, como crema, han sido tratadas a una temperatura en el intervalo de 70-100°C durante un período de 2-200 segundos. Por ejemplo, las una o más fuentes de lípidos pueden ser tratadas con calor a una temperatura en el intervalo de 70-85°C durante un período de 100-200 segundos. Alternativamente, las una o más fuentes de lípidos pueden ser tratadas con calor a una temperatura en el intervalo de 85-100°C durante un período de 2-100 segundos.

20 En otra realización preferida de la invención, las una o más fuentes de lípidos, por ejemplo, la fuente de grasa de leche, como crema, han sido tratadas a una temperatura en el intervalo de 100-180°C durante un período de 10 milisegundos - 4 segundos.

Por ejemplo, las una o más fuentes de lípidos pueden ser tratadas con calor a una temperatura en el intervalo de 100-130°C durante un período de 0,5-4 segundos. Alternativamente, las una o más fuentes de lípidos pueden ser tratadas con calor a una temperatura en el intervalo de 130-180°C durante un período de 10 milisegundos - 0,5 segundos.

25 Alternativamente, el tratamiento con HT descrito en el contexto de la etapa c) puede ser usado, por ejemplo, para un tratamiento con calor separado de las una o más fuentes de lípidos.

El tratamiento con HT de la etapa c) implica calentar la primera composición a una temperatura en el intervalo de 140-180°C, preferentemente 145-170°C e incluso más preferentemente 150-160°C.

30 En una realización de la invención, el tratamiento con HT de la etapa c) implica calentar la primera composición a una temperatura en el intervalo de 140-170°C, preferentemente 145-160°C e incluso más preferentemente 150-155°C.

En otra realización de la invención, el tratamiento con HT de la etapa c) implica calentar la primera composición a una temperatura en el intervalo de 150-180°C, preferentemente 155-170°C e incluso más preferentemente 160-165°C.

35 Todavía, en una realización de la invención, la primera composición tiene una temperatura en el intervalo de 70-75°C cuando se proporciona a la etapa c).

A la elevada temperatura del tratamiento con HT puede variar, por ejemplo, como máximo +/-2°C desde la temperatura prevista, preferentemente como máximo +/-1°C e incluso más preferentemente como máximo +/-0,5°C, tal como un máximo de +7-0,25°C.

40 En una realización preferida de la invención, la primera composición es mantenida en el intervalo de temperaturas HT durante un período de como máximo 200 milisegundos, preferentemente como máximo 150 milisegundos e incluso más preferentemente como máximo 100 milisegundos.

Por ejemplo, la primera composición puede ser mantenida en el intervalo de temperaturas HT durante un período de 10-200 milisegundos, preferentemente 25-150 milisegundos e incluso más preferentemente 30-100 milisegundos.

En otra realización de la invención, la primera composición es mantenida en el intervalo de temperaturas de tratamiento con HT durante un período de 10-100 milisegundos, preferentemente 25-90 milisegundos e incluso más preferentemente 37-70 milisegundos.

5 La relación entre los parámetros del procedimiento y el tiempo en el que la primera composición es mantenida en el intervalo de temperaturas del tratamiento con HT, denominado a veces el “tiempo de mantenimiento”, es proporcionada normalmente por el fabricante de la instalación.

Si no, el tiempo de mantenimiento puede ser determinado como se indica a continuación:

1. Se calcula la capacidad calorífica de la alimentación a partir de la primera composición a través de fórmulas empíricas

10 2. Se calcula la energía necesaria (kg/h de vapor de agua) para elevar la temperatura de la alimentación desde la temperatura de precalentamiento hasta la temperatura deseada del tratamiento con calor

3. Se calcula el vapor de agua en exceso (usado para el transporte) sustrayendo el flujo de vapor de agua de calentamiento necesario a partir del flujo de vapor de agua total

4. Se determina el volumen exacto de la célula de mantenimiento

15 5. Se determinan las velocidades de flujo volumétrico de material en y a través de la unidad del procedimiento, incluyendo cualesquiera cambios volumétricos (por ejemplo, condensación del vapor de agua de calentamiento)

6. Se calcula el tiempo de mantenimiento dividiendo el volumen de la célula de mantenimiento por la velocidad de flujo volumétrico.

20 En una realización preferida de la invención, la duración del tratamiento con HT, incluyendo calentamiento, mantenimiento y enfriamiento de la primera composición, es como máximo de 500 milisegundos, preferentemente como máximo 300 milisegundos e incluso más preferentemente como máximo 200 milisegundos, como un máximo de 150 milisegundos.

25 Por ejemplo, la duración del tratamiento con HT, incluido el calentamiento, mantenimiento y enfriamiento de la primera composición, se puede calcular como la duración del (o de los) períodos(s) en el (o los) que la temperatura de la primera composición es de al menos 95°C.

El enfriamiento de la etapa c) enfría preferentemente la primera composición a una temperatura como máximo de 90°C, como un máximo de 70°C. En una realización de la invención, la primera composición es enfriada a una temperatura en el intervalo de 2-90°C, preferentemente en el intervalo de 70-90°C e incluso más preferentemente en el intervalo de 72-85°C.

30 En una realización preferida de la invención, la duración del enfriamiento del tratamiento con HT es como máximo de 50 milisegundos, preferentemente como máximo 10 milisegundos e incluso más preferentemente como máximo 5 milisegundos, tal como 1 milisegundo.

35 El calentamiento del tratamiento con HT de la etapa c) debe ser capaz de aumentar rápidamente la temperatura de la primera composición. Estos aumentos rápidos de la temperatura se pueden realizar poniendo en contacto la primera composición con vapor de agua. Por tanto, en una realización preferida de la invención, el calentamiento del tratamiento con HT se realiza poniendo en contacto la primera composición con vapor de agua. Por tanto, en una relación preferida de la invención, el calentamiento del tratamiento con HT se realiza poniendo en contacto la primera composición con vapor de agua. Hay diferentes técnicas disponibles para poner en contacto la primera composición con vapor de agua. Una de éstas es la inyección directa de vapor de agua, en que el vapor de agua es inyectado en el líquido que va a ser calentado. Otra técnica es la infusión de vapor de agua, en la que el líquido es infundido en una cámara rellena de vapor de agua.

40 La temperatura del vapor de agua es normalmente algo mayor que la temperatura de tratamiento deseada del tratamiento con HT, por ejemplo, como máximo 10°C mayor que la temperatura de tratamiento deseada del tratamiento con HT, preferentemente como máximo 5°C mayor, o incluso más preferentemente como máximo 3°C mayor.

Por ejemplo, el calentamiento del tratamiento con HT puede comprender poner en contacto la primera composición con vapor de agua, y debe apreciarse que otras fuentes de energía pueden contribuir al calentamiento también.

5 En una realización de la invención, el calentamiento del tratamiento con HT comprende, o consiste en exponer la primera composición a una energía electromagnética. Ejemplos de energía electromagnética útil son radiación IR y/o radiación microondas.

Es importante también que la primera composición calentada se enfríe rápidamente como parte del tratamiento con HT, y en una realización preferida de la invención, el enfriamiento del tratamiento con HT comprende o consiste en un enfriamiento súbito.

10 El el contexto de la presente invención, la expresión “enfriamiento súbito” es el enfriamiento obtenido introduciendo, por ejemplo, pulverizando un líquido caliente o aerosol en una cámara de vacío, con lo que partes del líquido se evaporan y enfrían rápidamente el líquido restante.

Ejemplos de sistemas de tratamiento con HT útiles son, por ejemplo, el sistema Saniheat®, Gea Niro (Dinamarca), el sistema Linient Steam Injection (LSI®) de Gea Niro (Dinamarca) o el sistema Instant Infusion System (IIS) de Inven-sys APV (Dinamarca).

15 Ejemplos de sistemas de tratamiento con HT útiles se encuentran, por ejemplo, en las solicitudes de patentes internacionales WO 2006/123.047 A1 y 29 98/07.328, que se incorporan ambas como referencia a la presente memoria descriptiva para todos los fines.

20 Se encuentran aspectos generales de tratamiento a temperaturas elevadas, por ejemplo, en la publicación “Thermal technologies in food processing”, ISBN 185573558 X, que se incorpora como referencia a la presente memoria descriptiva para todos los fines.

El envasado de la etapa d) puede ser cualesquiera técnicas de envasado adecuadas y se puede usar cualquier recipiente adecuado para envasar la leche o producto relacionado con la leche de la invención.

25 Sin embargo, en una realización preferida de la invención, el envasado de la etapa d) es un envasado aséptico, es decir, la leche o producto relacionado con la leche es envasado bajo condiciones asépticas. Por ejemplo, el envasado aséptico se puede realizar usando un sistema de relleno aséptico, y éste implica preferentemente rellenar la leche en uno o más recipiente(s) aséptico(s).

Ejemplos de recipientes útiles son, por ejemplo, botellas, cartones, bricks y/o bolsas.

30 El envasado se realiza preferentemente a temperatura ambiente o por debajo de ella. Por tanto, la temperatura de la segunda composición es preferentemente como máximo de 30°C durante el envasado, preferentemente un máximo de 25°C e incluso más preferentemente como máximo 20°C, como un máximo de 10°C.

La temperatura de la segunda composición durante el envasado puede estar, por ejemplo, en el intervalo de 2-30°C y, preferentemente, en el intervalo de 5-25°C.

35 En una realización de la invención, la segunda composición comprende al menos 50% (p/p) de la primera composición tratada mediante HT de la etapa c), preferentemente al menos un 75% (p/p) de la primera composición tratada mediante HT de la etapa c) e incluso más preferentemente al menos un 85% (p/p) de la primera composición tratada mediante HT de la etapa c). Por ejemplo, la segunda composición puede comprender al menos un 90% (p/p) de la primera composición tratada mediante HT de la etapa c), preferentemente al menos un 95% (p/p) de la primera composición tratada mediante HT de la etapa c) e incluso más preferentemente al menos un 97,5% (p/p) de la primera composición tratada mediante HT de la etapa c).

40 La segunda composición comprende normalmente agua y puede comprender, por ejemplo, al menos un 50% (p/p) de agua, preferentemente al menos un 60% (p/p) de agua e incluso más preferentemente al menos un 70% (p/p) de agua. Por ejemplo, la segunda composición puede comprender al menos 75% (p/p) de agua, preferentemente al menos 80% (p/p) de agua e incluso más preferentemente al menos 85% (p/p) de agua.

En una realización preferida de la invención, la segunda composición comprende al menos 90% (p/p) de agua.

Adicionalmente, la segunda composición puede contener los mismos aditivos que el derivado de leche y/o la primera composición.

5 Para productos de leche de larga vida en almacenamiento, la actividad enzimática no deseada puede ser tan problemática como el crecimiento microbiano y, por lo tanto, es preferido que el método de la invención comprenda también una etapa de inactivación enzimática.

En una realización preferida de la invención, dicha etapa de inactivación enzimática comprender mantener el líquido que va a ser tratado a una temperatura en el intervalo de 70-90°C durante período en el intervalo de 30-500 segundos.

10 Por ejemplo, el líquido puede ser mantenido a una temperatura en el intervalo de 70-80°C durante un período en el intervalo de 30-500 segundos, preferentemente 40-300 segundos e incluso más preferentemente 50-150 segundos.

En una realización preferida de la invención, el líquido es mantenido a una temperatura en el intervalo de 70-75°C durante un período en el intervalo de 30-500 segundos, preferentemente 40-300 segundos e incluso más preferentemente 50-150 segundos.

15 Alternativamente, el líquido puede ser mantenido a una temperatura en el intervalo de 80-90°C durante un período en el intervalo de 10-200 segundos, preferentemente 25-100 segundos e incluso más preferentemente 10-50 segundos.

Este tratamiento de la temperatura ha demostrado que recude la actividad de enzimas como plasmina así como proenzimas como plasminógeno.

20 La etapa de inactivación enzimática debe reducir preferentemente la actividad combinada de plasmina y plasminógeno del líquido tratado en al menos 60% en relación a la actividad del líquido no tratado, preferentemente en al menos 65% o incluso más preferentemente en al menos 70%.

La actividad combinada es una medida de la actividad de plasmina en la leche o producto relacionado con la leche más la actividad que puede ser ganada convirtiendo plasminógeno en plasmina. La actividad combinada se determina según en análisis G del ejemplo 3

25 Algunas realizaciones de la invención requieren niveles incluso más bajos de actividad combinada de plasmina y plasminógeno y para estas realizaciones la etapa de inactivación enzimática debe reducir preferentemente la actividad combinada de plasmina y plasminógeno del líquido tratado en al menos un 80% en relación a la actividad del líquido no tratado, preferentemente en al menos 85% e incluso más preferentemente en al menos 90%.

30 En realizaciones preferidas de la invención, la etapa de inactivación enzimática debe reducir la actividad combinada de plasmina y plasminógeno del líquido tratado en al menos 95% en relación a la actividad del líquido no tratado, preferentemente en al menos 97,5% e incluso más preferentemente en al menos 99%.

En una realización de la invención, la actividad combinada de plasmina y plasminógeno de la leche o producto relacionado con la leche es como máximo de 8.000 microunidades/ml, preferentemente como máximo 5.000 microunidades/ml e incluso más preferentemente como máximo 3.000 microunidades/ml.

35 En el contexto de la presente invención, una actividad de plasmina de una unidad (U) es la actividad de plasmina que puede producir 1 micromol de p-nitroanilina por minuto a 25°C, pH 8,9, usando cromozima PL (Tosil-Gly-Pro-Lys-4-trianilidada acetato) como sustrato.

40 En otra realización de la invención, la actividad combinada de plasmina y plasminógeno de la leche o producto relacionado con la leche es como máximo de 2.500 microunidades/ml, preferentemente como máximo 2.000 microunidades/ml e incluso más preferentemente como máximo 750 microunidades/ml. Puede ser incluso preferido que la actividad combinada de plasmina y plasminógeno de la leche o producto relacionado con la leche sea como máximo de 600 microunidades/ml, preferentemente como máximo 400 microunidades/ml e incluso más preferentemente como máximo 200 microunidades/ml.

La etapa de inactivación enzimática se puede realizar durante las diferentes fases del método, por ejemplo, antes de

la separación física de microorganismos, antes del tratamiento con HT y/o antes del envasado.

En una realización de la invención, la primera composición es expuesta a la etapa de inactivación enzimática antes de la etapa c).

5 En otra realización de la invención, la segunda composición es expuesta a la etapa de inactivación enzimática antes de la etapa d).

Todavía, una realización de la invención se refiere a un método para producir una leche o producto relacionado con la leche, comprendiendo el método las etapas de:

a) proporcionar un derivado de leche que comprende al menos 95% (p/p) de leche desnatada, comprendiendo dicho derivado de leche como máximo 0,1% (p/p) de grasa de leche,

10 b) microfiltrar dicho derivado de leche usando un tamaño de poros del microfiltro de 0,8-1,2 micrómetros, obteniendo así un derivado de leche parcialmente esterilizado,

b1) mezclar el derivado de leche parcialmente esterilizado con una cantidad adecuada de crema pasteurizada,

b2) ajustar la temperatura del producto de la etapa b1) a una temperatura en el intervalo de 72-75°C durante un período de 30-300 segundos,

15 c) exponer una primera composición que comprende al menos 95% (p/p) del producto de la etapa b2) a un tratamiento con HT, en que la primera composición es calentada a una temperatura en el intervalo de 140-180°C, mantenida a esa temperatura durante un período como máximo de 200 milisegundos y seguidamente es finalmente enfriada,

20 d) envasar asépticamente una segunda composición que comprende al menos 95% (p/p) de la primera composición tratada con calor.

Otra realización de la invención se refiere a un método para producir una leche o un producto relacionado con la leche, comprendiendo el método las etapas de:

a) proporcionar un derivado de leche que comprende al menos 95% (p/p) de leche desnatada, comprendiendo dicho derivado de leche desnatada como máximo 0,1% (p/p) de grasa de leche,

25 b) microfiltrar dicho derivado de leche usando un tamaño de poros del microfiltro de 0,8-1,2 micrómetros, obteniendo así un derivado de leche parcialmente esterilizado,

b1) mezclar el derivado de leche parcialmente esterilizado con una cantidad adecuada de crema pasteurizada,

b2) ajustar la temperatura del producto de la etapa b1) a una temperatura en el intervalo de 75-85°C durante un período de 30-300 milisegundos,

30 c) exponer una primera composición que comprende al menos 95% (p/p) del producto de la etapa b2) a un tratamiento con HT, en que la primera composición es calentada a una temperatura en el intervalo de 140-180°C, mantenida a esa temperatura durante un período como máximo de 200 milisegundos y seguidamente enfriada,

d) envasar asépticamente una segunda composición que comprende al menos 95% (p/p) de la primera composición tratada con calor.

35 El método de la invención proporciona una leche o producto relacionado con la leche que tiene una larga vida en almacenamiento y un bajo nivel de sabor cocinado.

El método de la invención proporciona también una leche o producto relacionado con la leche envasado. La leche o producto relacionado con la leche puede ser envasado en un recipiente como se describe en la presente memoria descriptiva.

La vida en almacenamiento de un producto se describe normalmente como el tiempo durante el cual el producto puede ser almacenado sin que la calidad caiga por debajo de un nivel mínimo aceptable. Esta no es una definición muy nítida y exacta y depende en gran medida de la percepción de una "calidad mínima aceptable".

5 En el contexto de la presente invención, la expresión "vida en almacenamiento" significa el tiempo en el que la leche o producto relacionado con la leche puede ser almacenado, herméticamente sellado, a una temperatura específica, antes de que se produzca un acontecimiento no deseable.

10 En una realización de la invención, el acontecimiento no deseable es que la leche o producto relacionado con la leche se encuentra que es no estéril. Una leche o producto relacionado con la leche no estéril es un producto que no contiene microorganismos capaces de crecer en el producto en condiciones normales no refrigeradas a las que el alimento es probable que sea mantenido durante la fabricación, distribución y almacenamiento. La no esterilidad y la presencia o crecimiento microbiano pueden ser detectados, por ejemplo, según Marth, E. H., ed. 1978 en "Standard methods for the examination of dairy products". Am. Publ. Health Assoc., Washington, DC.

15 Los péptidos hidrófobos, que son productos de degradación proteolítica de las proteínas de la leche, se conoce que dan lugar a un sabor amargo no deseable. Por tanto, en una realización de la invención, el acontecimiento no deseable es que la leche o producto relacionado con la leche se encuentra que contiene al menos 1 mg/l de péptidos hidrófobos que tienen un peso molar en el intervalo de 500-3000 g/mol, tal como al menos 20 mg/l, o como al menos 50 mg/l de péptidos hidrófobos que tienen un peso molar en el intervalo de 500-3000 g/mol.

20 En otra realización de la invención, el acontecimiento no deseable es que la leche o producto relacionado con la leche se encuentra que contiene al menos 100mg/l de péptidos hidrófobos que tienen un peso molar en el intervalo de 500-3000 g/mol, como al menos 200 mg/l o como al menos 500 mg/l de péptidos hidrófobos que tienen un peso molar en el intervalo de 500-3000 g/mol.

25 En una realización adicional de la invención, el acontecimiento no deseable es que la leche o producto relacionado con la leche se encuentra que contiene al menos 750 mg/l de péptidos hidrófobos que tienen un peso molar en el intervalo de 500-3000 g/mol, como al menos 1000 mg/l o tal como al menos 2000 g/ml, péptidos hidrófobos que tienen un peso molar en el intervalo de 500-3000 g/mol.

30 La concentración de péptidos hidrófobos que tienen un peso molar en el intervalo de 500-3000 g/ml de la leche o producto relacionado con la leche está determinada y descrita por Kai-Ping et al., J. Agric. Food Chem. 1996, 44, 1058-1063. La leche o producto relacionado con la leche es usada como una muestra y, según Kai-Ping et al., la fracción de peso molecular de 500-3000 obtenida es posteriormente analizada a través de HPLC analítica en una columna C18. El cromatograma resultante es usado para determinar la concentración de péptidos hidrófobos que tienen un peso molar en el intervalo de 500-3000 g/ml de la leche o producto relacionado con la leche.

35 Todavía, en una realización de la invención, el acontecimiento no deseable es que la leche o producto relacionado con la leche se encuentra que tiene una propiedad sensorial no deseable usando un ensayo sensorial según las normas ISO 22935-1:2009, ISO 22935-2:2009 e ISO 22935-3:2009 que se refieren al análisis sensorial de leche y productos de leche. Se ensayan preferentemente propiedades sensoriales como la apariencia visual, consistencia, olor y gusto.

Es preferido combinar dos o más de los diferentes tipos de acontecimientos no deseables para la determinación de la vida en almacenamiento.

40 Así, en una realización preferida de la invención, la vida en almacenamiento se determina mediante la primera aparición de un acontecimiento no deseable seleccionado entre el grupo que consiste en:

- la leche o producto relacionado con la leche se encuentra que es no estéril, y

- la leche o producto relacionado con la leche se encuentra que contiene al menos 1 mg/l de péptidos hidrófobos que tienen un peso molar en el intervalo de 500-3000 g/mol.

45 En otra realización preferida de la invención, la vida en almacenamiento se determina mediante la primera aparición de un acontecimiento no deseado seleccionado entre el grupo que consiste en:

- la leche o producto relacionado con la leche se encuentra que es no estéril,
 - la leche o producto relacionado con la leche se encuentra que contiene al menos 1 mg/l de péptidos hidrófobos que tienen un peso molar en el intervalo de 500-3000 g/mol, y
 - la leche o producto relacionado con la leche se encuentra que tiene una propiedad sensorial no deseable.
- 5 Todavía, en una realización preferida de la invención, la vida en almacenamiento se determina mediante la primera aparición de un acontecimiento no deseado seleccionado entre el grupo que consiste en:
- la leche o producto relacionado con la leche se encuentra que es no estéril, y
 - la leche o producto relacionado con la leche se encuentra que tiene una propiedad sensorial no deseable.
- 10 En una realización de la invención, la vida en almacenamiento de dicha leche o producto relacionado con la leche es de al menos 30 días cuando es mantenido a 25°C.
- En otra realización de la invención, la vida en almacenamiento de dicha leche o producto relacionado con la leche es de al menos 49 días, cuando es mantenido a 25°C los 21 primeros días después de envasar y a 5°C el tiempo posterior.
- 15 En una realización adicional de la invención, la vida en almacenamiento de dicha leche o producto relacionado con la leche es de al menos 49 días, cuando es mantenido a 25°C los primeros 21 días después de envasar y a 5°C el tiempo posterior.
- Todavía, en otra realización de la invención, la vida en almacenamiento de dicha leche o producto relacionado con la leche es de al menos 70 días, cuando es mantenido a 5°C.
- 20 En una realización adicional de la invención, la vida en almacenamiento de dicha leche o producto relacionado con la leche es de al menos 119 días, cuando es mantenido a 5°C.
- En una realización adicional de la invención, la vida en almacenamiento de dicha leche o producto relacionado con la leche es de al menos 119 días, cuando es mantenido a 25°C.
- 25 En otra realización de la invención, la vida en almacenamiento de dicha leche o producto relacionado con la leche es de al menos 182 días, cuando es mantenido a 25°C.
- 30 La leche o producto relacionado con la leche de la invención parece tener un contenido relativamente bajo de beta-lactoglobulina desnaturalizada. Preferentemente, como máximo un 40% (p/p) de la beta-lactoglobulina de la leche o producto relacionado con la leche está desnaturalizado con relación a la cantidad total de beta-lactoglobulina tanto desnaturalizada como no desnaturalizada, preferentemente como máximo un 35% (p/p) e incluso más preferentemente como máximo un 30% (p/p).
- En realizaciones preferidas de la invención, como máximo un 30% (p/p) de la beta-lactoglobulina de la leche o producto relacionado con la leche está desnaturalizado con relación a la cantidad total de beta-lactoglobulina tanto desnaturalizada como no desnaturalizada, preferentemente como máximo un 25% (p/p) e incluso más preferentemente como máximo un 20% (p/p).
- 35 El grado de desnaturalización se mide según el Análisis C del ejemplo 3
- En una realización de la invención, la leche o producto relacionado con la leche comprende como máximo un 60% p/p de grasa de leche. Un ejemplo de esta leche o producto relacionado con la leche es nata para montar.
- En otra realización de la invención, la leche o producto relacionado con la leche comprende como máximo 40% p/p de grasa de leche. Un ejemplo de esta leche o producto relacionado con la leche es crema batida.

Todavía, en una realización de la invención, la leche o producto relacionado con la leche comprende como máximo 20% p/p de grasa de leche. Un ejemplo de esta leche o producto relacionado con la leche es media crema. que contiene 18% p/p de grasa de leche.

5 En una realización adicional de la invención, la leche o producto relacionado con la leche comprende como máximo 4% p/p de grasa de leche. Un ejemplo de esta leche o producto relacionado con la leche es leche de grasa completa que contiene normalmente 2-4% p/p de grasa de leche y, preferentemente, aproximadamente 3% p/p de grasa de leche.

10 En una realización adicional de la invención, la leche o producto relacionado con la leche comprende como máximo 1,5 p/p de grasa de leche. Un ejemplo de esta leche o producto relacionado con la leche es leche semidesnatada que contiene normalmente 0,7-2% de grasa de leche y, preferentemente, 1-1,5% p/p de grasa de leche.

En una realización adicional de la invención, la leche o producto relacionado con la leche comprende como máximo 0,7 p/p de grasa de leche. En ejemplo de esta leche o producto relacionado con la leche es leche desnatada que contiene normalmente 0,1-0,7% p/p de grasa de leche y, preferentemente, 0,3-0,6% p/p de grasa de leche, como aproximadamente 0,5% p/p de grasa de leche.

15 En una realización preferida de la invención, la leche o producto relacionado con la leche comprende como máximo 0,1% p/p de grasa de leche. Un ejemplo de esta leche o producto relacionado con la leche es leche desnatada que tiene un contenido de grasa en el intervalo de 0,05-0,1% p/p.

20 Todavía, en una realización preferida de la invención, la leche o producto relacionado con la leche comprende 2,5-4,5% p/p de caseína, 0,25-1% p/p de proteína de suero de la leche y 0,01-3% de grasa de leche. En una realización incluso más preferida de la invención, la leche o productor relacionado con la leche comprende 2,5-4,5% p/p de caseína, 0,25-1% p/p de proteína de suero de la leche y 0,01-0,1% de grasa de leche.

25 La leche o producto relacionado con la leche comprende normalmente agua y puede comprender, por ejemplo, al menos 60% (p/p) de agua, preferentemente al menos 70% (p/p) de agua e incluso más preferentemente al menos 80% (p/p) de agua. Por ejemplo, la leche o producto relacionado con la leche puede comprender al menos 85% (p/p) de agua, preferentemente al menos 87,5% (p/p) de agua e incluso más preferentemente al menos 90% (p/p) de agua.

La leche o producto relacionado con la leche puede contener además cualquiera de los aditivos mencionados en la presente memoria descriptiva.

30 El método de la invención se puede poner en práctica usando una instalación de tratamiento de leche para convertir un derivado de leche en leche o producto relacionado con la leche que tiene una larga vida en almacenamiento, comprendiendo dicha instalación

- una sección de separación física adaptada para separar microorganismos del derivado de leche,

35 - una sección de tratamiento con HT en comunicación fluida con dicha sección de separación física, en que la sección de tratamiento con HT está adaptada para calentar el producto líquido de la sección de separación física a una temperatura en el intervalo de 140-180°C durante un período como máximo de 200 milisegundos y posteriormente enfriar el producto líquido, y

- una sección de envasado en comunicaciones fluidas con la sección de tratamiento con HT para envasar el producto de la instalación de tratamiento de leche.

40 En el contexto de la presente invención, la expresión "comunicación fluida" significa que las secciones que están en comunicación fluida están dispuestas de modo que el líquido se puede mover de una sección a la otra. Esto se realiza normalmente interconectando las secciones relevantes de la instalación con conductos y bombas y/o válvulas.

La instalación de tratamiento de leche es adecuada para realizar el método de la presente invención.

La sección de separación física puede contener, por ejemplo, uno o más de los sistemas de microfiltración

mencionados en la presente memoria descriptiva y, de forma alternativa o adicional, puede contener uno o más de los bactofugos mencionados en la presente memoria descriptiva.

5 La sección de tratamiento con HT puede comprender uno o más de los sistemas de tratamiento con HT mencionados en la presente memoria descriptiva y la sección de envasado contendrá normalmente un envasado o sistema de relleno disponible en el comercio.

Además de las secciones anteriormente mencionadas, la instalación de tratamiento de leche puede contener bombas, válvulas, conductos, homogeneizador, calentador, etc. que son todas unidades bien conocidas por el experto en la técnica y están también disponibles en el comercio.

10 La combinación de separación física de microorganismos y tratamiento con HT de un derivado de leche puede ser usada para reducir el sabor cocinado de la leche o producto relacionado con la leche resultante.

15 Un ejemplo de realización de la invención se refiere a una leche o producto relacionado con la leche ESL con el mismo gusto, olor y apariencia que el correspondiente producto leche de baja pasteurización. En un ejemplo de realización, la invención proporciona un procedimiento para la producción de leche o un producto relacionado con la leche ESL usando un tratamiento con calor APV-IIS a temperaturas elevadas (110-150°C) y un tiempo de mantenimiento corto (menos de 0,1 s) para minimizar los cambios químicos, físicos y sensoriales del producto tratado con calor.

20 En un segundo ejemplo de realización, la invención proporciona un procedimiento para la producción de leche o un producto derivado de la leche ESL usando un tratamiento con calor APV-IIS a temperaturas elevadas (110°C) con un tiempo de mantenimiento de menos de 0,1 s combinado con una etapa de microfiltración o pasteurización baja para minimizar los cambios químicos, físicos y sensoriales del producto tratado con calor.

25 En un primer ejemplo de realización, la invención proporciona un leche o producto relacionado con la leche con una vida en almacenamiento prologada (ESL) caracterizad por: a) vida en almacenamiento en el intervalo de 20 días a 6 meses y b) un contenido de lactulosa como máximo de 30 mg/ml y/o c) contenido de fufosina como máximo de 40 mg/l y/o d) un contenido de 2-heptanona como máximo de 15 mg/l y/o e) un contenido de 2-nonanona como máximo de 25 mg/l.

En un ejemplo de aspecto, la leche o producto relacionado con la leche puede tener una vida en almacenamiento en el intervalo de 4 a 6 meses, cuando es almacenado a una temperatura de no más de 35°C.

En un segundo ejemplo de aspecto, la leche o producto relacionado con la leche puede tener una vida en almacenamiento en el intervalo de 20 días a 60 días cuando es almacenado a una temperatura de no más de 8°C.

30 En un tercer ejemplo de aspecto, la leche o producto derivado de la leche es producido mediante un procedimiento de tratamiento con calor que comprender calentar la leche o producto derivado de la leche con inyección directa de vapor de agua a una temperatura de 140 a 160°C, preferentemente 150°C, durante un tiempo de mantenimiento como máximo de 90 milisegundos, más preferentemente entre 25 y 75 milisegundos.

35 Todavía, en un ejemplo de realización, la invención se refiere a un método para producir la leche o producto relacionado con la leche, mediante un procedimiento de tratamiento con calor que comprende la etapa de tratar la leche o productor relacionado con la leche con inyección directa de vapor de agua a una temperatura de 140 a 160°C, preferentemente 150°C con un tiempo de mantenimiento de 90 milisegundos o menos, más preferentemente entre 25 y 75 milisegundos.

40 El método según este ejemplo de realización se produce mediante un procedimiento de tratamiento con calor, en que el procedimiento de tratamiento con calor tiene lugar mediante un tratamiento previo que comprende microfiltración o bactofugación o una combinación de los mismos.

45 El método de la presente invención proporciona una leche o producto relacionado con la leche una una vida en almacenamiento prolongada (ESL) en que el producto retiene la mayor parte de las propiedades nutricionales y organolépticas de una leche cruda, mientras es estéril. Las propiedades mejoradas del producto ESL se pueden obtener sin usar aditivos (por ejemplo, inhibidores de la rancidez de la leche) y no dependen del uso de una esterilización por irradiación. La leche o el producto relacionado con la leche, según un ejemplo de realización de la presente invención, tienen una vida en almacenamiento prolongada comparable a la de la leche UHT, de forma que

puede ser consumido hasta 6 meses después de su fabricación, mientras retiene el sabor deseable de la leche fresca. Según otro ejemplo de realización, la leche o producto relacionado con la leche tiene una vida en almacenamiento prolongada de entre 20 y 60 días, mientras retiene el sabor deseable de la leche fresca.

5 La leche secretada por vacas sanas es básicamente estéril, pero la introducción de bacterias en la leche a partir de una diversidad de fuentes, que incluyen el exterior e interior de las ubres, suciedad, lechos, estiércol, instalación de producción de leche y depósitos de almacenamiento, es generalmente inevitable. Aunque según los patrones de la normativa Pasteurized Milk Ordinance (PMO) el recuento total de bacterias (TBC) de la leche cruda de grado A para un productor individual no debe sobrepasar 100.000 cfu/ml (FDA, 2001, Grade "A" Pasteurized Milk Ordinance, U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service. Publication No. 229. Washington DC.), una especificación ideal para el recuento bacteriano es <7500. A continuación de la pasteurización, el recuento bacteriano recomendado no debe sobrepasar 20.000 cfu/ml. Después del tratamiento UHT, por ejemplo, a 149°C durante 3 segundos, ningún microorganismo/espora es capaz de sobrevivir, según se mide mediante ensayos de recuentos de placas estándar (Gillis et al., J Dairy Sci. 1985 2875-9).

15 La vida en almacenamiento prolongada de la leche o producto relacionado con la leche de la presente invención es debida al bajo nivel residual de microorganismos viables. Cuando se mide inmediatamente a continuación del tratamiento y envasado (bajo condiciones asépticas) el producto tiene un recuento de esporas viable, medido como unidades formadoras de colonias/mililitro (cfu/ml).

20 Los métodos adecuados para determinar el recuento de esporas viables en leche o productos derivados de la leche son conocidos en la técnica: por ejemplo, se describen ensayo de recuentos de placas estándar por Marth, E. H., ed. 1978 en "Standard methods for the examination of dairy products". Am. Publ. Health Assoc., Washington, DC. Según un método estándar, las muestras de leche se disponen en placas en un medio de agar de leche (Oxoid) y las colonias se cuentan después de 3 días de incubación a 30°C (Health Protection Agency (2004)). Ensayo de recuento de placas a 30°C. National Standard Method D2 IISue 3, www.hpa-standardmethods.org.uk/pdf_sops.asp. Alternativamente, los recuentos de esporas se pueden determinar mediante recuento microscópico directo usando un microscopio de campo iluminado y procedimientos de cámaras de recuento Thoma.

30 Muchos compuestos volátiles generados durante el tratamiento térmico de la leche han estado asociados con apreciaciones cocinadas, rancias y sulfurosas en la leche y son consideradas sabores desagradables por la mayoría de los consumidores. El tratamiento térmico se conoce que es la causa directa de reacciones de tipo 2 que conducen a compuestos de sabores desagradables, como aldehídos, metil-cetonas y diversos compuestos de azufre, que son apenas detectables en la leche cruda.

35 Los niveles de cetonas totales detectados en la leche cruda (cerca de 6 microgramos y 11 microgramos de cetonas totales por kg de leche cruda de 1% y 3%, respectivamente) y leche pasteurizada no son significativamente diferentes, pero pueden ser aumentados en tanto como 12 veces en leche UHT (cerca de 78 microgramos y 120 microgramos de cetonas totales por kg de leche UHT de 1% y 3%, respectivamente). Los principales contribuidores de cetonas son 2-heptanona y 2-nonanona, cuya concentración es 34 y 53 veces mayor, respectivamente, en leche UHT que en muestras crudas y pasteurizadas. Estos niveles corresponden a cerca de 22 microgramos y 34 microgramos de 2-heptanona por kg de leche UHT de 1% y 3%, respectivamente; y cerca de 35 microgramos y 53 microgramos de 2-nonanona por kg de leche UHT de 1% y 3%, respectivamente). Los otros contribuidores son 2,3-butanodiona, 2-pentanona y 2-undecanona.

40 Como el impacto del aroma no solo es dependiente de la concentración, sino también del umbral sensorial, el índice de actividad del olor (OAV = concentración/umbral sensorial) debe ser tenido en cuenta. Los valores de actividades de olores calculados ponen de manifiesto que la 2,3-butanodiona, 2-hetanona, 2-nonanona, 2-metilpropanl, 3-metilbutanl, nonanal, decanal y sulfuro de dimetilo son contribuidores importantes al sabor desagradable de la leche UHT.

45 En algunos ejemplos de realizaciones de la invención, las propiedades organolépticas naturales de la leche cruda/pasteurizada se conservan en la leche o producto relacionado ESL de la leche de la presente invención debido al bajo nivel de compuestos volátiles de sabor desagradable en el producto. En particular, el producto de leche obtenido inmediatamente a continuación del tratamiento y envasado (bajo condiciones asépticas) contiene un nivel total de cetona detectable medido en unidades de microgramos de cetona total por kg de leche de 1% de grasa (o 3% de grasa) como máximo de 60 (100), más preferentemente como máximo 50 (80), 40 (60), 30 (40), 20 (20) y 10 (10) microgramos de cetona total. Preferentemente, el nivel total de cetona detectable medido en unidades de microgramos de cetona total por kg de grasa de leche de 1% de grasa (o 3% de grasa) se sitúa en el intervalo entre

6-60 (8-100), más preferentemente 6-50 (8-80), 6-40 (8-60), 6-30 (8-40), 6-20 (8-20) ó 6-10 (8-10) microgramos de cetona total.

5 En algunos ejemplos de realizaciones de la invención, el producto de leche obtenido inmediatamente a continuación del tratamiento y envasado (bajo condiciones asépticas) contiene un nivel detectable de 2-heptanona medido en unidades de microgramos de 2-heptanona total por kg de leche de 2% de grasa (o 3% de grasa) como máximo de 15 (25), más preferentemente como máximo 10 (20), 7 (15), 5 (10) ó 2 (5) microgramos de 2-heptanona. Preferentemente, el nivel detectable de 2-heptanona medido en unidades de microgramos de cetona total por kg de leche de 1% de grasa (o 3% de grasa) se sitúa en el intervalo entre 1-15 (1-25), más preferentemente 1-10 (1-20), 1-7 (1-15), 1-5 (1-10) ó 1-3 (1-5) microgramos de 2-heptanona.

10 En algunos ejemplos de realizaciones de la invención, el producto de leche obtenido inmediatamente a continuación del tratamiento y envasado (bajo condiciones asépticas) contiene un nivel detectable de 2-nonanona medido en unidades de microgramos de 2-nonanona total por kg de leche de 1% (o 3%) como máximo de 25 (40, más preferentemente como máximo 20 (30), 15 (25), 10 (15) ó 5 (10) microgramos de 2-nonanona. Preferentemente, el nivel detectable de 2-nonanona medido en unidades de microgramos de 2-nonanona por kg de leche de 1% de grasa (o 3% de grasa) se sitúa en el intervalo entre 0,2-25 (0,2-40), más preferentemente 0,2-20 (0,2-30), 0,2-15 (0,2-25), 0,2-10 (0,2-15) ó 0,2-5 (0,2-10) microgramos de 2-nonanona.

20 La microextracción en fase sólida en el espacio de cabeza (HSSPME) combinada con cromatografía de gases proporciona una técnica rápida y fiable para la extracción y análisis cuantitativo de componentes volátiles en alimentos lácteos (P. A. Vazquez-Landaverde et al., 2005 J. Dairy Sci. 88:3764-3772). Por ejemplo, se pueden obtener espectros de masas de componentes volátiles de la leche usando un cromatógrafo de gases Agilent 6890 equipado con un detector analizador de masas cuadrupolar 5973 (Agilent Technologies, Incl., Wilmington, DE). La fibra SPME es expuesta al espacio de cabeza de 20 g de una muestra de leche un vial de vidrio ámbar de 40 ml durante 3 h a 35°C y seguidamente es insertado en el orificio de inyección de espectroscopía de masas GC durante 5 minutos bajo condiciones sin división. Una columna de capilaridad DB-5 (30 m x 0,32 mm de d.il, grosor de película de 1 micrómetro; J&W Scientific, Folsom, CA) proporciona la separación cromatográfica. El programa de temperatura de la estufa es mantenido a 35°C durante 8 minutos, se aumenta a 150°C a una velocidad de 4°C/minuto, seguidamente se aumenta hasta 230°C a una velocidad de 20°C/minuto y finalmente se mantiene a 230°C durante 2 minutos. Se usa helio como gas portador a 2,5 ml/minuto. Las temperaturas del inyector, línea de transferencia del detector y fuente iónica son 250, 280 y 230°C, respectivamente. La ionización de impacto de electrones a un voltaje de 70 eV y un intervalo de m/z de 35 a 350 se recoge a 4,51 exploraciones/s. El control instrumental y el análisis de datos se realizan usando un software ChemStation mejorado (Agilent Technologies, Inc.). Los compuestos volátiles en la leche se identifican comparando los espectros de masas y tiempos de retención con los de los compuestos auténticos.

35 El tratamiento con calor de la leche es la causa de las reacciones de tipo 1 que conducen a la desnaturalización, degradación e inactivación de las proteínas de lactosuero, enzimas y vitaminas. La reacción de Maillard desempeña una función clave en estas reacciones de tipo 1. Esta reacción se puede verificar midiendo los niveles de furosina (epsilon-N-2-furoilmetil-L-lisina) y lactulosa (4-O-beta-galactopiranosil-D-fructosa) y la relación de furosina/lactulosa en un producto. El contenido de furosina de la leche pasteurizada es generalmente entre 1,0 y 2,0 mg/litro de leche, mientras que los niveles en UHT dependen de las condiciones de calentamiento, pero e informan niveles de aproximadamente 56 mg/litro en UHT normal. El contenido de lactulosa de la UHT normal se informa que está en el intervalo de 34-42 mg/ml.

45 Las propiedades nutritivas de la leche cruda/pasteurizada se conservan en la leche o producto relacionado con la leche ESL de algunos ejemplos de realizaciones de la presente invención, como lo indica el bajo nivel de furosina y/o lactulosa en la leche. En particular, el producto de leche obtenido inmediatamente a continuación del tratamiento y envasado (bajo condiciones asépticas) puede contener un nivel detectable de furosina medida en unidades de mg/litro de leche como máximo de 40 mg/litro de producto de leche, más preferentemente como máximo 30, 20, 10 ó 5 mg/litro. Preferentemente, el nivel de furosina medido en unidades de mg de furosina por litro de producto de leche se sitúa en el intervalo entre 0-10 mg/litro, más preferentemente 0-20, 0-10 ó 0-5 mg/litro de furosina.

50 Alternativamente, el nivel de furosina medido en unidades de mg de furosina por litro de producto de leche puede estar en el intervalo entre 0-100 mg/litro, preferentemente en el intervalo de 0-75 mg/litro e incluso más preferentemente en el intervalo de 0-50 mg/litro.

Análogamente, el producto de leche obtenido inmediatamente a continuación del tratamiento y envasado (bajo

condiciones asépticas) contiene un nivel detectable de lactulosa medida en unidades de mg/mililitro (ml) de leche a un máximo de 30 mg/ml de producto de leche, más preferentemente como máximo 20, 10, 5 ó 2 mg/ml. Preferentemente, el nivel detectable de lactulosa en unidades de mg de lactulosa por ml de producto de leche se sitúa en el intervalo entre 0-30 mg/ml, más preferentemente 0-20, 0-10, 0-5 ó 0-2 mg/ml de lactulosa.

5 Aunque las vitaminas solubles en grasas en la leche están mínimamente afectadas por el tratamiento con calor, las vitaminas solubles en agua pueden ser parcialmente destruidas. Consecuentemente, el tratamiento UHT reduce las vitaminas B en 10%, el ácido fólico en 15% y la vitamina C en 25%. La leche ESL de algunos ejemplos de realizaciones de la presente invención tiene un contenido de vitamina C que se reduce en menos de 20% durante el tratamiento de producción.

10 El hidroximetilfurfural (HMF) es un marcador reconocido de la leche deteriorada por el calor, mientras que los niveles de HMF en la leche UHT se informa que están en el intervalo de 4-16 micromoles/l. Singh et al, Lait (1989) 69 (2) 131-136. Una leche o producto relacionado con la leche ESL obtenido inmediatamente a continuación del tratamiento y envasado (bajo condiciones asépticas) contiene un nivel detectable de HMF medido en unidades de 1 micromol/l de leche a un máximo de 6 micromoles/l HMF, más preferentemente como máximo 5, 4, 3, 2 ó 1
15 micromol/l de HMF. Preferentemente, el nivel detectable de HMF medido en unidades de HMF por de producto de leche se sitúa en el intervalo entre 0-6 micromol/l, más preferentemente 0-5, 0-4, 0-3 ó 0-2 micromol/l.

Los métodos para determinar los niveles de furosina y lactulosa en leche o productos derivados de leche son conocidos en la técnica: ensayos de HPLC o enzimáticos, así como métodos de espectroscopía de fluorescencia de cara frontal se describen por Kulmyrzaev et al., 200 en la publicación Lait 82:725-735. Se describen métodos para
20 determinar niveles de HMF en leche por Singh et al., Lait (1989) 69 (2) 131-136.

Los tratamientos con calor a temperaturas elevadas (como 110, 120, 130, 140 ó 150°C o cualquier temperatura entre ellas) y los tiempos de mantenimiento extremadamente cortos de menos de 0,1 segundo (como 0,02 s, 0,05 s, 0,09 s o cualquier tiempo entre ellos) producen una leche ESL con una elevada calidad bacteriológica y cambios químicos y sensoriales reducidos en comparación con la leche UHT estándar. Esta leche puede ser producida
25 mediante inyección directa de vapor de agua, usando una instalación comercial diseñada para tiempos de contacto con vapor de agua ultra cortos. Una de estas instalaciones es es la APV Instant Infusion System (APV-IIS). Otra de estas instalaciones es la GEA NIRO Saniheat®.

En un ejemplo de realización del método anteriormente descrito (caracterizado por un tratamiento con calor de la leche a una temperatura de al menos 150°C, durante un periodo entre 25 y 80 milisegundos), la leche o producto
30 relacionado con la leche es sometido a una etapa de pre-tratamiento. Este pre-tratamiento puede ser una etapa de microfiltración, una etapa de baja pasteurización o una etapa de bacto-fugación, o cualquier combinación de las mismas, que se realiza antes del tratamiento con HT anterior, como un tratamiento tipo APV-IIS. Esta etapa de pre-tratamiento (microfiltración y/o pasteurización y/o bacto-fugación) sirve para rebajar la carga microbiana (incluido el recuento de esporas) en el producto de leche antes del tratamiento con HT. Además, este tratamiento combinado
35 proporciona un producto de leche con una vida en almacenamiento comparable a una leche UHT, mientras retiene el sabor fresco de la leche fresca, ya que el tratamiento es más ligero y evita la generación de sabores desagradables que caracteriza la leche UHT.

Cuando el pre-tratamiento emplea una etapa de microfiltración, esta se puede realizar con un procedimiento de transmembrana-membrana a presión capaz de separar partículas coloidales y en suspensión en el intervalo de 0,05-
40 10 micrómetros. Cuando el pre-tratamiento emplea una etapa de pasteurización, esta se puede realizar calentando a una temperatura de 71-74°C durante 15-30 segundos. Preferentemente, esta etapa de pasteurización se realiza a 72°C durante 15 segundos, también conocida como pasteurización de tiempo corto a temperatura elevada (HTST).

Cuando el pre-tratamiento emplea una etapa de bacto-fugación, esta se puede realizar con una centrifugadora diseñada para separar microorganismos de la leche. Una instalación adecuada para la centrifugación incluye un
45 bacto-fugo de una fase o dos fases (Tetra Pak Dairy processing Handbood 2003 ISBN 91-631-3427-6). Las bacterias y particularmente las esporas bacterianas resistentes al calor tienen una densidad mayor que la leche.

El procedimiento de la presente invención puede ser usado para esterilizar cualquier derivado de leche, es decir, "material de partida". En una realización de la invención, el material de partida es preferentemente leche entera fresca o leche desnatada. En una realización alternativa de la invención, el materia de partida es preferentemente
50 leche de vaca, preferentemente con un pH de 6,4 a 6,8 y una acidez titulable de 0,13-0,15%.

En algunas realizaciones de la invención, el producto de leche resultante, producido mediante una combinación de al menos una microfiltración y una etapa de tratamiento con HT, tiene una vida en almacenamiento prolongada (ESL) y sabe, huele y aparenta sustancialmente igual que el correspondiente producto fresco de baja pasteurización. El producto tratado mediante Saniheat® o IIS se caracteriza por uno o más de:

- 5 1. Vida en almacenamiento prolongada, y
2. El mismo gusto, olor y apariencia que el correspondiente producto fresco de baja pasteurización, y preferentemente un
3. Bajo grado de desnaturalización de proteínas de lactosuero.
4. Bajo contenido de hidroximetilfurfural (HMF).
- 10 5. Bajo contenido de lactulosa.
6. Bajo contenido de producto de reacción de Maillard.
7. Pérdida reducida de lisina debido a reacciones de Maillard.

A continuación se describen ejemplos de realizaciones adicionales de la invención.

15 Ejemplo de realización 1: una leche o producto relacionado con la leche con una vida en almacenamiento prolongada (ESL) caracterizado por:

- a. una vida en almacenamiento en el intervalo de 20 días a 6 meses, y
- b. un contenido de lactulosa como máximo de 30 mg/ml y/l
- c. un contenido de furosina como máximo de 40 mg/l y/o
- d. un contenido de 2-heptanona como máximo de 15 mg/l y/o
- 20 3. un contenido de 2-nonanona como máximo de 25 mg/l.

Ejemplo de realización 2: la leche o producto relacionado con la leche del ejemplo de realización 1, cuando la vida en almacenamiento está en el intervalo de 4 a 6 meses, cuando es almacenado a una temperatura de no más de 35°C.

25 Ejemplo de realización 3: la leche o producto relacionado con la leche del ejemplo de realización 1, cuando la vida en almacenamiento está en el intervalo de 20 días a 60 días cuando es almacenado a una temperatura de no más de 8°C.

Ejemplo de realización 4: la leche o producto relacionado con la leche de ejemplo de realización reivindicado 1, que tiene un contenido de esporas como máximo de 10 cfu/ml.

30 Ejemplo de realización 5: la leche o producto relacionado con la leche del ejemplo de realización 2, que tiene un contenido de esporas como máximo de 1000 cfu/ml..

Ejemplo de realización 6: la leche o producto relacionado con la leche del ejemplo de realización 1, que tiene un contenido de HMF como máximo de 6 micromoles/litro.

35 Ejemplo de realización 7: la leche o producto relacionado con la leche de cualquiera de los ejemplos de realización 1-6, producido mediante un procedimiento de tratamiento con calor que comprende calentar la leche o producto derivado de la leche con inyección directa de vapor de agua a una temperatura de 140 a 160°C, preferentemente 150°C, durante un tiempo de mantenimiento como máximo de 90 milisegundos, más preferentemente entre 25 y 75 milisegundos.

ES 2 507 216 T3

Ejemplo de realización 8: la leche o producto derivado de la leche del ejemplo de realización 7, en el que el procedimiento de tratamiento con calor está precedido de un pre-tratamiento que comprende:

- a. microfiltración o
- b. pasteurización o
- 5 c. bactofugación o

una combinación de los mismos.

Ejemplo de realización 9: la leche o producto relacionado con la leche del ejemplo de realización 8, en el que la microfiltración emplea un filtro de membrana que tiene un tamaño de poros de 0,87 μm o menos.

10 Ejemplo de realización 10: la leche o producto relacionado con la leche del ejemplo de realización 8, en el que la pasteurización comprende calentar a 72°C durante 15 segundos.

Ejemplo de realización 11: la leche o producto relacionado con la leche del ejemplo de realización 7 ó 8, en el que el vapor de agua es inyectado en una cámara que comprende una superficie interna compuesta por un material ignífugo, preferentemente un material cerámico.

15 Ejemplo de realización 12: un método para producir la leche o producto relacionado con la leche de los ejemplos de realizaciones 1-6, mediante un procedimiento de tratamiento con calor que comprende la etapa de tratar la leche o el producto relacionado con la leche un una inyección directa de vapor de agua a una temperatura de 140 a 160°, preferentemente 150°C, con un tiempo de mantenimiento de 90 milisegundos o menos, más preferentemente entre 25 y 75 milisegundos.

20 Ejemplo de realización 13: el método para producir la leche o producto relacionado con la leche según el ejemplo de realización 12, en el que el procedimiento de tratamiento con calor está precedido de un pre-tratamiento que comprende:

- a. microfiltración o
- b. pasteurización o
- c. bactofugación o

25 una combinación de los mismos.

Ejemplo de realización 14: uso de un procedimiento de tratamiento con calor que comprende una inyección directa de vapor de agua a una temperatura de 140 a 160°C, preferentemente 150°C, con un tiempo de mantenimiento de 90 milisegundos o menos, más preferentemente entre 25 y 75 milisegundos para producir una leche o producto relacionado con la leche de cualquiera de los ejemplos de realizaciones 1-6.

30 Ejemplo de realización 15: un uso según el ejemplo de realización 14, en el que el procedimiento de tratamiento con calor está precedido de un pre-tratamiento que comprende:

- a. microfiltración o
- b. pasteurización o
- c. bactofugación o

35 una combinación de los mismos.

Ejemplo

Ejemplo 1: producción de leche de la invención

Se produjo leche de larga vida en almacenamiento según la presente invención en las 24 horas de la recogida de la granja lechera según las siguientes etapas de tratamiento, con referencia al diagrama de flujo de la Fig. 1:

- 5 Etapa 1: se recogió leche cruda (sin pasteurizar) y se almacenó a 5°C;
- Etapa 2: la leche cruda de la etapa 1 se precalentó a 50-60°C usando un intercambiador de calor de placas y seguidamente se sometió a centrifugación, usando una centrifugadora láctea estándar para producir una fracción de crema y una fracción de leche desnatada;
- 10 Etapa 3: La fracción de crema de la etapa 2 se esterilizó mediante tratamiento UHT, que consiste en calentar a 143°C durante un período de 4 segundos en una unidad de infusión (APV) usando infusión directa de vapor de agua y calentando seguidamente a 20°C.
- Etapa 4: La leche desnatada de la etapa 2 fue seguidamente microfiltrada (MF) usando membranas tubulares cerámicas isoflux (se proporcionan las especificaciones más adelante) para una microfiltración tangencial en la que el caudal de recirculación de la materia retenida se ajusta a aproximadamente 116-126 litros/h, y el flujo permeado era de aproximadamente 117-128 litros de leche desnatada filtrada por hora. La materia permeada se recogió en recipientes estériles.
- 15 Etapa 5: el permeado de la etapa 4 (leche desnatada micro-filtrada) se precalentó a una temperatura de 72°C durante 15 segundos (pasteurización a calor bajo) y seguidamente se trató según la etapa 6.
- Etapa 6: el producto precalentado de la etapa 5 se esterilizó a 150°C durante un tiempo de mantenimiento de 0,09 segundos mediante inyección directa de vapor de agua usando un aparato de inyección ligera de vapor de agua (LSI) fabricado por la entidad GEA/NIRO, y se enfrió súbitamente a 70-72°C.
- Etapa 7: se preparó una muestra de leche que comprendía la fracción de crema UHT de la etapa 3 mezclada con el producto de leche desnatada tratada con calor de la etapa 7 para producir una leche con un contenido final de grasa de 1,5% (p/p).
- 25 Etapa 8. El producto de la etapa 7 con un contenido de grasa de 1,5% fue seguidamente homogeneizado a 200 rpm a 50 bares.
- Etapa 9. El producto de la etapa 8 fue enfriado a la temperatura de envasado de 5°C y asépticamente envasado en recipientes esterilizados y sellado.
- Etapa 10. El producto de leche envasado de la etapa 9 fue almacenado a 5°C.
- 30 Membranas tubulares cerámicas isoflux: comprenden 39 canales con una longitud de 1020 mm y un tamaño de poros de 0,8 micrómetros, en que el grosor de la capa de separación disminuye desde la entrada hasta la salida del filtro, permitiendo un flujo uniforme de permeado a lo largo del filtro. Los filtros (36) se disponen en paralelo en un alojamiento para los filtros. El carter está provisto de una entrada para la leche desnatada que va a ser filtrada y dos salidas para el permeado. El carter está provisto de una bomba que asegura la circulación tangencial de la leche desnatada sobre el filtro de membrana. La materia retenida circula nuevamente a la leche desnatada que va a ser tratada. Los filtros y el carter son suministrado por la entidad Tami (Alemania).
- 35

Ejemplo 2: producción de leche de la técnica anterior

La leche de la técnica anterior se produjo según el ejemplo 1, pero con la excepción de que se omitió la etapa 4 (la microfiltración) y la leche desnatada de la etapa 2 fue alimentada directamente a la etapa 5.

40 Ejemplo 3 - Métodos de análisis

Análisis A: ensayo sensorial

5 Un perfil sensorial o QDA, "Quantitative Descriptive Analysis", es una descripción de las propiedades sensoriales de un producto así como de la intensidad de las propiedades. Es un método establecido que contiene una lista de atributos, normalmente en el orden que son percibidos, y un índice de la intensidad para cada atributo. Se describen perfiles sensoriales en las normas ISO 13299:2003 y en ISO 22935-1:2009, iso22935-2:2009 e ISO 22935-3:200 que se refieren a análisis sensoriales de leches y productos de leche.

Muestra/calidad de muestra:

Para hacer posible la realización del ensayo, deben estar disponibles muestras para un adiestramiento antes del ensayo. Para el ensayo real, debe haber suficiente cantidad de cada muestra. Deben también ser de calidad representativa.

10 Los números de muestras que pueden ser evaluadas durante una sesión dependen de la naturaleza de la muestra y la cantidad de atributos que van a ser evaluados. Si solo van a ser evaluados unos pocos atributos, pueden ser incluidas más muestras en el ensayo, y viceversa. Normalmente se evalúa un máximo de diez muestras en una sesión.

Líder del conjunto:

15 El líder del conjunto es responsable de adiestrar el conjunto y del diseño y realización del ensayo. Los requisitos del líder del conjunto se describen en la norma ISO 1300:1:2006.

Asesores:

20 Los asesores en el conjunto se escogen debido a su capacidad para detectar sabores a baja concentración. El procedimiento de reclutamiento se describe en la norma ISO 8586-1:1993. Son adiestrados para un cierto tipo de productos, en este caso leche. Antes de un ensayo de perfil, el conjunto se adiestra varias veces con los productos y atributos que van a ser ensayados. El objetivo del adiestramiento es conseguir una manera uniforme de usar la escala y comprender el significado de la escala.

Para cada ensayo se usó un conjunto de 6-12 asesores para evaluar los productos.

Recinto de evaluación:

25 El recinto en el que se realizan el adiestramiento y el ensayo deben cumplir los requisitos establecidos en la norma ISO 8589:2007.

Presentación de muestras:

30 Las muestras deben ser servidas a ciegas con un código de tres dígitos, estando el orden al azar. Las muestras se sirven en pequeños cuencos de plástico con tapadera puesta ("Aseptisk provburk" 100 ml de www.kemikalia.se art. nº 165555).

Escala y sesión de adiestramiento:

35 Se usa una escala lineal continua con puntos de extremos anclados. Los puntos de los extremos se describen como "nada en absoluto del atributo = 0, respectivamente, intensidad "muy muy fuerte" del atributo = 10. La tarea para cada asesor es marcar la escala para indicar la intensidad de cada atributo. para un sabor hervido/cocinado, el conjunto ha estado de acuerdo en que la leche de baja pasteurización (72°C/15 s, 1,5% grasa) 2,5 y UHT (inyección directa de vapor de agua 143°C/6 segundos, 1,5% de grasa) 7,5 en la escala. Los números no son mostrados a los asesores durante el ensayo.

40 Durante el período de adiestramiento los asesores aprenderán acerca de cómo identificar los atributos y cómo evaluarlos, mediante observación, olor, gusto, etc. También establecerán una manera común de evaluar cada atributo, por ejemplo, el sabor hervido para ESL es 2,5 en la escala. Se hacen también una o más evaluaciones individuales durante el período de adiestramiento para evaluar la capacidad de cada asesor para realizar el ensayo.

El ensayo:

5 Cada sesión comienza con un adiestramiento/examen del conjunto. Se usan en primer lugar tres muestras conocidas; leche poco pasteurizada (72°C/5 s, 1,5% grasa), leche ESL (inyección directa de vapor de agua 127°C/2 s, 2,5% de grasa) y UHT (inyección directa de vapor de agua, 143°C/6 s, 1,5% de grasa) que tienen todas posiciones específicas en la escala. Después de eso, el panel obtiene una o dos muestras desconocidas, que deciden mediante consenso donde situar en la escala (calibración del conjunto).

10 El conjunto debe ser informado sobre el número de muestras que van a ser evaluadas y cualquier otra información que pueda ser necesaria. Se usa un software FIZZ para la evaluación. Durante el ensayo, se sirve una muestra en un momento a los asesores. La tarea para el conjunto es entonces observar/sentir/oler/gustar el producto y poner una marca en la escala para cada atributo. Es posible también que cada asesor escriba un comentario para cada muestra. Deben aclararse la boca con agua entre atributos y muestras.

Referencias para el análisis A:

ISO 22935-1:2009; ISO 22935-2:220 e ISO 22935-3:2209 que se refieren al análisis sensorial de leche y productos de leche.

ISO 13299:2003 Análisis sensorial --Metodología-- Guía general para establecer un perfil sensorial

15 ISO 13300-1:2006 Análisis sensorial -- Guía general para el personal de un laboratorio de evaluación sensorial -- Parte 1: Responsabilidades del personal

ISO 8586-1:1993 Análisis sensorial -- Guía general para la selección, adiestramiento y verificación de asesores -- Parte 1: Asesores seleccionados

ISO 8589:2007 Análisis sensorial -- Guía general para el diseño de recintos de ensayo

20

Stone H and Sidel J.L (2004) Sensory Evaluation Practices. Tragon Corporation, California, ISBN0-12-672690-6

Análisis B - Distribución del tamaño de partículas:

25 El tamaño de partículas en una muestra de leche se determina usando un aparato Malvern que hace funcionar un programa Mastersizer 2000 en el que el diámetro medio de partículas se mide en términos de diámetro medio (micrómetros) en volumen.

Análisis C: beta-lactoglobulina desnaturalizada

30 La determinación del grado de desnaturalización de beta-lactoglobulina de un producto de leche tratado requiere una muestra del derivado de leche sin tratar y una muestra del producto de leche tratado. Cada muestra es analizado según la norma ISO 13875:2005(E) "Liquid milk - Determination of acid-soluble beta-lactoglobulin content" para determinar la cantidad de beta-lactoglobulina soluble en ácido en las muestras - expresada en la unidad mg/l de muestra.

El grado de desnaturalización (DD) de beta-lactoglobulina en el producto de leche se calcula a través de la fórmula:

$$DD = 100\% * (BLGr - BLGh) / BLGr$$

35 en la cual:

DD es el grado de desnaturalización (DD) de beta-lactoglobulina,

BLGr es el contenido de beta-lactoglobulina en el derivado de leche sin tratar (mg/l).

BLGh es el contenido de beta-lactoglobulina en el producto de leche tratado al que se refiere el grado de desnaturalización (mg/l).

Análisis D: determinación de lactulosa:

5 El contenido de lactulosa en una muestra de leche se mide mediante un ensayo enzimático, definido por la entidad Organisation of Standards, nº de publicación concedido: ISO 11285:2004(E); IDF 175:2004 (E).

Análisis E: hidroximetilfurfural (HMF). Cuantificación mediante HPLC

El contenido de HMF, así como el contenido de HMF y sus precursores, en una muestra de leche, se miden en paralelo, junto con un conjunto de patrones de HMF, según el siguiente protocolo:

10 patrones de HMF: se preparan soluciones acuosas de hidroximetilfurfural (HMF) 1 a 60 microM a partir de soluciones acuosas estándar 0,05 mM y 1,2 mM en agua miliQ.

Preparación de muestras de leche que van a ser analizadas: se prepara una solución acuosa al 9% (peso/volumen) a partir de una muestra de leche y la solución seguidamente se agita durante al menos 1 hora. Se toma una muestra de 10 ml de esta solución, que se transfiere seguidamente a un matraz de 50 ml, al que se añaden seguidamente 5 ml de ácido oxálico 0,15 M para proporcionar "muestra HMF de leche".

15 Pretratamiento de la muestra: la cuantificación de HMF y HMF y sus precursores, respectivamente, en una "muestra HMF de leche", se analizan separadamente, en que las muestras reciben el siguiente pretratamiento:

1) Una "muestra HMF de leche" se deja durante 60 minutos a temperatura ambiente antes de cuantificar el contenido de HMF en la muestra "como tal";

20 2) una "muestra HMF de leche" se cocina durante 60 minutos bajo tapadera para convertir precursores de HMF en HMF, seguido de enfriamiento a 5°C, antes de cuantificar el contenido de HMF que incluye precursores en la muestra.

25 Después de enfriar las muestras, se añaden 5 ml de TCA al 40% (ácido tricloroacético) a cada una de las muestras pretratadas anteriores, así como a cada patrón de HMF y muestra testigo en blanco, que son seguidamente filtradas individualmente a través de filtro de 0,22 micrómetros y el filtrado es seguidamente sometido a un análisis HPLC como sigue.

Se inyectan muestras (volumen de 20 microlitros) en una HPLC, equipada con un dispositivo Apex II ODS de 5 micrómetros (vydac) y se separan con una fase móvil que comprende:

Eluyente A: H₂O, 0,1% de TFA; y eluyente B: 90% de acetonitrilo, 10% de H₂O y 0,1% de TFA en el siguiente gradiente:

30

Tiempo [min]	Flujo [ml/min]	% A	% B	Curva
0,01	1,00	100,0	0,0	6
2,00	1,00	100,0	0,0	6
10,00	1,00	93,0	7,0	6
11,00	1,00	100,0	0,0	6
15,00	1,00	100,0	0,0	6
16,00	0,00	100,0	0,0	6

El HMF se detecta a 284 nm, y se determina el área del pico de HMF para cada cromatograma de una muestra, junto con las áreas de los picos de los patrones de HMF, que se usan para calcular la pendiente de la curva de calibración, que se fuerza a través de 0.0.

El HMF en una muestra se calcula como sigue:

35 $HMF [microgramos/100 g] = (\text{área de pico de muestra} \times PM_{HMF} \times V_{Disolución}) / (\text{Pendiente} \times m_{Muestra})$

en la cual:

Área de pico de muestra = área del pico de HMF en el cromatograma de la muestra

Pendiente = la pendiente de la curva de calibración

m_{Muestra} = la cantidad de muestra pesada [g]

5 $V_{\text{Disolución}}$ = Volumen total de disolución (10 ml)

PM_{HMF} = 126,1 g/mol

Análisis F - Determinación de furosina:

10 La muestra de leche es hidrolizada durante una noche en una solución de HCl a 105°C y una parte alícuota del hidrolizado se usó para determinar el contenido total de nitrógeno y otra parte alícuota se hizo pasar a través de una columna C18 para separar la furosina, que seguidamente se determinó mediante HPCL-DAD y se cuantificó con respecto a un patrón de furosina.

Análisis G - Determinación de plasmina/plasminógeno

15 Se determinaron la actividad de plasmina en muestras de leche y la actividad derivada de plasmina después de la actividad de plasminógeno por uroquinasa midiendo la concentración del producto fluorescente AMC (7-amido-4-metil-cumarina) liberado por plasmina a partir del péptido de cumarina no fluorescente específico N-succinil-L-alanil-L-fenilalanil-L-lisil-7-amido-4-metil-cumarina [1].

Los ensayos de plasmina y plasminógeno se llevaron a cabo como se describió anteriormente por Saint Denis et al. [2]. Se pre-incubó un mililitro de muestra de leche durante 10 minutos a 37°C con 1 ml de tampón de Tris-HCl de 100 mmol/l, pH 8,0, que contenía 8 mmol/l de EACA y 0,4 mol/l de NaCl para disociar plasmina de micelas de caseína.

20 Se convirtió previamente plasminógeno en plasmina activa [3, 4, 5] mediante una incubación de 60 minutos a 37°C de una muestra de leche de 1 ml en presencia de 11 ml de solución de uroquinasa (2000 U/ml de raspado en 100 mmol/l de tampón de Tris-HCl, pH 8,0, con 8 mmol/l de EACA y 0,4 mol/l de NaCl). Las incubaciones se realizaron a 37°C en un microtubo con fondo en V.

25 La mezcla de reacción incubada consistía en 200 microlitros de muestras de leche preparadas mezcladas con 200 microlitros de 2,0 mmol/l de N-succinil-L-alanil-L-fenilalanil-L-lisil-7-amido-4-metil-cumarina (disuelta en 20% v/v de dimetil-sulfóxido y 80% v/v de 60 mmol/l de tampón de Tris-HCl, pH 8,0 con 0,25 mol/l de NaCl). Después de 10 minutos de pre-incubación para estabilizar la temperatura a 37°C se determinó la velocidad de hidrólisis de péptidos midiendo la fluorescencia de AMC liberada durante la incubación, en 3 puntos sobre un intervalo de 5 a 90 minutos, dependiendo de la plasmina o actividad derivada de plasmina en la muestra.

30 Para cada medición, se mezclaron 100 microlitros de la mezcla de reacción en una cubeta con 1 ml de agua destilada y 1 ml de reactivo Clarifying (marca registrada) para detener cualquier reacción enzimática. Estas etapa hicieron posibles mediciones espectrofluorométricas (ex = 370 nm, em = 440 nm) sin interferencia de turbidez de la leche.

35 El contenido de plasminógeno se calculó sustrayendo la actividad de plasmina nativa de la actividad de plasmina total después de la activación de plasminógeno por uroquinasa. Cada muestra fue analizada por duplicado. El aumento en la intensidad de la fluorescencia durante la incubación fue lineal hasta las 4 h. Se usó una mezcla de reacción similar sin muestra de leche como testigo para determinar la hidrólisis espontánea del péptido de cumarina, que era despreciable en todos los experimentos.

Referencias para el análisis G:

40 [1] Pierzchala P. A., A new fluorogenic substrate for plasmin, *Biochem. J.* 183 (1979) 555-559.

[2] Saint-Denis T., Humbert G., Gaillard J. L., Enzymatic assays for native plasmin, plasminogen and plasminogen

activators in bovine milk, J. Dairy Res. 68 (2001) 437-449.

[3] Korycka-Dahl M., Ribadeau-Dumas B., Chene N., Martal J., Plasmin activity in milk, J. Dairy Sci. 66 (1983) 704-711.

5 [4] Richardson B.C., Pearce K. N., The determination of plasmin in dairy products, N. Z. J. Dairy Sci. Technol. 16 (1981) 209-220.

[5] Rollema H.S., Visser S., Poll J. K., Spectrophotometric assay of plasmin and plasminogen in bovine milk, Milchwissenschaft 38 (1983) 214-217.

Ejemplo 4: Análisis comparativo

10 El producto de leche del ejemplo 1 (la leche de la invención) y el producto de leche del ejemplo 2 (leche de la técnica anterior) fueron analizados con respecto a:

- gusto cocinado - usando el análisis A anterior

- lacto-globulina desnaturalizada - usando el análisis C anterior

Los resultados se muestran en las Figs. 3 y 4.

15 Como se muestra en la Fig. 3, el sabor cocinado se encontró mediante la evaluación sensorial que era inferior en la muestra tratada con microfiltración en combinación con el tratamiento a temperatura elevada en comparación con la muestra sometida a un tratamiento a temperatura elevada solamente. El gusto cocinado en un producto de leche UHT estándar (inyección directa de vapor de agua, 143°C/6 s) era mucho más fuerte que en las otras muestras.

20 A lo largo de las mismas líneas, la Fig. 4 muestra que el grado de desnaturalización de beta-lactoglobulina sorprendentemente era inferior en la muestra tratada con microfiltración en combinación con el tratamiento a temperatura elevada comparada con la muestra sometida a tratamiento a temperatura elevada solamente. La desnaturalización en un producto de leche UHT estándar (inyección directa de vapor de agua, 143°C/6 s) era mucho más elevada que en las otras muestras.

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir una leche o producto relacionado con la leche, en que la leche o producto relacionado con la leche contiene 0 unidades formadoras de colonias/ml, comprendiendo el método las etapas de:
- a) proporcionar un derivado de leche,
- 5 b) separar físicamente microorganismos a partir de dicho derivado de leche, obteniendo así un derivado de leche parcialmente esterilizado, y
- c) exponer una primera composición que comprende dicho derivado de leche parcialmente esterilizado a un tratamiento a temperatura elevada (HT), en que la primera composición es calentada a una temperatura en el intervalo de 140-180°C, es mantenida en ese intervalo de temperaturas durante un período como máximo de 200 milisegundos y seguidamente es finalmente enfriada.
- 10 2. El método según la reivindicación 1, que comprende adicionalmente la etapa de:
- d) envasar una segunda composición que comprende la primera composición tratada con HT.
3. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el derivado de leche de la etapa a) comprende como máximo 60% p/p de grasa de leche.
- 15 4. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el derivado de leche de la etapa a) comprende como máximo 4% p/p de grasa de leche.
5. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el derivado de leche de la etapa a) comprende como máximo 0,1% p/p de grasa de leche.
- 20 6. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el derivado de leche de la etapa a) comprende leche con contenido reducido de lactosa.
7. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la duración del tratamiento con HT que incluye calentamiento, mantenimiento y enfriamiento de la primera composición, es como máximo de 500 milisegundos.
- 25 8. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la separación física de la etapa b) implica la bactofugación de dicho derivado de leche.
9. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la separación física de la etapa b) implica la microfiltración de dicho derivado de leche.
10. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la duración del enfriamiento del tratamiento con HT es como máximo de 50 milisegundos.
- 30 11. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el enfriamiento del tratamiento con HT comprende un enfriamiento súbito.
12. El método según cualquiera de las reivindicaciones 2-11, en el que el envasado de la etapa d) es un envasado aséptico.
- 35 13. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende adicionalmente una etapa de inactivación enzimática, comprendiendo dicha etapa de inactivación enzimática mantener el líquido que va a ser tratado a una temperatura en el intervalo de 70-90°C durante un período en el intervalo de 30-500 segundos.
14. El método según la reivindicación 13, en el que la primera composición es expuesta a la etapa de inactivación enzimática antes del tratamiento con HT de la etapa c).

15. El método según cualquiera de las reivindicaciones 13-14, en el que la segunda composición es expuesta a la etapa de inactivación enzimática antes del envasado de la etapa d).

Fig. 1

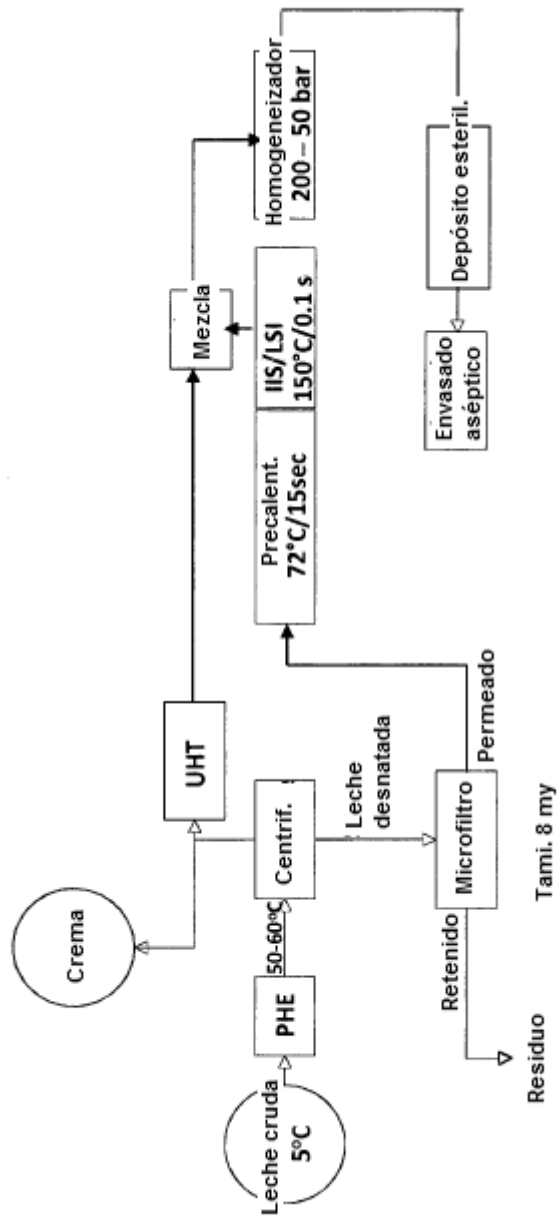


Fig. 2a

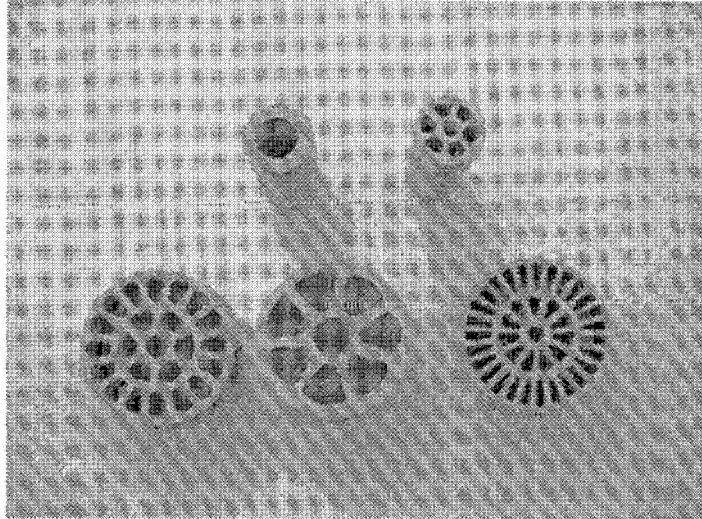


Fig. 2b

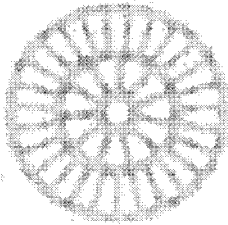


Fig. 2c

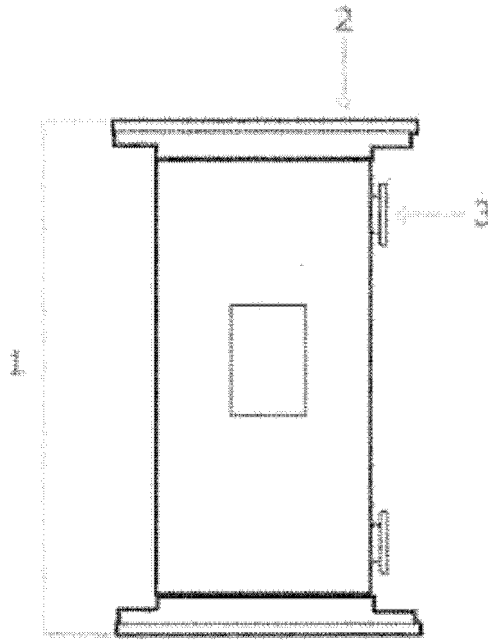


Fig. 3

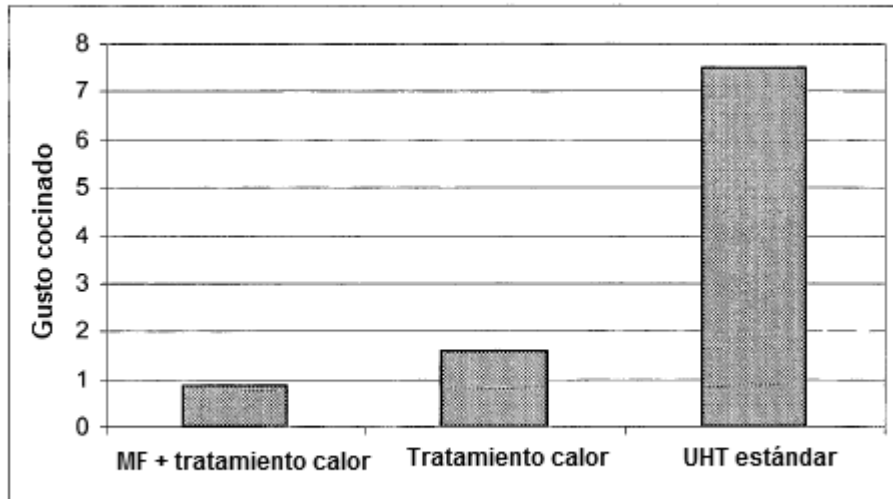


Fig. 4

