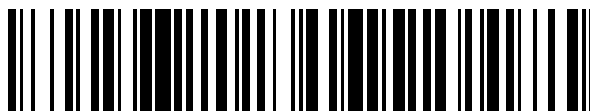


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 561 460**

51 Int. Cl.:

A23C 21/00 (2006.01)

A23J 1/20 (2006.01)

A23J 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.11.2013 E 13193171 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.11.2015 EP 2732707**

54 Título: **Método para producir una composición que contiene el macropéptido de caseína**

30 Prioridad:

15.11.2012 US 201261726724 P

15.11.2012 EP 12192731

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

26.02.2016

73 Titular/es:

ARLA FOODS AMBA (100.0%)

Sonderhoj 14

8260 Viby J, DK

72 Inventor/es:

CHRISTENSEN, JESPER y

HOLST, HANS HENRIK

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 561 460 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

Método para producir una composición que contiene el macropéptido de caseína

Campo de la invención

5 La presente invención hace referencia a un método para producir composiciones que contienen el macropéptido de caseína (MPC) con un alto rendimiento y que tienen muy poca cantidad de fenilalanina (Phe). Más específicamente, el método implica someter un alimento derivado de lactosuero a una combinación de ultrafiltración seguida de cromatografía de intercambio de cationes.

Antecedentes

10 El MPC es un péptido muy heterogéneo debido a una serie de patrones de glucosilación y diferentes grados de glucosilaciones con galactosamina, galactosa y ácido o-siálico. Por esta razón, el MPC no tiene una única carga, sino que en realidad existe una distribución de cargas.

15 El MPC es un péptido único que se produce de forma natural y que no contiene Phe. El MPC se forma, p. ej., durante la fabricación del queso, cuando la quimosina escinde específicamente la caseína κ entre los restos aminoácidos 105 y 106. La paracaseína κ (restos 1 a 105) se coagula, lo que forma la cuajada de queso, mientras que el MPC (restos 106 a 169) permanece en el lactosuero. El MPC es la tercera proteína más abundante del lactosuero endulzado, después de la lactoglobulina β (BLG) y de la lactalbúmina α (ALA), y constituye del 15% al 25% de la proteína total del lactosuero. El MPC está presente a una concentración de 1,2 a 1,5 g/l en el lactosuero.

La ausencia de Phe convierte al MPC en una fuente de proteínas interesante para las personas que padecen fenilcetonuria (PKU).

20 En la técnica se han descrito con anterioridad varios intentos de aislar el MPC desde el lactosuero.

La patente de los EE. UU. n.º US 5.278.288 describe un método para producir el MPC, en donde una cuajada de leche se somete a un intercambio de cationes y la fracción que no se fija se somete posteriormente a una ultrafiltración a pH bajo, mediante la cual el MPC monomérico y otras impurezas quedan aisladas en el filtrado de ultrafiltración. El pH del filtrado resultante se ajusta finalmente a pH 7, lo que conduce a la formación de oligómeros de MPC, y los oligómeros de MPC se concentran por ultrafiltración. El contenido de Phe de la composición resultante no se menciona en la patente de los EE. UU. n.º US 5.278.288.

25

La solicitud de patente internacional WO 99/18808 describe otro método para recuperar el MPC. Más específicamente, la solicitud de patente internacional WO 99/18808 describe un procedimiento en el cual el lactosuero se somete a dos etapas de intercambio de iones de polaridad opuesta una detrás de la otra. La patente de los EE. UU. US 5.278.288 mencionada más arriba se explica en el apartado Antecedentes de la solicitud de patente internacional WO 99/18808, y aquí se menciona que la recuperación del MPC según el método de la patente de los EE. UU. US 5.278.288 es antieconómicamente bajo.

30

La solicitud de patente internacional WO 98/14071 describe un método para producir composiciones de MPC. Este método implica someter el lactosuero a un procedimiento de intercambio de aniones y posteriormente a un segundo procedimiento de intercambio de iones que puede ser un procedimiento de intercambio de cationes o aniones. Se dice que la composición de MPC resultante tiene un contenido de Phe de como mucho el 0,5% (p/p) respecto a la cantidad total de aminoácidos determinada después de la hidrólisis de proteínas mediante el ácido clorhídrico.

35

Yue Xu et al. («Separation of bovine immunoglobulin G and glycomacropéptido from dairy whey», *Process Biochemistry*, 36, 1 de enero de 2000, páginas 393-399) describen un método para aislar la inmunoglobulina G bovina y el glucomacropéptido (GMP) del lactosuero con caseína mediante el intercambio de aniones con el uso de una resina de intercambio de aniones débil. El GMP se fija a un intercambiador de cationes débil a pH 4,7 y se eluye posteriormente.

40

Laclair et al. («Purification and Use of Glycomacropéptido for Nutritional Management of Phenylketonuria», *Journal of Food Science*, vol. 74, n.º 4, 2009, páginas E199-E206) describen un procedimiento para la purificación del glucomacropéptido mediante el intercambio de cationes seguido de ultrafiltración.

45

La solicitud de patente internacional WO 2012/012237 A1 describe otra estrategia para purificar el GMP del lactosuero que incluye procedimientos de ultrafiltración cargados que utilizan variaciones del pH para separar más las especies de proteínas. La solicitud de patente internacional WO 2012/012237 A1 describe que el GMP puede separarse de la lactalbúmina α y de la lactoglobulina β mediante la realización de la filtración cargada a pH entre 3 y 4.

50

Compendio de la invención

A diferencia de lo que se sabe en general en la técnica (véase, p. ej., la solicitud de patente internacional WO 99/18808, página 2), los presentes inventores han descubierto que la combinación de ultrafiltración e intercambio de cationes puede conducir a un procedimiento económico de separación del MPC de los alimentos derivados del lactosuero. Sin embargo, esto requiere que la etapa de ultrafiltración se realice antes de la etapa de intercambio de cationes, y no como en la patente de los EE. UU. n.º 5.278.288 que describe una etapa de intercambio de cationes seguida por una etapa de ultrafiltración.

Mediante el uso de la presente invención, el MPC se puede aislar de forma barata con un rendimiento muy alto y con muy poca cantidad de Phe.

Así pues, un aspecto de la invención hace referencia a un método para producir una composición que contiene el macropéptido de caseína que tiene muy poca cantidad de fenilalanina, en donde el método comprende las etapas de

- a) proporcionar un alimento derivado del lactosuero que comprende el macropéptido de caseína (MPC) y al menos una proteína más, en donde dicho alimento derivado del lactosuero tiene un pH de a lo sumo 4,
- b) someter dicho alimento derivado del lactosuero a ultrafiltración (UF) mediante un filtro para ultrafiltración que permite el paso del MPC monomérico, con lo que se proporciona un filtrado de UF y un retenido de UF, en donde dicho filtrado de UF está enriquecido con respecto al MPC,
- c) poner en contacto una primera composición derivada de dicho filtrado de UF con un material de intercambio de cationes, y
- d) recoger la fracción de la primera composición que no está fijada al material de intercambio de cationes, con lo que se obtiene la composición que contiene el MPC.

En el contexto de la presente invención, la terminología «macropéptido de caseína» o «MPC» hace referencia al péptido que puede, p. ej., liberarse de la caseína κ tras la exposición a la quimosina, p. ej., durante la fabricación del queso. La terminología MPC engloba tanto las formas glucosiladas del MPC como las que no están glucosiladas. En la bibliografía científica, el MPC a veces también se denomina glucomacropéptido de caseína (cGMP) o glucomacropéptido (GMP).

A pH bajo, el MPC existe como moléculas de MPC individuales, también denominado un «MPC monomérico». A pH más alto, las moléculas de MPC individuales comienzan a agregarse, lo que forma dímeros de MPC (un complejo de dos moléculas de MPC individuales) u oligómeros de MPC (complejos de más de dos moléculas de MPC individuales).

En el contexto de la presente invención, una composición que tiene poca cantidad de fenilalanina (Phe) contiene como mucho el 0,5% (p/p) de Phe con respecto a la cantidad total de proteínas de la composición. Tal y como se describe en la presente memoria, se prefiere incluso una cantidad aún menor de Phe. El contenido de Phe de una composición se determina de acuerdo con la ISO 13903:2005 (Productos para alimentación animal. Determinación del contenido de aminoácidos).

Breve descripción de las figuras

La figura 1 es una ilustración esquemática de una realización de la invención en la que el filtrado de UF (3) se utiliza como la primera composición.

La figura 2 es una ilustración esquemática de una realización de la invención en la que el filtrado de UF (3) se utiliza como la primera composición y en donde el retenido de UF (2) se diluye con agua (5) y se recicla como alimento (5) para el sistema de ultrafiltración.

La figura 3 es una ilustración esquemática de una realización de la invención en la que tres unidades de UF se disponen de forma secuencial, filtrando primero el alimento derivado del lactosuero (1), luego el retenido de UF (2) de la primera unidad de UF se diluye con agua (5) y, finalmente, el retenido de UF (2') de la segunda unidad de UF también se diluye con agua (5). Los filtrados de UF de las tres unidades de UF (3, 3' y 3'') se combinan y se utilizan como la primera composición.

Descripción detallada de la invención

Un aspecto de la invención hace referencia a un método para producir una composición que contiene el macropéptido de caseína que tiene poca cantidad de fenilalanina, en donde el método comprende las etapas de

- a) proporcionar un alimento derivado del lactosuero que comprende el macropéptido de caseína (MPC) y al menos una proteína más, en donde dicho alimento derivado del lactosuero tiene un pH de como mucho 4,
- b) someter dicho alimento derivado del lactosuero a ultrafiltración con un filtro para ultrafiltración que permite

el paso del MPC monomérico, con lo que se proporciona un filtrado de UF y un retenido de UF, en donde dicho retenido está enriquecido con respecto al MPC,

- c) poner en contacto una primera composición procedente de dicho filtrado de UF con un material de intercambio de cationes, y
- 5 d) recoger la fracción de la primera composición que no está fijada al material de intercambio de cationes, con lo que se obtiene la composición que contiene el MPC.

El alimento derivado del lactosuero es el alimento líquido que se ha de someter a la ultrafiltración. El alimento derivado del lactosuero puede, por ejemplo, ser uno de los flujos de procesamiento que típicamente se obtienen durante el procesamiento del lactosuero.

- 10 En el contexto de la presente invención, la terminología «lactosuero» hace referencia a la fracción líquida que se obtiene cuando la caseína se coagula por la escisión enzimática de la caseína y, en particular, de la caseína κ , como se produce, p. ej., durante la producción de queso basado en el cuajo.

- 15 En un alimento derivado del lactosuero, al menos el 50% (p/p) de la proteína total procede del lactosuero. En algunas realizaciones preferidas de la invención, al menos el 90% (p/p) y con preferencia sustancialmente toda la proteína total del alimento derivado del lactosuero procede del lactosuero.

El lactosuero es preferiblemente suero de leche de mamífero, tal como, p. ej., leche de humano, vaca, oveja, cabra, búfala, camella, lama, yegua y/o cierva. En algunas realizaciones preferidas de la invención, el alimento derivado del lactosuero procede de leche bovina.

- 20 En algunas realizaciones preferidas de la invención, el alimento derivado del lactosuero procede del lactosuero para queso o de un concentrado del mismo. El alimento derivado del lactosuero puede, por ejemplo, consistir en lactosuero para queso o un concentrado de proteínas del mismo.

- 25 En el contexto de la presente invención, la terminología «concentrado de proteínas» de un líquido hace referencia a una composición líquida o una composición en polvo que contiene sustancialmente todas las proteínas del líquido original, pero menos agua y opcionalmente también menos sal, glúcidos y otras moléculas pequeñas. Los concentrados de proteínas pueden, p. ej., prepararse por evaporación o por ultrafiltración con una membrana permeable a las moléculas pequeñas.

En algunas realizaciones de la invención, el alimento derivado del lactosuero procede de un alimento con poca lactoglobulina β o de un concentrado de proteínas del mismo.

- 30 En otras realizaciones preferidas de la invención, el alimento derivado del lactosuero procede de lactosuero obtenido de la caseína coagulada del cuajo o caseinato o un concentrado de los mismos. El alimento derivado del lactosuero puede, por ejemplo, consistir en lactosuero de caseína coagulada del cuajo o caseinato o un concentrado de los mismos. Tal lactosuero se obtiene, por ejemplo, durante la producción del queso basada en el aislado de caseína micelar en vez de la leche.

- 35 El contenido de MPC del alimento derivado del lactosuero podría variar y depende de qué alimento derivado del lactosuero específico se utiliza.

- 40 En algunas realizaciones preferidas de la invención, el alimento derivado del lactosuero contiene una cantidad de MPC de al menos el 1% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. Por ejemplo, el alimento derivado del lactosuero puede contener una cantidad de MPC de al menos el 5% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. Preferiblemente, el alimento derivado del lactosuero contiene una cantidad de MPC de al menos el 10% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. El alimento derivado del lactosuero puede contener, p. ej., una cantidad de MPC de al menos el 15% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas.

- 45 El alimento derivado del lactosuero podría contener, por ejemplo, una cantidad de MPC en el margen del 1% al 60% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. Por ejemplo, el alimento derivado del lactosuero puede contener una cantidad de MPC en el margen del 5% al 50% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. Preferiblemente, el alimento derivado del lactosuero contiene una cantidad de MPC en el margen del 10% al 40% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. El alimento derivado del lactosuero puede contener, p. ej., una cantidad de MPC en el margen del 15% al 30% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas.

- 50 La cantidad de MPC y la cantidad total de proteínas de una composición, p. ej., un alimento derivado del lactosuero o un producto relacionado, se determina preferiblemente como se describe en Thomä et al. (Thomä, C., Krause, I., y Kulozik, U. (2006). «Precipitation behaviour of caseinomacropptides and their simultaneous determination with whey proteins by RP-HPLC». *International Dairy Journal*, 16, 285-293).

Tal y como se ha dicho, el alimento derivado del lactosuero contiene al menos una proteína más y típicamente al menos varias proteínas más. Las proteínas adicionales normalmente comprenden proteínas que están presentes inherentemente en el lactosuero.

5 En algunas realizaciones preferidas de la invención, la al menos una proteína más comprende al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en inmunoglobulina G, inmunoglobulina M, seroalbúmina bovina (SAB), lactoglobulina β , lactalbúmina α , caseína β , péptidos procedentes de la caseína, proteínas de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche (MGGL) y una combinación de las mismas.

Se debe advertir que, en el contexto de la presente invención, la terminología «péptidos procedentes de caseína» no engloba el MPC incluso aunque el MPC también proceda de la caseína.

10 Por ejemplo, la al menos una proteína más puede comprender al menos dos proteínas seleccionadas del grupo que consiste en inmunoglobulina G, inmunoglobulina M, seroalbúmina bovina (SAB), lactoglobulina β , lactalbúmina α , caseína β , péptidos procedentes de la caseína, proteínas de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche (MGGL) y una combinación de las mismas.

15 El alimento derivado del lactosuero podría además contener otros componentes que normalmente se encuentran en el lactosuero, tales como sales, grasa, lactosa y otros glúcidos.

Por lo general, se prefiere que el alimento derivado del lactosuero contenga sólo una cantidad pequeña de caseína y con preferencia sustancialmente ninguna caseína en absoluto.

En algunas realizaciones de la invención, el alimento derivado del lactosuero contiene una cantidad total de caseína de como mucho el 3% (p/p) respecto a la cantidad total de proteínas.

20 Por ejemplo, el alimento derivado del lactosuero puede contener una cantidad de caseína de como mucho el 1% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. Preferiblemente, el alimento derivado del lactosuero contiene una cantidad de caseína de como mucho el 0,1% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. El alimento derivado del lactosuero puede, p. ej., contener una cantidad de caseína de como mucho el 0,01% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas.

25 En algunas realizaciones preferidas de la invención, el alimento derivado del lactosuero contiene una cantidad total de proteínas de al menos el 0,2% (p/p) con respecto al peso del alimento derivado del lactosuero. Por ejemplo, el alimento derivado del lactosuero puede contener una cantidad total de proteínas de al menos el 0,8% (p/p) con respecto al peso del alimento derivado del lactosuero. Preferiblemente, el alimento derivado del lactosuero contiene una cantidad total de proteínas de al menos el 2% (p/p) con respecto al peso del alimento derivado del lactosuero. El alimento derivado del lactosuero puede contener, por ejemplo, una cantidad total de proteínas de al menos el 5% (p/p) con respecto al peso del alimento derivado del lactosuero.

30 En algunas realizaciones de la invención, el alimento derivado del lactosuero contiene una cantidad total de proteínas en el margen del 0,2% al 20% (p/p) con respecto al peso del alimento derivado del lactosuero. Por ejemplo, el alimento derivado del lactosuero podría contener una cantidad total de proteínas en el margen del 0,8 al 15% (p/p) con respecto al peso del alimento derivado del lactosuero. Preferiblemente, el alimento derivado del lactosuero contiene una cantidad total de proteínas en el margen del 2% al 14% (p/p) con respecto al peso del alimento derivado del lactosuero. El alimento derivado del lactosuero podría contener, por ejemplo, una cantidad total de proteínas en el margen del 4 al 10% (p/p) con respecto al peso del alimento derivado del lactosuero, tal como, p. ej., en el margen del 4% al 8% (p/p).

40 Se prefiere que el alimento derivado del lactosuero tenga un pH que favorezca la disociación de los complejos oligoméricos de MPC en el MPC monomérico. El alimento derivado del lactosuero podría, por ejemplo, tener un pH en el margen de pH de 1 a 4.

45 En algunas realizaciones de la invención, el alimento derivado del lactosuero tiene un pH en el margen de 1,5 a 3,8. Por ejemplo, el alimento derivado del lactosuero puede tener un pH en el margen de 2,0 a 3,6. El alimento derivado del lactosuero puede, p. ej., tener un pH en el margen de 2,5 a 3,5, tal como, p. ej., en el margen de 2,8 a 3,2.

A menos que se mencione de otra manera, los valores de pH mencionados en la presente memoria se miden a 12 °C.

50 Tal y como se ha dicho, la etapa b) implica someter el alimento derivado del lactosuero a ultrafiltración con un filtro para ultrafiltración que permite el paso del MPC monomérico, con lo que se proporciona un filtrado de UF enriquecido con respecto al MPC, y un retenido de UF.

El filtrado de UF está enriquecido con respecto al MPC en el sentido de que el porcentaje en peso del MPC con respecto a la cantidad total de proteínas en el filtrado de UF es más alto que el del alimento derivado del lactosuero.

Puede ocurrir que la concentración absoluta de MPC en el filtrado de UF sea más bajo que la concentración absoluta del MPC en el alimento derivado del lactosuero, pero esto no es un problema mientras el filtro para ultrafiltración retenga un porcentaje más grande de las otras proteínas que del MPC.

5 Algunos ejemplos de aplicación del procedimiento de ultrafiltración pueden encontrarse, por ejemplo, en la patente europea EP 1 037 537 B1, que se incorpora en la presente memoria por referencia para todos los propósitos.

10 La etapa b) puede además implicar la denominada diafiltración del retenido de UF inicial, para lavar más MPC entre el que permanece en el retenido. La diafiltración implica diluir el retenido de UF inicial con un líquido que no contiene sustancialmente ninguna proteína. Ejemplos útiles de tal líquido son, p. ej., agua, filtrado de nanofiltración del lactosuero o de la leche, o filtrado de UF sin MPC del lactosuero o de la leche. Como alternativa, el líquido utilizado para la dilución puede ser un filtrado de ósmosis inversa. Los filtrados de osmosis inversa pueden obtenerse, p. ej., de la ósmosis inversa de leche, lactosuero, filtrados de UF de la leche o de filtrados de UF del lactosuero y principalmente comprende agua e iones monovalentes pequeños.

15 A continuación, el líquido diluido se somete a ultrafiltración en las mismas condiciones o unas condiciones similares a las requeridas para la etapa de UF inicial con el uso del mismo filtro de UF o uno similar. Si fuera necesario, el pH del retenido diluido se debería ajustar a un pH de como mucho pH 4. La primera etapa de diafiltración de UF da lugar a la formación de un primer filtrado de diafiltración de UF y a un primer retenido de diafiltración de UF.

Este procedimiento se puede repetir una o más veces, cada vez con dilución del retenido anterior, con un ajuste del pH si fuera necesario, y a continuación sometiendo el nuevo alimento a ultrafiltración, lo que da lugar a la formación de más filtrados de diafiltración de UF enriquecidos en MPC y a otros retenidos de diafiltración de UF con poco MPC.

20 El primero y los siguientes filtrados de diafiltración de UF se combinan preferiblemente con el filtrado de UF inicial para formar parte de la primera composición.

El filtro para ultrafiltración es el componente que es capaz de retener moléculas más grandes en el lado del filtro por el que se alimenta y que permite el paso de moléculas más pequeñas. El filtro para ultrafiltración puede ser, por ejemplo, una membrana delgada que contiene poros que tienen una distribución específica del tamaño de los poros.

25 El filtro para ultrafiltración se elige preferiblemente de tal modo que, durante la operación, sea capaz de permitir el paso del MPC monomérico a través del filtro y que sea capaz de retener la lactoglobulina β y preferiblemente también otras proteínas parecidas del lactosuero. Como sabrá el experto en la técnica, las características de separación de un filtro para ultrafiltración dependen de sus estructuras física y química, de las características del material de alimento, y de los parámetros del procedimiento mediante el cual se realiza la ultrafiltración.

30 En algunas realizaciones preferidas de la invención, el filtro para ultrafiltración tiene un umbral nominal de masa molecular en el margen de 5 kDa a 300 kDa. Por ejemplo, el filtro para ultrafiltración podría tener un umbral nominal de masa molecular en el margen de 10 kDa a 150 kDa. Preferiblemente, el filtro para ultrafiltración podría tener un umbral nominal de masa molecular en el margen de 20 kDa a 100 kDa. El filtro para ultrafiltración podría tener, p. ej., un umbral nominal de masa molecular en el margen de 30 kDa a 80 kDa, tal como p. ej., en el margen de 35 kDa a 60 kDa.

35 Por ejemplo, el filtro para ultrafiltración podría tener un umbral nominal de masa molecular en el margen de 5 kDa a 100 kDa. Preferiblemente, el filtro para ultrafiltración podría tener un umbral nominal de masa molecular en el margen de 10 kDa a 70 kDa. El filtro para ultrafiltración podría, p. ej., tener un umbral nominal de masa molecular en el margen de 15 kDa a 50 kDa, tal como, p. ej., en el margen de 20 kDa a 40 kDa. Como alternativa, el filtro para ultrafiltración podría tener un umbral nominal de masa molecular en el margen de 10 kDa a 50 kDa.

40 El umbral nominal de masa molecular de un filtro para ultrafiltración lo da a conocer típicamente el fabricante del filtro. El «umbral nominal de masa molecular» se define como el soluto de masa molecular más baja (en dalton) en el cual el 90% del soluto queda retenido por el filtro. El «umbral nominal de masa molecular» se determina de acuerdo con el estándar de ASTM E 1343-90.

45 La ultrafiltración podría, p. ej., realizarse con un sistema de ultrafiltración que incluye un filtro dispuesto para la filtración de flujo cruzado. Ejemplos no limitantes de las disposiciones útiles del filtro son los sistemas de ultrafiltración enrollados en espiral, los sistemas de membrana con fibras huecas y los sistemas de membrana tubulares.

50 En algunas realizaciones preferidas, el filtro para ultrafiltración es una membrana de ultrafiltración, y preferiblemente una membrana polimérica. Como alternativa, la membrana podría ser una membrana metálica o una membrana cerámica.

Más ejemplos sobre los filtros de ultrafiltración útiles se pueden encontrar en «Membrane filtration and related molecular separation technologies», APV Systems, Nielsen W. K. (Ed.), Silkeborg Bogtrykkeri A/S (2003, ISBN

8788016757-9788788016758.

5 La temperatura del alimento derivado del lactosuero durante la ultrafiltración podría variar dentro de un margen amplio, pero típicamente se prefiere que la temperatura esté dentro del margen de 5 a 60 °C. Por ejemplo, la temperatura del alimento derivado del lactosuero durante la ultrafiltración podría estar en el margen de 6 a 40 °C, preferiblemente en el margen de 7 a los 30 °C, e incluso más preferiblemente en el margen de 8 a 20 °C.

En la actualidad es preferible mantener la temperatura del alimento derivado del lactosuero en el extremo más bajo de los márgenes mencionados anteriormente. Así pues, en algunas realizaciones preferidas de la invención, la temperatura del alimento derivado del lactosuero durante la ultrafiltración está en el margen de 5 a 20 °C, preferiblemente en el margen de 7 a 16 °C, e incluso lo más preferible en el margen de 8 a 12.

10 La presión utilizada durante la ultrafiltración puede variar según el tipo específico y el diseño del filtro de UF que se utiliza. Típicamente, se utiliza una presión transfiltro de 0,2 a 10 bar. La presión transfiltro podría estar, p. ej., en el margen de 1 a 8 bar. Como alternativa, la presión transfiltro podría estar, por ejemplo, en el margen de 2 a 6 bar. Por ejemplo, la presión transfiltro podría estar en el margen de 3 a 5 bar, tal como, p. ej., aproximadamente 4 bar.

15 Se pueden encontrar más detalles en cuanto a la implantación práctica y al funcionamiento de la ultrafiltración en el libro «Membrane filtration and related molecular separation technologies», APV Systems, Nielsen W. K. (Ed.), Silkeborg Bogtrykkeri A/S (2003), ISBN 8788016757-9788788016758.

20 En algunas realizaciones preferidas de la invención, el filtrado de UF contiene una cantidad total de MPC de al menos el 55% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. Por ejemplo, el filtrado de UF podría contener una cantidad total de MPC de al menos el 60% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. El filtrado de UF podría contener, p. ej., una cantidad total de MPC de al menos el 65% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas.

25 El filtrado de UF tiene preferiblemente poca cantidad de agregados de proteínas. Los agregados proteicos tienen una masa molecular más alta y, así pues, un coeficiente de difusión más bajo que las moléculas de proteínas individuales y, por lo tanto, son difíciles de retirar en la etapa de intercambio de cationes posterior que se utiliza para fijar las proteínas que no son la MPC.

En el contexto de la presente invención, la terminología «agregados de proteínas» se refiere a partículas de moléculas de proteínas agregadas, en donde dichas partículas tienen un diámetro hidrodinámico medio típico de al menos 10 nm.

30 El contenido de los agregados proteicos del filtrado de UF se puede cuantificar mediante la medición del nivel de dispersión que los agregados proteicos ocasionan en la luz que tiene una longitud de onda de 500 nm. El nivel de dispersión se determina con una configuración normal para medir la absorbancia que incluye una cubeta estándar de 1 cm.

35 En algunas realizaciones preferidas de la invención, el filtrado de UF tiene una absorbancia a 500 nm de como mucho 0,1 UA (longitud recorrida de 1 cm). Por ejemplo, el filtrado de UF puede tener una absorbancia a 500 nm de como mucho 0,05 UA. Preferiblemente, el filtrado de UF tiene una absorbancia a 500 nm de como mucho 0,01 UA. Incluso más preferiblemente, el filtrado de UF tiene una absorbancia a 500 nm de como mucho 0,001 UA.

Lo ideal es que el filtrado de UF no tenga una absorbancia detectable en absoluto a 500 nm.

40 En algunas realizaciones preferidas de la invención, el filtrado de UF contiene como mucho el 1% (p/p) de agregados proteicos con respecto a la cantidad total de proteínas del filtrado de UF. Por ejemplo, el filtrado de UF podría contener como mucho el 0,1% (p/p) de agregados proteicos con respecto a la cantidad total de proteínas. Preferiblemente, el filtrado de UF contiene como mucho el 0,01% (p/p) de agregados proteicos con respecto a la cantidad total de proteínas. Incluso más preferiblemente, el filtrado de UF contiene como mucho el 0,001% (p/p) de agregados proteicos respecto a la cantidad total de proteínas del filtrado de UF.

45 Tal y como se ha dicho, la etapa c) implica poner en contacto una primera composición procedente de dicho filtrado de UF con un material de intercambio de cationes.

50 En el contexto de la presente invención, la terminología «primera composición» se refiere al alimento que contiene el MPC que se ha sometido al intercambio de cationes durante la etapa c). La primera composición es preferiblemente una composición acuosa líquida. La primera composición procede del filtrado de UF en el sentido de que al menos el 50% (p/p) del MPC de la primera composición procede del filtrado de UF. Si la etapa b) además implica la diafiltración de UF del retenido de UF inicial, la primera composición procede del filtrado de UF en el sentido de que al menos el 50% (p/p) del MPC de la primera composición se origina a partir del filtrado de UF inicial y uno o varios filtrados de diafiltración de UF posteriores.

5 Por ejemplo, al menos el 75% (p/p) del MPC de la primera composición se podría originar a partir del filtrado de UF y cualquier otro filtrado de diafiltración de UF. Preferiblemente, al menos el 90% (p/p) del MPC de la primera composición procede del filtrado de UF y cualquier otro filtrado de diafiltración de UF. Incluso más preferiblemente, al menos el 90% (p/p) del MPC de la primera composición procede del filtrado de UF y cualquier otro filtrado de diafiltración de UF, tal como, p. ej., todos los MPC.

En algunas realizaciones preferidas de la invención, la primera composición es el filtrado de UF.

Sin embargo, en otras realizaciones de la invención, el filtrado de UF se podría someter a un procedimiento adicional con varias etapas que conducen a la formación de la primera composición. Tales etapas adicionales del procedimiento podrían, p. ej., implicar ajustes de temperatura, concentración, ajustes de pH y/o más fraccionamiento.

10 En algunas realizaciones de la invención, la provisión de la primera composición implica ajustar el pH y concentrar el filtrado de UF y cualquier otro filtrado de diafiltración de UF.

En otras realizaciones de la invención, la provisión de la primera composición implica concentrar el filtrado de UF, p. ej., mezclado con cualquier otro filtrado de diafiltración de UF y ajustar los filtrados combinados con respecto al pH y a la conductividad.

15 En algunas realizaciones preferidas de la invención, la primera composición contiene una cantidad total de MPC de al menos el 55% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. Por ejemplo, la primera composición podría contener una cantidad total de MPC de al menos el 60% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. La primera composición podría, p. ej. contener una cantidad total de MPC de al menos el 65% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas.

20 La primera composición podría, por ejemplo, contener una cantidad total de MPC en el margen del 55% al 95% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. Por ejemplo, la primera composición podría contener una cantidad total de MPC en el margen del 60% al 90% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. La primera composición podría, p. ej., contener una cantidad total de MPC en el margen del 65% al 80% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas.

25 Tal y como se ha dicho, la primera composición contiene al menos una proteína más y típicamente al menos varias proteínas más. Las proteínas adicionales normalmente comprenden proteínas que inherentemente están presentes en el lactosuero.

30 En algunas realizaciones preferidas de la invención, la al menos una proteína adicional comprende al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en inmunoglobulina G, inmunoglobulina M, seroalbúmina bovina (SAB), lactoglobulina β , lactalbúmina α , caseína β , péptidos derivados de la caseína, proteínas de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche (MGGL), y una combinación de las mismas.

35 Por ejemplo, al menos una proteína adicional podría comprender al menos dos proteínas seleccionadas del grupo que consiste en inmunoglobulina G, inmunoglobulina M, seroalbúmina bovina (SAB), lactoglobulina β , lactalbúmina α , caseína β , péptidos derivados de la caseína, proteínas de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche (MGGL), y una combinación de las mismas.

40 En algunas realizaciones de la invención, al menos el 50% (p/p) de la cantidad total de las proteínas adicionales de la primera composición procede del filtrado de UF y cualquier otro filtrado de diafiltración de UF. Por ejemplo, al menos el 75% (p/p) de las proteínas adicionales de la primera composición podría proceder del filtrado de UF y cualquier otro filtrado de diafiltración de UF. Preferiblemente, al menos el 90% (p/p) de las proteínas adicionales de la primera composición procede del filtrado de UF y cualquier otro filtrado de diafiltración de UF. Incluso más preferiblemente, al menos el 90% (p/p) de las proteínas adicionales de la primera composición procede del filtrado de UF y cualquier otro filtrado de diafiltración de UF, tal como, p. ej., todas las proteínas adicionales.

45 En algunas realizaciones preferidas de la invención, la primera composición contiene una cantidad total de proteínas adicionales de como mucho el 45% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. Por ejemplo, la primera composición podría contener una cantidad total de proteínas adicionales de como mucho el 40% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. La primera composición podría, p. ej., contener una cantidad total de proteínas adicionales de como mucho el 35% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas.

50 La primera composición podría, por ejemplo, contener una cantidad total de proteínas adicionales en el margen del 5% al 45% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. Por ejemplo, la primera composición podría contener una cantidad total de proteínas adicionales en el margen del 10% al 40% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. La primera composición podría, p. ej., contener una cantidad total de proteínas adicionales en el margen del 20% al 35% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas.

La primera composición puede además contener otros componentes que normalmente se encuentran en el

lactosuero, tales como sales, grasa, lactosa y otros glúcidos.

Por lo general, se prefiere que la primera composición sólo contenga pequeñas cantidades de caseína y, con preferencia, sustancialmente sin ninguna caseína en absoluto.

5 En algunas realizaciones de la invención, la primera composición contiene una cantidad total de caseína de como mucho el 0,5% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas.

Por ejemplo, la primera composición podría contener una cantidad de caseína de como mucho el 0,1% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. Preferiblemente, la primera composición contiene una cantidad de caseína de como mucho el 0,01% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas. La primera composición podría, p. ej., contener una cantidad de caseína de como mucho el 0,001% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas.

10 En algunas realizaciones preferidas de la invención, la primera composición contiene una cantidad total de proteínas de al menos el 0,1% (p/p) con respecto al peso de la primera composición. Por ejemplo, la primera composición podría contener una cantidad total de proteínas de al menos el 0,2% (p/p) con respecto al peso de la primera composición. Preferiblemente, la primera composición contiene una cantidad total de proteínas de al menos el 0,5% (p/p) con respecto al peso de la primera composición. La primera composición podría, por ejemplo, contener una
15 cantidad total de proteínas de al menos el 1% (p/p) con respecto al peso de la primera composición.

En algunas realizaciones de la invención, la primera composición contiene una cantidad total de proteínas en el margen del 0,1% al 20% (p/p) con respecto al peso de la primera composición. Por ejemplo, la primera composición podría contener una cantidad total de proteínas en el margen del 0,2% al 15% (p/p) con respecto al peso de la primera composición. Preferiblemente, la primera composición contiene una cantidad total de proteínas en el margen del 0,5% al 10% (p/p) con respecto al peso de la primera composición. La primera composición podría, por ejemplo, contener una cantidad total de proteínas en el margen del 1% al 5% (p/p) con respecto al peso de la primera
20 composición, tal como, p. ej., en el margen del 1% al 2% (p/p).

De igual manera que el filtrado de UF, la primera composición tiene preferiblemente poca cantidad de agregados de proteínas.

25 En algunas realizaciones preferidas de la invención, la primera composición tiene una absorbancia a 500 nm de como mucho 0,1 UA (longitud recorrida de 1 cm). Por ejemplo, la primera composición podría tener una absorbancia a 500 nm de como mucho 0,05 UA. Preferiblemente, la primera composición tiene una absorbancia a 500 nm de como mucho 0,01 UA. Incluso más preferiblemente, la primera composición tiene una absorbancia a 500 nm de como mucho 0,001 UA.

30 Lo ideal es que la primera composición no tenga ninguna absorbancia detectable en absoluto a 500 nm.

En algunas realizaciones preferidas de la invención, la primera composición contiene como mucho el 1% (p/p) de agregados proteicos con respecto a la cantidad total de proteínas de la primera composición. Por ejemplo, la primera composición podría contener como mucho el 0,1% (p/p) de agregados proteicos con respecto a la cantidad total de proteínas. Preferiblemente, la primera composición contiene como mucho el 0,01% (p/p) de agregados proteicos con respecto a la cantidad total de proteínas. Incluso más preferiblemente, la primera composición contiene como mucho el 0,001% (p/p) de agregados proteicos con respecto a la cantidad total de proteínas de la primera composición.
35

La primera composición tiene típicamente un pH en el margen de 2 a 5.

40 En algunas realizaciones de la invención, la primera composición tiene un pH en el margen de 2,3 a 4,6. Por ejemplo, la primera composición podría tener un pH en el margen de 2,6 a 4,2. La primera composición podría tener, p. ej., un pH en el margen de 2,8 a 4,0, tal como p. ej., en el margen de 3,0 a 3,7.

La primera composición podría tener, p. ej., un pH en el margen de 2,5 a 4,8. Por ejemplo, la primera composición podría tener un pH en el margen de 3,0 a 4,6. La primera composición podría tener, p. ej., un pH en el margen de 3,4 a 4,4, tal como, p. ej., en el margen de 3,6 a 4,2.

45 En algunas realizaciones preferidas de la invención, la primera composición tiene una conductividad en el margen de 1 a 8 mS/cm a 12 °C.

La «conductividad» (a veces denominada «conductancia específica») de una solución acuosa es una medida de la capacidad de la solución para conducir la electricidad. La conductividad se podría, p. ej., determinar mediante la medición de la resistencia AC de la solución entre dos electrodos y el resultado típicamente se da en la unidad milisiemens por centímetro (mS/cm). La conductividad se podría, p. ej., medir de acuerdo con el método n.º 120.1 de la EPA (la Agencia de Protección Medioambiental de los EE. UU.).
50

Por ejemplo, la conductividad de la primera composición podría estar en el margen de 1,5 a 7 mS/cm a 12 °C. En

algunas realizaciones preferidas de la invención, podría ser incluso más preferible que la conductividad de la primera composición esté en el margen de 2 a 5 mS/cm a 12 °C.

5 La primera composición podría, p. ej., tener una conductividad en el margen de 0,5 a 5 mS/cm a 12 °C. Por ejemplo, la primera composición podría, p. ej., tener una conductividad en el margen de 0,6 a 4 mS/cm a 12 °C. Como alternativa, la primera composición podría tener, p. ej., una conductividad en el margen de 0,8 a 2 mS/cm a 12 °C.

En algunas realizaciones preferidas de la invención, la primera composición tiene una conductividad en el margen de 1 a 8 mS/cm a 12 °C y un pH en el margen de 2 a 5 a 12 °C.

En otras realizaciones preferidas de la invención, la primera composición tiene una conductividad en el margen de 1,5 a 6 mS/cm a 12 °C y un pH en el margen de 2,5 a 3,9 a 12 °C.

10 En otras realizaciones preferidas de la invención, la primera composición tiene una conductividad en el margen de 2 a 5 mS/cm a 12 °C y un pH en el margen de 3,0 a 3,8 a 12 °C.

Por ejemplo, la primera composición podría tener una conductividad en el margen de 0,5 a 5 mS/cm a 12 °C y un pH en el margen de pH de 3,0 a 4,8 a 12 °C.

15 Como alternativa, la primera composición podría tener una conductividad en el margen de 0,7 a 3 mS/cm a 12 °C y un pH en el margen de pH de 3,5 a 4,5 a 12 °C.

En algunas realizaciones de la invención, el material de intercambio de cationes está empaquetado en una columna cuando se pone en contacto con la primera composición.

El material de intercambio de cationes se puede, por ejemplo, suspender en la primera composición como partículas que fluyen con libertad cuando se ponen en contacto con la primera composición.

20 En algunas realizaciones de la invención, el material de intercambio de cationes comprende una fase sólida y uno o más grupos aniónicos que son capaces de unirse a los cationes.

Preferiblemente, al menos algunos de los grupos aniónicos están fijados a la fase sólida.

En algunas realizaciones de la invención, la fase sólida del material de intercambio de cationes comprende uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en muchas partículas, un filtro y una membrana.

25 La fase sólida podría, por ejemplo, comprender polisacárido, o incluso consistir esencialmente en él. Los polisacáridos entrecruzados son particularmente preferidos. Ejemplos de polisacáridos útiles son celulosa, agarosa y/o dextrano.

Como alternativa, la fase sólida podría comprender un polímero no glucídico, o incluso consistir esencialmente en él. Ejemplos de polímeros no glucídicos útiles son metacrilato, poliestireno y/o estireno-divinilbenceno.

30 En algunas realizaciones preferidas de la invención, los grupos aniónicos podrían comprender, o incluso consistir en, p. ej., grupos fuertes para intercambio de cationes, tales como, p. ej., grupos de ácido sulfónico. Como alternativa, o adicionalmente, los grupos aniónicos podrían comprender, p. ej., o incluso consistir, en grupos débiles para intercambio de cationes, tales como, p. ej., grupos de ácido carboxílico.

35 La carga óptima de proteínas por ciclo depende del diseño del procedimiento de cromatografía de intercambio de cationes y de las características del material de intercambio de cationes.

Las condiciones del procedimiento durante la cromatografía de intercambio de cationes, entre ellos la presión, etc., depende de la implantación real del procedimiento, del equipo utilizado y del material de intercambio de cationes utilizado.

40 La temperatura de la primera composición durante la etapa c) es típicamente lo suficientemente baja como para que disminuya al mínimo el crecimiento microbiano y para que evite que la proteína y que el material de intercambio de cationes se dañen con el calor, pero lo suficientemente alta como para que proporcione una viscosidad aceptable a la primera composición.

45 En algunas realizaciones de la invención, la temperatura de la primera composición durante la etapa c) se encuentra en el margen de 2 a 40 °C. Preferiblemente, la temperatura de la primera composición durante la etapa c) se encuentra en el margen de 4 a 20 °C e incluso más preferiblemente en el margen de 6 a 15 °C.

Más detalles en cuanto a la cromatografía de intercambio de cationes y a su implantación industrial se puede encontrar en *Scopes*, que se incorpora en la presente memoria por referencia para todos los propósitos.

La etapa d) implica recoger la fracción de la primera composición que no está fijada al material de intercambio de cationes, mediante lo cual se obtiene la composición que contiene el MPC.

5 La fracción recogida se podría utilizar como la composición que contiene el MPC como tal o, como alternativa, se podría someter a otras etapas más de procesamiento, p. ej., desmineralización y concentración de la composición, y posteriormente su transformación en un polvo.

Así pues, en algunas realizaciones preferidas de la invención, la fracción recogida se somete además a una o varias de las etapas del procedimiento seleccionadas del grupo que consiste en tratamiento con calor, concentración, desmineralización, evaporación del solvente, secado por pulverización, y sustitución de los cationes fijados a las proteínas. Por ejemplo, la fracción recogida se podría someter a una etapa de concentración.

10 Como alternativa o, adicionalmente, la fracción recogida se podría someter a la desmineralización, p. ej., mediante la diafiltración con un filtro para ultrafiltración que retiene el MPC monomérico.

15 El pH de la fracción recogida se podría ajustar a un pH por encima de pH 4, p. ej., un pH de al menos pH 5, antes de la concentración o de la diafiltración. El pH elevado da lugar a la asociación del MPC monomérico en oligómeros, lo que permite la concentración y/o diafiltración con las membranas que tienen un tamaño de poro más grande. Como alternativa, o adicionalmente, la fracción recogida se podría someter a una etapa de evaporación.

Como alternativa o, adicionalmente, la fracción recogida se podría someter a una etapa de secado por pulverización.

En algunas realizaciones preferidas de la invención, la fracción recogida se somete a las etapas siguientes:

- i) concentración, p. ej., mediante ultrafiltración, nanofiltración u ósmosis inversa,
- ii) diafiltración, p. ej., frente a agua,
- 20 iii) opcionalmente, otra etapa de concentración, p. ej., mediante evaporación,
- iv) pasteurización, y
- v) secado por pulverización para convertir la composición pasteurizada en un polvo.

El presente método se podría implantar como un procedimiento por lotes o como un procedimiento por semilotes.

25 La composición que contiene el MPC de la presente invención tiene una pureza del MPC muy alta y también muy poca cantidad de Phe.

30 En las realizaciones preferidas de la invención, el método es para producir composiciones que contienen el MPC que tienen una pureza del MPC de al menos el 92% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas de la composición. Por ejemplo, el método podría ser para producir composiciones que contienen el MPC que tienen una pureza del MPC de al menos el 95% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas de la composición. Preferiblemente, el método es para producir composiciones que contienen el MPC que tienen una pureza del MPC de al menos el 97% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas de la composición, tal como, p. ej., al menos el 98% (p/p) o incluso aproximadamente el 100% (p/p).

35 Una realización de ejemplo del método de la invención se ilustra esquemáticamente en la figura 1. El alimento derivado del lactosuero (1) se conduce a la unidad de UF y de este modo se somete a ultrafiltración. La etapa de UF conduce a la formación de un retenido de UF (2), esto es, la fracción que es retenida por el filtro de UF, y un filtrado de UF, que es la fracción que ha atravesado el filtro de UF. En esta realización, el filtrado de UF (3) se utiliza como la primera composición que se somete a la cromatografía de intercambio de cationes. Las impurezas de proteínas que no son el MPC de la primera composición se fijan al material de intercambio de cationes (no se representa) y se recoge la composición que contiene el MPC purificado (4).

40 Otra realización de ejemplo del método de la invención se representa esquemáticamente en la figura 2. Al igual que el procedimiento de la figura 1, el alimento derivado del lactosuero se somete a ultrafiltración. El filtrado de UF enriquecido en MPC resultante (3) se utiliza como la primera composición y se somete a la cromatografía de intercambio de cationes. La fracción de proteínas que no se fija al material de intercambio de cationes se recoge como la composición que contiene el MPC. Sin embargo, en el método de la figura 2, el retenido de UF se diluye adicionalmente con agua (5) y se recicla como alimento para el procedimiento de UF, mediante lo cual se retira por lavado una parte más grande del MPC del alimento derivado del lactosuero original y se recupera este en el filtrado de UF.

50 Otra realización más de ejemplo de la invención se ilustra esquemáticamente en la figura 3. Aquí, se utiliza en la etapa b) una serie de tres unidades de ultrafiltración. El alimento derivado del lactosuero (1) se alimenta en la primera unidad de UF, lo que da lugar a un primer retenido de UF (2) y un primer filtrado de UF (3). El primer

retenido de UF (2) se mezcla con agua (5) y se alimenta en la segunda unidad de UF, lo que da lugar a un segundo retenido de UF (2') y a un segundo filtrado de UF (3'). El segundo retenido de UF (2') se mezcla con agua (5) y se alimenta en la tercera unidad de UF, lo que da lugar a un tercer retenido de UF (2'') y a un tercer filtrado de UF (3''). El primer, segundo y tercer filtrado (3, 3' y 3'') se combinan y se utilizan como la primera composición, que se somete a la cromatografía de intercambio de cationes.

La invención hace posible preparar una composición que contiene el MPC que se puede obtener mediante el método descrito en ella.

La composición que contiene el MPC contiene preferiblemente como mucho el 0,5% (p/p) de fenilalanina respecto a la cantidad total de proteínas. Por ejemplo, la composición que contiene el MPC puede contener como mucho el 0,4% (p/p) de fenilalanina con respecto a la cantidad total de proteínas. Preferiblemente, la composición que contiene el MPC contiene preferiblemente como mucho el 0,3% (p/p) de fenilalanina con respecto a la cantidad total de proteínas. Incluso más preferible, la composición que contiene el MPC contiene preferiblemente como mucho el 0,2% (p/p) de fenilalanina con respecto a la cantidad total de proteínas, tal como a lo sumo el 0,1% (p/p) de fenilalanina con respecto a la cantidad total de proteínas.

En las realizaciones preferidas de la invención, las composiciones que contienen el MPC tienen una pureza del MPC de al menos el 92% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas de la composición. Por ejemplo, las composiciones que contienen el MPC podrían tener una pureza del MPC de al menos el 95% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas de la composición. Preferiblemente, las composiciones que contienen el MPC tienen una pureza del MPC de al menos el 97% (p/p) respecto a la cantidad total de proteínas de la composición, tal como, p. ej., al menos el 98% (p/p) o incluso aproximadamente el 100% (p/p).

La presente invención se ha descrito más arriba haciendo referencia a realizaciones específicas. Sin embargo, dentro del alcance de la invención son igualmente posibles otras realizaciones diferentes a las descritas anteriormente. Las diferentes características y etapas de diferentes realizaciones y aspectos de la invención se pueden combinar de otras maneras diferentes a las descritas en la presente memoria, a menos que se diga otra cosa.

Ejemplos

Ejemplo 1: Variante del procedimiento de la invención

Ultrafiltración I – separación:

Se diluyeron con agua fría desmineralizada 12.000 l de concentrado de proteínas de lactosuero (CPL) que contiene materia seca al 30% y proteína al 24% para dar un contenido de materia seca del 10% y un contenido de proteínas del 8%. Se le añadió ácido clorhídrico a 12 M hasta que el pH fue de 2,8. La solución se filtró con membranas enrolladas en espiral de 6" del tipo BN6338 de Synder Filtration, Vacaville, California, EE. UU., con un espaciador de 31 mil y un valor de umbral nominal de 50.000 Da. La superficie total de la membrana fue de 3.072 m². La filtración se realizó en las siguientes condiciones: la temperatura se mantuvo a 10 °C y la presión media se mantuvo a 4,5 bar con una presión de alimentación de 3,5 bar. El pH se mantuvo a 2,8 con ácido clorhídrico a 12 M y el filtrado de la Ultrafiltración II (véase a continuación) se añadió al mismo ritmo con el que se retiraba el filtrado. El flujo de recirculación en el bucle fue de 180 m³/h y la recirculación sobre el tanque de alimentación fue de aproximadamente 10 m³/h. Después de una filtración de 10 horas se paró la adición del filtrado de la Ultrafiltración II. Se midió el flujo medio a 8 l/m²h.

Ultrafiltración II - diafiltración del retenido y concentración del filtrado:

El filtrado de la Ultrafiltración I se recogió en un tanque de alimentación para la Ultrafiltración II y se le ajustó continuamente el pH a 6,0 con hidróxido de sodio al 6%. A la que que la Ultrafiltración I, la Ultrafiltración II se realizó con membranas enrolladas en espiral de 6" del tipo HFK-328 6338 de Koch Membrane Systems, Wilmington, Massachusetts, EE. UU., con un espaciador de 31 mil y un valor de umbral nominal de 5.000 Da. La superficie total de la membrana fue de 2.304 m². La filtración se realizó en las siguientes condiciones: la temperatura se mantuvo a 10 °C y la presión media se mantuvo entre 1,0 y 5,0 bar para suministrar el filtrado a la Ultrafiltración I con el mismo ritmo con el que se retiraba el filtrado de la Ultrafiltración I. Se recogió el retenido después de una filtración de 10 horas, a saber, después de parar la Ultrafiltración I. Posteriormente, el retenido se sometió a diafiltración en la que se le añadieron 70.000 l de agua del grifo con el mismo flujo con el que se retiraba el filtrado. Después de la diafiltración, se concentró el retenido hasta que el contenido de proteínas del retenido fue del 12%. El volumen final del retenido fue de 3.450 l. Las condiciones de filtración fueron las mismas que más arriba. La pureza del MPC en el retenido se determinó que era del 79% (79 g de MPC por 100 g de proteínas) basándose en el análisis por HPLC.

Cromatografía de intercambio de cationes:

Para un día de producción, 650 l del retenido final de la Ultrafiltración II se diluyeron con agua fría desmineralizada

para dar un contenido de proteínas del 1,24% (1,24 g de proteínas por 100 g de solución). El pH en la solución se ajustó a 3,50 con ácido cítrico al 42% (p/p) y la conductividad se ajustó a 2,0 mS/cm con una solución de NaCl a 2 M y KCl a 2 M. Se sometieron a la cromatografía de intercambio de cationes 725 l de la solución de proteínas ajustada con una columna empaquetada con 116 l de SP Sepharose Big Beads de calidad alimentaria de GE Healthcare, Uppsala, Suecia.

Se utilizaron las siguientes condiciones para cada ciclo de cromatografía de intercambio de cationes:

La columna se enjuagó con 290 l de agua fría desmineralizada a una velocidad de flujo de 1.300 l/h. Los 725 l de la solución de alimento (la solución de proteínas ajustada) de más arriba se bombearon a través de la columna a una velocidad de flujo de 1.050 l/h, y el flujo directo (material sin fijar) se recogió en un tanque de producto que también se indicó que era una solución de MPC. La columna se enjuagó con 232 l y 58 l, respectivamente, de agua desmineralizada a una velocidad de flujo de 1.050 l/h y 1.300 l/h, respectivamente. Se realizó una elución simultánea y una etapa de limpieza en su sitio mediante el bombeo de 580 l de hidróxido de sodio a 0,5 M a través de la columna a una velocidad de flujo de 943 l/h. La columna se enjuagó con 290 l y 580 l, respectivamente, de agua desmineralizada a una velocidad de flujo de 943 l/h y 1.300 l/h, respectivamente. La duración de un ciclo de cromatografía de intercambio de cationes fue de 2,6 horas. El rendimiento relativo del MPC para la etapa de la cromatografía de intercambio de cationes fue del 92% (92 g de MPC en el flujo directo por 100 g de MPC en el alimento).

Se realizaron ocho ciclos de cromatografía de intercambio de cationes cada día seguidos de la ultrafiltración estándar (membranas HFK-328 de Koch Membrane Systems, Wilmington, Massachusetts, EE. UU.) para concentrar la solución de MPC en el tanque del producto. Antes de la ultrafiltración, el pH del tanque del producto se ajustó a 6,5 mediante una solución mixta de hidróxido de potasio e hidróxido de sodio. Se realizaron en total 32 ciclos de cromatografía de intercambio de cationes, tras los cuales la solución de MPC se concentró adicionalmente mediante ultrafiltración estándar (membranas HFK-328 de Koch Membrane Systems, Wilmington, Massachusetts, EE. UU.). La solución de MPC concentrada se secó por pulverización con un secador por pulverización estándar y se obtuvieron 196 kg de polvo. La composición del polvo con los parámetros seleccionados se ofrece en la tabla 1.

Ejemplo 2: Variante del procedimiento de la invención

Se realizaron la Ultrafiltración I y II de una manera similar a la descrita en el ejemplo 1. La pureza del MPC en el retenido de Ultrafiltración II final se determinó que era del 80% (80 g de MPC por 100 g de proteínas) basándose en el análisis por HPLC.

La cromatografía de intercambio de cationes se realizó de una manera similar a la descrita en el ejemplo 1, excepto por lo siguiente: el pH de la solución diluida se ajustó a 3,37 y se realizaron en total 47 ciclos de cromatografía de intercambio de cationes. El rendimiento relativo del MPC para la etapa de cromatografía de intercambio de cationes fue del 90% (90 g de MPC en el flujo directo por 100 g de MPC en el alimento). La solución concentrada de MPC se secó por pulverización con un secador por pulverización estándar y se obtuvieron 357 kg de polvo. La composición del polvo con los parámetros seleccionados se ofrece en la tabla 1.

Ejemplo 3: Variante del procedimiento de la invención

La ultrafiltración I y la II se realizaron de una manera similar a la descrita en el ejemplo 1. La pureza del MPC en el retenido final de la Ultrafiltración II se determinó que era del 83% (83 g de MPC por 100 g de proteínas) basándose en el análisis por HPLC.

Cromatografía de intercambio de cationes:

Para un día de producción, se diluyeron con agua fría desmineralizada 450 l del retenido final de la Ultrafiltración II para dar un contenido de proteínas del 0,66% (0,66 g de proteínas por 100 g de solución). El pH en la solución se ajustó a 3,25 con ácido clorhídrico al 30% (p/p) y se ajustó la conductividad a 2,0 mS/cm con una solución de NaCl a 2 M y de KCl a 2 M. Se sometieron 1.000 l de la solución de proteínas ajustada a cromatografía de intercambio de cationes mediante el uso de una columna empaquetada con 80 l de SP Sepharose Big Beads de calidad alimentaria de GE Healthcare, Uppsala, Suecia.

Se utilizaron las siguientes condiciones para un ciclo de cromatografía de intercambio de cationes:

La columna se enjuagó con 300 l de agua fría desmineralizada, 300 l de ácido acético al 0,50% (p/p) y 200 l de agua fría desmineralizada a una velocidad de flujo de 1.300 l/h. Los 1000 l de la solución de alimento de más arriba se bombearon a través de la columna a una velocidad de flujo de 1.300 l/h y el flujo directo (material sin fijar) se recogió en un tanque de producto también denominado la solución de MPC.

La columna se enjuagó con 200 l de agua fría desmineralizada a una velocidad de flujo de 1.300 l/h. Se llevó a cabo una elución simultánea y una etapa de limpieza en su sitio mediante el bombeo de 400 l de hidróxido de sodio a 1,0

M por la columna a una velocidad de flujo de 700 l/h. La columna se enjuagó con 200 l y 400 l, respectivamente, de agua fría desmineralizada a una velocidad de flujo de 700 l/h y 1.300 l/h, respectivamente. La duración de un ciclo de cromatografía de intercambio de cationes fue de 2,7 h. El rendimiento relativo del MPC para la etapa de cromatografía de intercambio de cationes fue del 77% (77 g de MPC en el flujo directo por 100 g de MPC en el alimento). Se realizaron ocho ciclos de cromatografía de intercambio de cationes cada día seguidos de la ultrafiltración estándar (membranas HFK-328 de Koch Membrane Systems, Wilmington, Massachusetts, EE. UU.) para concentrar la solución de MPC en el tanque de producto. Antes de la ultrafiltración, el pH en el tanque de producto se ajustó a 6,5 con una solución mixta de hidróxido de potasio e hidróxido de sodio. Se realizaron en total 20 ciclos de cromatografía de intercambio de cationes, tras lo cual la solución de MPC se concentró adicionalmente mediante ultrafiltración estándar (membranas HFK-328 de Koch Membrane Systems, Wilmington, Massachusetts, EE. UU.). La solución de MPC concentrada se secó por pulverización con un secador estándar por pulverización y se obtuvieron 78 kg de polvo. La composición del polvo con los parámetros seleccionados se ofrece en la tabla 1.

Ejemplo 4: Variante del procedimiento de la invención

La Ultrafiltración I y II se llevaron a cabo de una manera similar a la descrita en el ejemplo 1. La pureza del MPC en el retenido final de la Ultrafiltración II se determinó que era del 79% (79 g de MPC por 100 g de proteínas) basándose en el análisis por HPLC.

Cromatografía de intercambio de cationes:

Para un día de producción, se diluyeron con agua fría desmineralizada 278 l del retenido final de la Ultrafiltración II para dar un contenido de proteínas del 0,68% (0,68 g de proteínas por 100 g de solución). El pH de la solución se ajustó a 3,75 con ácido clorhídrico al 30% (p/p) y se ajustó la conductividad a 4,0 mS/cm con una solución de NaCl a 5 M. Se sometieron a la cromatografía de intercambio de cationes 1.000 l de la solución ajustada de proteínas mediante el uso de una columna empaquetada con 80 l de SP Sepharose Big Beads con calidad alimentaria de GE Healthcare, Uppsala, Suecia.

Se utilizaron las siguientes condiciones para un ciclo de cromatografía de intercambio de cationes:

La columna se enjuagó con 300 l de NaCl a 1 M, 300 l de agua fría desmineralizada, 300 l de ácido acético al 0,25% (p/p) y 200 l de agua fría desmineralizada a una velocidad de flujo de 1.300 l/h. Los 1.000 l de la solución de alimento (la solución ajustada de proteínas) de más arriba se bombearon por la columna a una velocidad de flujo de 1.300 l/h y el flujo directo (material sin fijar) se recogió en un tanque de producto también denominado solución de MPC. La columna se enjuagó con 200 l de agua fría desmineralizada, 300 l de NaCl a 1 M (elución) y 200 l de agua fría desmineralizada a una velocidad de flujo de 1.300 l/h. Se llevó a cabo una etapa de limpieza en su sitio mediante el bombeo de 400 l de hidróxido de sodio a 1,0 M por la columna a una velocidad de flujo de 700 l/h. La columna se enjuagó con 200 l y 400 l, respectivamente, de agua desmineralizada a una velocidad de flujo de 700 l/h y 1.300 l/h, respectivamente. La duración de un ciclo de cromatografía de intercambio de cationes fue de 3,3 horas. El rendimiento relativo del MPC para la etapa de cromatografía de intercambio de cationes fue del 90% (90 g de MPC en el flujo directo por 100 g de MPC en el alimento). Se realizaron cinco ciclos de cromatografía de intercambio de cationes cada día seguidos de la ultrafiltración estándar (membranas HFK-328 de Koch Membrane Systems, Wilmington, Massachusetts, EE. UU.) para concentrar la solución de MPC en el tanque de producto. Antes de la ultrafiltración, el pH del tanque de producto se ajustó a 6,5 mediante una solución mixta de hidróxido de potasio e hidróxido de sodio. Se realizaron en total 10 ciclos de cromatografía de intercambio de cationes, tras los cuales la solución de MPC se concentró adicionalmente mediante ultrafiltración estándar (membranas HFK-328 de Koch Membrane Systems, Wilmington, Massachusetts, EE. UU.). Aproximadamente la mitad de la solución concentrada de MPC se secó por pulverización con un secador estándar por pulverización y se obtuvieron 24 kg de polvo. En la tabla 1 se ofrece la composición del polvo con los parámetros seleccionados.

Ejemplo 5: Variante del procedimiento de la invención

Ultrafiltración I – Separación:

Se diluyeron con agua fría desmineralizada 600 l de CPL reducido con lactoglobulina β que contiene materia seca al 23%, proteína al 20% y cuya pureza del MPC es de aproximadamente el 24% (24 g de MPC por 100 g de proteína) para dar un contenido de materia seca del 11% y un contenido de proteínas del 8,9%. Se le añadió ácido clorhídrico al 30% (p/p) hasta que el pH fue de 2,2. La solución se filtró a través de membranas enrolladas en espiral de 6" del tipo BN6338 de Synder Filtration, Vacaville, California, EE. UU., con un espaciador de 31 mil y un valor nominal de umbral de 50.000 Da. La superficie total de membrana fue de 64 m². La filtración se realizó en las siguientes condiciones: la temperatura se mantuvo a 10 °C y la presión media se mantuvo a 2,0 bar (a través de dos elementos de filtro) con una presión de alimentación de 3,0 bar. El pH se mantuvo a 2,2 con ácido clorhídrico al 30% (p/p) y el filtrado de Ultrafiltración II se añadió con el mismo flujo que se utilizaba para retirar el filtrado. El flujo de recirculación en el bucle fue de 30 m³/h y la recirculación sobre el tanque de alimentación fue de aproximadamente 5 m³/h. Después de una filtración de 8,5 horas, se detuvo la adición del filtrado de la Ultrafiltración II. El flujo medio se midió

que era de 22 l/m²h.

Ultrafiltración II – diafiltración del retenido y concentración del filtrado:

El filtrado de la Ultrafiltración I se recogió en un tanque de alimentación para la Ultrafiltración II. A la vez que la Ultrafiltración I, la Ultrafiltración II se llevó a cabo con membranas enrolladas en espiral de 6" del tipo VT6338 de Synder Filtration, Vacaville, California, EE. UU, con un espaciador de 31 mil y un valor nominal de umbral de 3.000 Da. La superficie total de la membrana fue de 64 m². La filtración se llevó a cabo en las siguientes condiciones: la temperatura se mantuvo a 10 °C y la presión media se mantuvo a 1,0-1,5 bar (a través de dos elementos de filtro) con una presión de alimentación de 0,5-1,0 bar. Las condiciones de presión se ajustaron para generar el filtrado con el mismo flujo que tenía la retirada del filtrado de la Ultrafiltración I. Después de una filtración de 8,5 horas, a saber, después de parar la Ultrafiltración I, el retenido se concentró con las mismas condiciones de más arriba y se obtuvieron 600 l de retenido. Posteriormente, el retenido se ajustó a pH 6,3 con hidróxido de sodio al 4% y se sometió a diafiltración en la que se le añadieron 3.300 l de agua de grifo con el mismo flujo con el que se retiraba el filtrado. Las condiciones de la filtración fueron las mismas de más arriba. Se obtuvieron 820 l de retenido con un contenido de materia seca del 3,4% y un contenido de proteínas del 2,9%. La pureza del MPC en el retenido se determinó que era del 72% (72 g de MPC por 100 g de proteínas) basándose en el análisis por HPLC.

Cromatografía de intercambio de cationes:

La cromatografía de intercambio de cationes se realizó de manera similar a lo descrito en el ejemplo 1, excepto por lo siguiente: el retenido final de la Ultrafiltración II se diluyó con agua fría desmineralizada para dar un contenido de proteínas del 1,14% (1,14 g de proteínas por 100 g de solución), el pH de la solución diluida se ajustó a 3,47, la conductividad se ajustó a 2,3 mS/cm. Se bombearon 805 l de la solución de alimentación a través de la columna durante cada ciclo y realizaron en total dos ciclos de cromatografía de intercambio de cationes. El rendimiento relativo del MPC para la etapa de la cromatografía de intercambio de cationes fue del 80% (80 g de MPC en el flujo directo por 100 g de MPC en el alimento). Aproximadamente la mitad de la solución del MPC concentrada se secó por pulverización con un secador por pulverización estándar y se obtuvieron 6 kg del polvo. La composición del polvo con los parámetros seleccionados se ofrece en la tabla 1.

Tabla 1. Composición de los productos que contienen el MPC de los ejemplos 1-5

	Producto de:				
	Ej. 1	Ej. 2	Ej. 3	Ej. 4	Ej. 5
Materia seca (% p/p del producto)	96,0	95,5	95,8	93,5	95,3
Proteína (% del producto)	76,8	76,9	77,5	75,5	82,2
Proteína (% de materia seca)	80,0	80,6	80,9	80,7	86,3
Pureza del MPC (% de proteínas)	~ 98	~ 98	~98	~ 98	~ 98
Fenilalanina (% de proteínas)	0,15	0,19	0,09	0,23	0,26
Grasa (% del producto)	0,11	0,23	<0,1	0,22	<0,1
Lactosa (% del producto)	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Cenizas (% del producto)	7,4	7,3	6,9	6,8	6,5

Ejemplo 6: Comparación con la técnica anterior

La patente de los EE. UU. US 5.278.288 A describe un método que combina la cromatografía de intercambio de cationes y la ultrafiltración, en el orden mencionado, para producir el MPC. Por ejemplo, en la primera etapa de intercambio de cationes, el lactosuero para queso se pone en contacto con una resina de intercambio de cationes y se recoge el material que no quedó adsorbido. Posteriormente, el material sin adsorber se somete a ultrafiltración a un pH por debajo de 4 mediante el uso de una membrana con un valor de umbral de 10.000 a 50.000 Da, mediante lo cual se obtiene el MPC en el filtrado. Finalmente, se ajusta el pH del filtrado y se realiza la ultrafiltración estándar para concentrar la solución de MPC antes del secado por pulverización. Así pues, las dos etapas críticas de separación son la cromatografía de intercambio de cationes y la ultrafiltración a pH < 4, en el orden mencionado. En la presente invención, el orden de las dos etapas de separación se invierte. Aquí, la ultrafiltración a un pH de como mucho 4 se realiza primero («Ultrafiltración I» en los ejemplos) y después se hace la cromatografía de intercambio de cationes en la que el MPC se obtiene en el material que no se adsorbe (también denominado «flujo directo» o «material sin fijar»). El orden de las etapas de separación de la presente invención tiene varias ventajas cuando se compara con el orden de las etapas de separación dadas en la patente de los EE. UU. US 5.278.288 A.

Una primera ventaja de la presente invención es que la pureza del MPC (% del MPC entre las proteínas totales) en el producto final mediante el uso del procedimiento de la presente invención es mucho más alta que la pureza del MPC obtenido en la patente de los EE. UU. US 5.278.288 A. En la patente de los EE. UU. US 5.278.288 A se ofrecen valores de pureza del 80% al 88%. Mediante el procedimiento de la presente invención se puede conseguir una pureza de aproximadamente el 98% o mayor. Debido a la altísima pureza del producto de MPC obtenido por la presente invención, el producto es adecuado como ingrediente nutritivo para los pacientes que padecen fenilcetonuria, y también está indicado por la poquísima cantidad de fenilalanina presente en el producto. Una pureza del MPC del 80% al 88%, como en el producto obtenido mediante el procedimiento de la patente de los EE. UU. 5.278.288 A, está correlacionado con un contenido de fenilalanina que es demasiado alto para los pacientes con fenilcetonuria.

Una segunda ventaja de la presente invención es que utiliza menos material de intercambio de iones por kilogramo de MPC aislado que el método de la patente de los EE. UU. US 5.278.288 A o cualquier otro método de la técnica anterior que proporciona una pureza del MPC comparablemente alta. Siguiendo la presente invención, la primera etapa de ultrafiltración retira una gran proporción de proteínas de lactosuero que no son el MPC. Gracias a esto, la proporción de peso entre las proteínas del lactosuero que no son el MPC y el MPC en la solución de alimento para la etapa de cromatografía de intercambio de cationes es mucho más baja que en la patente de los EE. UU. 5.278.288 A y, por tanto, se necesita un volumen mucho menor de resina de intercambio de cationes por unidad de masa de MPC para que se fijen todas las proteínas del lactosuero que no son el MPC.

Una tercera ventaja de la presente invención es que el rendimiento global del MPC (% de masa del MPC en el producto final en comparación con la masa de MPC en el material de partida) mediante el uso del procedimiento de la presente invención es mucho mayor que el rendimiento global del MPC obtenido en la patente de los EE. UU. US 5.278.288 A. Al utilizar el ejemplo 2 en la patente de los EE. UU. US 5.278.288 A y si suponemos que el contenido de proteínas del lactosuero para Gouda es de 6,2 g/l y que el contenido de MPC es del 18% respecto al contenido total de proteínas, se puede calcular un rendimiento global del MPC del 0,73%, basándose en los 81 mg de MPC obtenidos en el producto final. Al utilizar el ejemplo 2 para la presente invención y al suponer que el contenido de MPC es del 18% respecto al contenido total de proteínas en el material de partida, se puede calcular un rendimiento global del MPC del 50%, obtenido por la combinación de un rendimiento del 63% de la etapa de ultrafiltración y un rendimiento del 80% que cubre la etapa de cromatografía de intercambio de cationes para dar el producto final en polvo.

Una cuarta ventaja de la presente invención es que incrementa el número de ciclos de intercambio de iones que puede soportar un lote de resina de intercambio de iones antes de agotarse, respecto a lo descrito en la patente de los EE. UU. US 5.278.288 A. La cromatografía de intercambio de iones es una unidad operativa relativamente cara y el coste de la resina del intercambio de iones es una parte significativa de los costes globales del procedimiento. Por lo tanto, la extensión de la vida útil del material para intercambio de iones es una estrategia interesante para mejorar la economía global del procedimiento de producción de los productos que contienen el MPC de gran pureza.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para producir una composición que contiene el macropéptido de caseína que tiene poca cantidad de fenilalanina (Phe), en donde dicha composición contiene como mucho el 0,5% (p/p) de Phe con respecto a la cantidad total de proteínas de la composición, en donde el método comprende las etapas de
- 10 a) proporcionar un alimento derivado del lactosuero que comprende el macropéptido de caseína (MPC) y al menos una proteína más, en donde dicho alimento derivado del lactosuero tiene un pH de como mucho 4,
- b) someter dicho alimento derivado del lactosuero a ultrafiltración mediante un filtro para ultrafiltración que permite el paso del MPC monomérico, con lo que se proporciona un filtrado de UF y un retenido de UF, en el cual el filtrado de UF está enriquecido con respecto al MPC,
- c) poner en contacto una primera composición derivada de dicho filtrado de UF con un material de intercambio de cationes, y
- d) recoger la fracción de la primera composición que está sin fijar al material de intercambio de cationes, con lo que se obtiene la composición que contiene el MPC.
- 15 2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el alimento derivado del lactosuero procede del lactosuero para queso o de un concentrado del mismo.
3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el alimento derivado del lactosuero procede del lactosuero obtenido de la caseína coagulada del cuajo o del caseinato o de su concentrado.
- 20 4. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el alimento derivado del lactosuero contiene una cantidad total del MPC de al menos el 1% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas.
5. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la al menos una proteína adicional comprende al menos una proteína seleccionada del grupo que consiste en inmunoglobulina G, inmunoglobulina M, seroalbúmina bovina (SAB), lactoglobulina β , lactalbúmina α , caseína β , péptidos derivados de la caseína, proteínas de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche (MGGL) y una combinación de las mismas.
- 25 6. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el alimento derivado del lactosuero contiene una cantidad total de proteínas de al menos el 0,2% (p/p) con respecto al peso del alimento derivado del lactosuero.
7. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el alimento derivado del lactosuero tiene un pH en el margen de pH de 1 a 4.
- 30 8. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el filtro para ultrafiltración tiene un umbral nominal de masa molecular en el margen de 5 a 300 kDa.
9. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera composición contiene una cantidad total de MPC de al menos el 55% (p/p) con respecto a la cantidad total de proteínas.
- 35 10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera composición contiene una cantidad total de proteínas de al menos el 0,1% (p/p).
11. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera composición tiene un pH en el margen de pH de 2 a 5.
- 40 12. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera composición tiene una conductividad en el margen de 1 a 8 mS/cm.
13. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que además comprende concentrar la fracción recogida.
14. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que además comprende secar por pulverización la fracción recogida.

Fig. 1

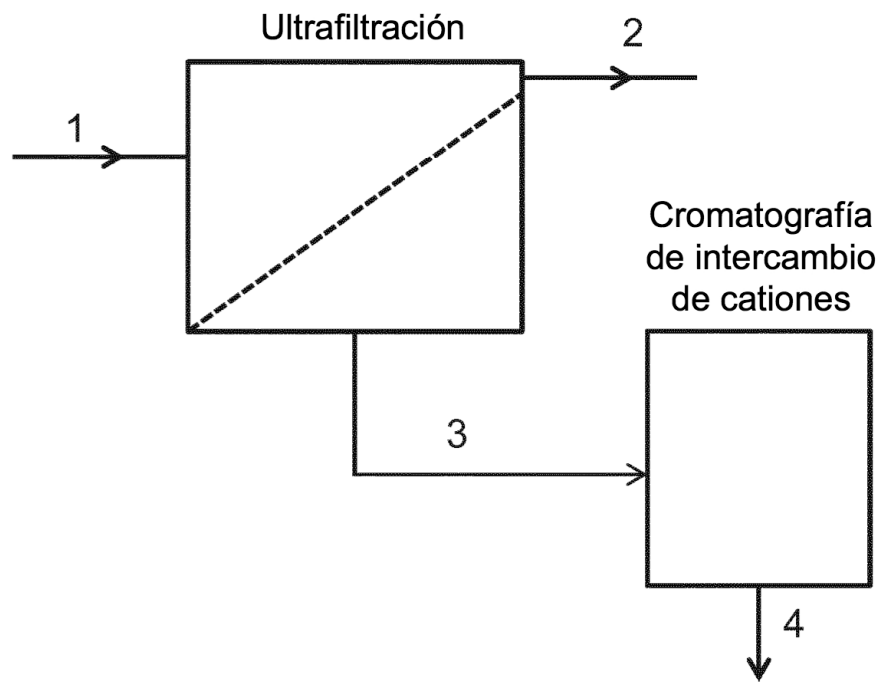


Fig. 2

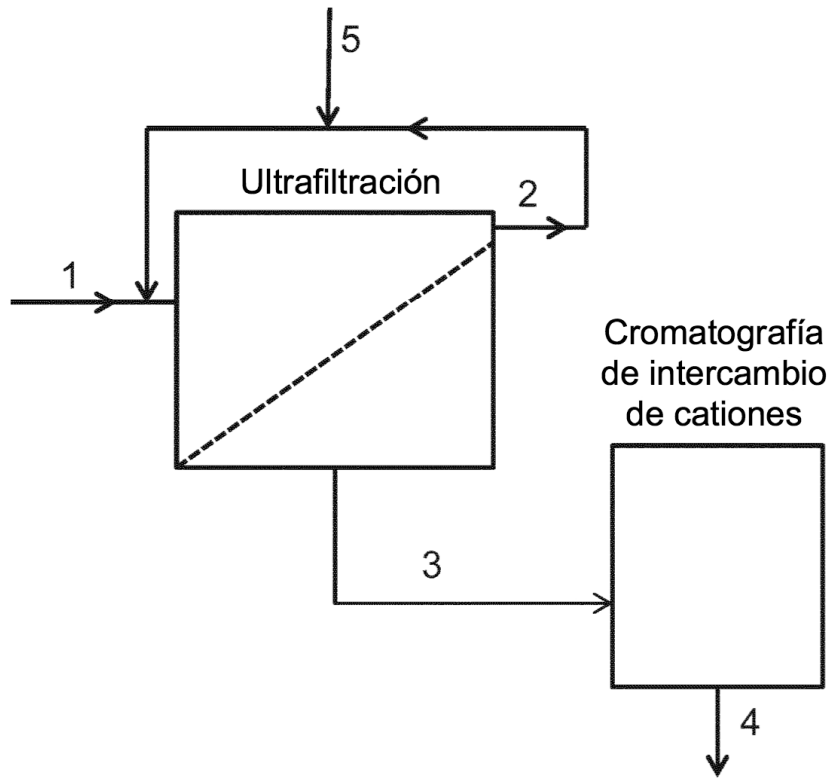


Fig. 3

