



# OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: 2 588 627

51 Int. Cl.:

A23L 33/17 (2006.01)

(12)

# TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 13.08.2013 E 13779366 (7)
Fecha y número de publicación de la concesión europea: 06.07.2016 EP 2882305

(54) Título: Un procedimiento para la preparación de un concentrado de proteínas séricas

(30) Prioridad:

13.08.2012 IT RM20120412

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: 03.11.2016 (73) Titular/es:

LB LYOPHARM S.R.L. (100.0%) Via Galvani 2 39100 Bolzano (BZ), IT

(72) Inventor/es:

REBIÈRE, CHRISTIAN

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

#### **DESCRIPCIÓN**

Un procedimiento para la preparación de un concentrado de proteínas séricas

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un concentrado de proteínas a partir de una muestra de lactosuero, en el que dicho concentrado se caracteriza por que comprende una concentración ≤ 0,5 g de lactosa por kilogramo de proteínas, al concentrado obtenible mediante dicho procedimiento, y al uso del mismo en la preparación de productos que contienen dicho concentrado.

#### 10 Estado de la técnica

15

30

35

40

50

55

60

65

El suero de la leche (o también "lactosuero") representa la fracción líquida de la leche y contiene un alto porcentaje de lactosa (entre un 50 y un 75 %), además de proteínas, sales minerales, trazas de lípidos y productos de degradación de la lactosa (ácido láctico, glucosa, galactosa). El contenido de proteínas en el lactosuero varía de aproximadamente un 8 % a un 14 %; en particular, es posible la presencia de una mezcla de proteínas, siendo las principales albúmina, β-lactoglobulina, α-lactoalbúmina, seroalbúmina, lactoferrina, inmunoglobulina; aminoácidos esenciales (leucina, isoleucina, valina, treonina, triptófano, lisina, fenilalanina, etc.).

Diversos estudios han demostrado que las proteínas del lactosuero tienen efectos beneficiosos sobre la salud. En particular, Wong et al. informan de cómo la ingesta de proteínas del suero de la leche potencia la función inmunitaria gracias a la presencia de inmunoglobulinas existentes en el mismo (Wong & Watson 1995. "Immunomodulatory effects of dietary whey proteins in mice". *J Dairy Res.* 62(2):359-68). Asimismo, se ha sugerido cómo la ingesta de proteínas del lactosuero puede tener un efecto preventivo frente al desarrollo del cáncer (Hakkak et al. "Dietary whey protein protects against azoxymethane-induced colon tumors in male rats". *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 10 (5): 555-8. PMID 11352868).

Desde un punto de vista médico-científico, el interés específico iba dirigido no solo a las inmunoglobulinas del lactosuero, sino también a la lactoferrina, cuyos efectos beneficiosos sobre la salud, tales como una mejora de la actividad inmunitaria, antimicrobiana, antivírica y anticancerosa, se han descrito.

Las proteínas del lactosuero también son conocidas por su efecto beneficioso sobre la piel.

Aunque, tal y como se ha indicado anteriormente, a las proteínas del lactosuero se asocian una serie de efectos beneficiosos, su ingesta o su uso se ven limitados, en general, por el hecho de que el lactosuero en el que están presentes se caracteriza por un alto contenido del azúcar lactosa. En particular, en la población mundial se ha extendido la intolerancia a dicha molécula; que se debe principalmente a la incapacidad de los sujetos para metabolizar la lactosa debido a un déficit de la enzima lactasa. La incidencia de dicha intolerancia varía significativamente de un país a otro, con un porcentaje de aproximadamente un 22 % de la población adulta en los Estados Unidos, llegando hasta aproximadamente un 70 % de la población del sur de Europa.

La sintomatología más común relacionada con la intolerancia a la lactosa consiste esencialmente en trastornos gastrointestinales tales como dolores abdominales y cólicos, sensación de hinchazón y tensión a nivel intestinal, aumento de la peristalsis, flatulencia, meteorismo, movimientos intestinales diarreicos, etc.

La terapia por excelencia en el caso de la intolerancia a la lactosa es un régimen dietético con una contribución reducida de alimentos ricos en lactosa que incluyen, por tanto, el lactosuero. Sin embargo, tal terapia es particularmente inadecuada en los casos en los que los sujetos intolerantes, por ejemplo, un sujeto pediátrico, un sujeto con malnutrición, con déficits inmunitarios, etc., en los que la ingesta de lactosuero es fundamental para asegurar la contribución adecuada de proteínas del lactosuero.

Por tanto, en el estado de la técnica conocida sigue existiendo la necesidad extrema de definir técnicas que permitan purificar la mezcla de proteínas séricas del lactosuero, minimizando el contenido de lactosa presente en el mismo y asegurando, por tanto, el mantenimiento de la composición de proteínas, aminoácidos, etc., característica del suero de la leche.

#### Sumario de la invención

La presente descripción se refiere a un procedimiento para la preparación de un concentrado de proteínas procedente del lactosuero (conocido también como suero de la leche). En particular, dicho procedimiento comprende una serie de etapas operativas cuyo resultado final es la obtención de un concentrado de proteínas procedente del lactosuero (denominadas también "proteínas séricas") con propiedades extremadamente ventajosas.

De hecho, el procedimiento descrito en el presente documento permite reducir el contenido de lactosa presente en el lactosuero, manteniendo a la vez su contenido de proteínas séricas y, por tanto, en otras palabras, sin alterar o modificar su composición característica de proteínas, aminoácidos, sales minerales, etc.

En particular, el concentrado de proteínas séricas obtenible mediante el procedimiento descrito en el presente documento se caracteriza por que tiene una concentración ≤ 0,5 gramos de lactosa por kilogramo de proteínas. Además, las proteínas aisladas del lactosuero de acuerdo con lo descrito más adelante tienen un grado de pureza de al menos un 96 %.

5

Por tanto, el procedimiento objeto de la presente descripción se puede usar ventajosamente para la preparación de concentrados de proteínas séricas a partir de lactosueros, previstos, por ejemplo, para sujetos con intolerancia o alergia a la lactosa, y/o que necesitan una contribución significativa de proteínas séricas.

Asimismo, los autores de la presente invención han observado también que el procedimiento descrito en el presente documento lleva a un concentrado de proteínas séricas caracterizado por que no tiene olores ni sabores desagradables, característicos, en cambio, de las proteínas del lactosuero. Dicha ventaja adicional en el análisis final determina, por ejemplo, un uso más sencillo del concentrado en las etapas siguientes, tales como la preparación de productos que lo contienen, que pueden ser, como ejemplo pero sin limitarse a los mismos, productos de alimentación, belleza, biotecnología, etc.

Por tanto, un primer objeto de la presente descripción es un procedimiento para la preparación de un concentrado de proteínas séricas con un contenido reducido de lactosa a partir de una muestra de lactosuero, que comprende las siguientes etapas:

20

25

30

35

65

- a) concentrar dicha muestra de lactosuero, obteniendo así una concentración de proteína de entre aproximadamente 150 y 300 gramos/litro;
- b) someter dicho concentrado de lactosuero a al menos una etapa de diafiltración;
- c) diluir dicho concentrado de proteínas diafiltrado, obteniendo así una solución que tiene una concentración de proteína en el intervalo de aproximadamente 50-90 gramos/litro;
- d) añadir a dicha solución aproximadamente 5-10 gramos de una sílice pirogénica por litro de solución;
- e) añadir a dicha solución aproximadamente 70-300 ml de etanol al 95 % v/v, por kilogramo de proteínas;
- f) acidificar el pH de la solución obtenida en la etapa e) hasta un valor de aproximadamente 4,5-5;
- g) calentar la solución acidificada a una temperatura entre aproximadamente 55 y 70 °C durante al menos 20 minutos, alcanzándose dicha temperatura en un periodo de aproximadamente 30 minutos;
- h) enfriar la solución hasta una temperatura entre aproximadamente 10 y 20 °C;
- i) llevar a cabo la separación de la solución enfriada de proteínas;
- l) llevar el pH de la solución separada hasta un valor de aproximadamente 5,8-6,8;
- m) someter la solución obtenida en l) a al menos un paso de microfiltración, obteniendo de este modo un concentrado de proteínas con una concentración de proteína de entre aproximadamente 100 y 300 gramos/litro;
- n) someter dicho concentrado de proteínas a al menos una etapa de diafiltración;
- o) secar y/o liofilizar dicho concentrado de proteínas;

en el que dicho concentrado de proteínas séricas procedente de lactosuero tiene una concentración ≤ 0,5 gramos de 40 lactosa por kilogramo de proteínas.

Un segundo objeto de la presente descripción es un concentrado de proteínas procedente de lactosuero (o proteínas séricas) que comprende ≤ 0,5 gramos de lactosa por kilogramo de proteínas.

45 Otros objetos de la presente descripción son productos de alimentación, belleza o biotecnología que comprenden el anterior concentrado de proteínas procedente de lactosuero.

Descripción detallada de la invención

- La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un concentrado de proteínas séricas con un reducido contenido de lactosa procedente de una muestra de lactosuero. En otras palabras, el procedimiento descrito en el presente documento permite aislar la mezcla de proteínas contenidas en el lactosuero reduciendo o eliminando la lactosa presente en la muestra de suero de leche de partida.
- 55 En la presente descripción, con el término "lactosuero" o "suero de leche" se quiere dar a entender la fracción líquida obtenida de leche entera, desnatada o semidesnatada tras la separación del cuajo.

En particular, el procedimiento objeto de la presente descripción comprende las siguientes etapas operativas:

- a) concentrar dicha muestra de lactosuero, obteniendo así una concentración de proteína de entre aproximadamente 150 y 300 gramos/litro;
  - b) someter dicho concentrado de lactosuero a al menos una etapa de diafiltración;
  - c) diluir dicho concentrado de proteínas diafiltrado, obteniendo así una solución que tiene una concentración de proteína en el intervalo de aproximadamente 50-90 gramos/litro;
  - d) añadir a dicha solución aproximadamente 5-10 gramos de una sílice pirogénica por litro de solución;
    - e) añadir a dicha solución aproximadamente 70-300 ml de etanol al 95 % v/v, por kilogramo de proteínas;

- f) acidificar el pH de la solución obtenida en la etapa e) hasta un valor de aproximadamente 4,5-5,0;
- g) calentar la solución acidificada a una temperatura entre aproximadamente 55 y 70 °C durante al menos 20 minutos, alcanzándose dicha temperatura en un periodo de aproximadamente 30 minutos;
- h) enfriar la solución hasta una temperatura entre aproximadamente 10 y 20 °C;
- i) llevar a cabo la separación de la solución enfriada de proteínas;
- I) llevar el pH de la solución separada hasta un valor de aproximadamente 5,8-6,8;
- m) someter la solución obtenida en l) a al menos un paso de microfiltración, obteniendo de este modo un concentrado de proteínas con una concentración de proteína de entre aproximadamente 100 y 300 gramos/litro;
- n) someter dicho concentrado de proteínas a al menos una etapa de diafiltración;
- o) secar y/o liofilizar dicho concentrado de proteínas;

en el que dicho concentrado de proteínas séricas procedente de lactosuero tiene una concentración ≤ 0,5 gramos de lactosa por kilogramo de proteínas.

La preparación de un concentrado de proteínas de acuerdo con el procedimiento descrito en el presente documento se puede llevar a cabo a partir de una muestra de lactosuero que puede comprender tanto lactosuero ácido como lactosuero dulce, o puede contener solo lactosuero ácido o solo lactosuero dulce. El lactosuero útil para los fines de la presente invención puede ser de cualquier origen; por tanto, simplemente como ejemplo no limitante, tal lactosuero se puede obtener de leche humana, bovina, caprina, etc.

Tal y como se ha indicado anteriormente, el procedimiento comprende una etapa de concentración de la muestra de lactosuero de partida, que se puede llevar a cabo de acuerdo con una cualquiera de las técnicas conocidas por el experto en la materia y que es adecuada para tal fin. En una realización preferente del presente procedimiento, la etapa de concentración se lleva a cabo mediante una o varias ultrafiltraciones. Por ejemplo, la ultrafiltración, de acuerdo con la etapa a) anteriormente indicada, se lleva a cabo mediante el uso de membranas que tienen un límite de entre aproximadamente 10000 y 15000 daltons. Por tanto, como ejemplo, se pueden usar membranas que tienen un límite de 10000, 11000, 12000, 13000, 14000 y/o 15000. Para los fines de obtención de un lactosuero que tiene una concentración de proteína de al menos 150 gramos/litro, pueden ser necesarias una o más etapas de ultrafiltración y/o el uso de una o más de las membranas anteriormente indicadas.

La siguiente etapa, es decir la etapa b) del procedimiento anterior, consiste en reducir la mayor cantidad posible de lactosa en el concentrado de lactosuero de acuerdo con lo mencionado anteriormente. La eliminación total o la reducción parcial del contenido de lactosa se pueden llevar a cabo, por ejemplo, mediante al menos una etapa de diafiltración. Por "diafiltración" se quiere significar en general la separación de microsolutos de una solución de moléculas, en este caso proteínas, mediante ultrafiltración llevada a cabo con adición continua de disolvente. Por ejemplo, la diafiltración de acuerdo con el presente procedimiento se puede llevar a cabo usando como disolvente agua desmineralizada, destilada y/u osmótica, pero no soluciones salinas. Simplemente como ejemplo, se pueden usar tres volúmenes de agua desmineralizada por cada volumen de concentrado de lactosuero. En una realización de la presente invención, las etapas de diafiltración del concentrado de lactosuero son al menos 3 y se llevan a cabo empleando tres volúmenes de agua desmineralizada por cada volumen de concentrado de lactosuero.

El lactosuero diafiltrado, que debido a lo anterior se caracteriza, en comparación con la muestra de lactosuero de partida, por una concentración reducida de lactosa, se diluye después mediante la adición de un disolvente, obteniendo así una solución de lactosuero diafiltrado con un contenido de proteína de aproximadamente 50-90 gramos/litro. En particular, dicha solución puede tener un contenido de proteína de aproximadamente 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90 gramos/litro. En una realización de la invención, la solución de lactosuero diafiltrado tiene una concentración de proteína de aproximadamente 70 gramos/litro. Por ejemplo, la dilución de la solución de lactosuero diafiltrado se lleva a cabo mediante el uso de agua desmineralizada como disolvente.

La etapa d) del procedimiento descrito en el presente documento comprende añadir a la solución diluida de lactosuero aproximadamente 5-10 gramos, por ejemplo, 7 gramos, de una sílice pirogénica por litro de solución.

La sílice pirogénica es un tipo particular de sílice que consiste en gotitas microscópicas de sílice amorfa que se aglomeran en partículas terciarias con características químico-físicas peculiares. La sílice pirogénica, presente normalmente en el mercado en forma de un polvo, es una sílice pirogénica hidrófila capaz de fijar lipoproteínas, materia grasa residual y/o macromoléculas presentes en una solución dada. En este momento no es necesario describir con detalle la sílice pirogénica, ya que es bien conocida y ampliamente usada en diversos campos técnicos por los expertos en la materia. Simplemente, como ejemplo y sin ningún propósito limitante para los fines de la presente invención, la sílice pirogénica puede ser de tipo Aerosil®, por ejemplo, Aerosil® 380 y/o Aerosil® 200.

Después de la adición de la sílice anterior, se añaden a la solución aproximadamente 70-300 ml de etanol al 95 % v/v por kilogramo de proteínas. Por ejemplo, la cantidad de etanol añadida es de aproximadamente 120 ml por kilogramo de proteínas e incluso mayor; por ejemplo, el etanol es de calidad alimentaria.

65

5

10

20

25

30

35

40

45

50

55

60

A continuación, de acuerdo con la etapa f) del procedimiento descrito en el presente documento, el pH de la solución se lleva a un valor de aproximadamente 4,5 a 5,0, por ejemplo, usando HCl. El pH de la solución al final de la etapa f) puede ser un pH de 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5,0; por ejemplo, el pH tendrá un valor de 4,6.

- La solución ácida así obtenida se calienta después a una temperatura entre 55 y 70° durante al menos 20 minutos. En particular, dicha temperatura de calentamiento puede ser de 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70°C, por ejemplo, de 66°C. Para los fines de la presente invención, el calentamiento descrito hasta ahora, que consiste de hecho en un aumento de la temperatura desde la temperatura inicial de la muestra de lactosuero de partida hasta la temperatura de interés indicada anteriormente, debe producirse en un intervalo de al menos 30 min. En particular, los inventores del presente procedimiento observaron que un calentamiento más rápido de la solución determina una pérdida de rendimiento de proteínas séricas purificadas, mientras que un calentamiento más lento de la misma determina una purificación no satisfactoria de las proteínas séricas, ya que no se eliminan proteínas que no son de interés, por ejemplo, la caseína.
- A continuación la solución calentada se enfría hasta una temperatura inferior, entre 10 y 20 °C, por tanto, hasta una temperatura de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 °C.
- Dicha solución enfriada se somete a una separación a fin de aislar la fracción que contiene las proteínas séricas. Dicha etapa i) del procedimiento descrito en el presente documento se puede llevar a cabo de acuerdo con una cualquiera de las técnicas de separación/purificación considerada adecuada por el experto en la materia para permitir la separación del componente de proteína de la solución anterior. Simplemente, como ejemplo, la separación puede ser continua utilizando separadores Alfa Laval o Westfalia.
- El pH de la solución separada, que contiene las proteínas séricas, se lleva después a un valor de entre 5,8 y 6,8, por ejemplo, usando NaOH. El pH de la solución al final de tal etapa I) puede ser un pH de 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7 o 6,8; por ejemplo, el pH tendrá un valor de 6,4.
- Seguidamente, de acuerdo con la etapa m) del procedimiento objeto de la presente descripción, la solución de proteínas séricas se somete al menos a un paso de microfiltración, obteniendo de este modo un concentrado de proteínas con una concentración de proteína de entre aproximadamente 100 y 300 gramos/litro. En una realización del presente procedimiento, la microfiltración se lleva a cabo con membranas que tienen un límite de aproximadamente 12 micrómetros o 0,6 micrómetros. En particular, se puede llevar a cabo al menos un primer paso de microfiltración usando membranas con un límite de 12 micrómetros, seguido de uno o más pasos de microfiltración usando membranas con un límite de 6 micrómetros. Por ejemplo, las membranas de microfiltración que se van a usar en el procedimiento descrito en el presente documento son membranas orgánicas y/o cerámicas.
  - A continuación, la solución microfiltrada de proteínas séricas se somete a al menos una etapa de diafiltración que se puede llevar a cabo de modo análogo al ya descrito hasta ahora para la etapa b) del procedimiento de la presente descripción.
  - Finalmente, la solución microfiltrada y diafiltrada de proteínas de lactosuero se seca y/o se liofiliza, obteniendo de este modo un concentrado de proteínas séricas procedente de lactosuero.
- El concentrado de proteínas procedente de lactosuero o de proteínas séricas obtenible mediante el procedimiento descrito anteriormente se caracteriza, en particular, por tener una concentración ≤ 0,5 gramos de lactosa por kilogramo de proteínas. Asimismo, el procedimiento lleva a un concentrado de proteínas séricas en el que la pureza de las proteínas contenidas en el mismo es de al menos un 96 %.

40

55

60

65

- Además, el concentrado de proteínas obtenible de acuerdo a lo descrito en el presente documento, se caracteriza también por que no tiene los olores ni los sabores desagradables característicos de las proteínas del lactosuero.
  - Tal y como se ha indicado previamente, las características químico-físicas de dicho concentrado lo hacen particularmente ventajoso en condiciones en las que es necesario que el contenido de lactosa presente en el mismo esté reducido a un mínimo o, por ejemplo, sea nulo, como en el caso en el que su uso previsto implique sujetos intolerantes y/o alérgicos a la lactosa. De acuerdo con lo que se ha mencionado hasta ahora, un objeto de la presente invención es el uso del concentrado de proteínas anteriormente descrito para la preparación de productos que se pueden destinar a cualquier campo de la técnica, tal como, por ejemplo, si bien sin limitarse a los mismos, productos del campo de la alimentación, la cosmética, la biotecnología. Simplemente, como ejemplo, los productos de alimentación pueden ser alimentos destinados a la nutrición de bebés, personas enfermas, niños, personas ancianas, o simplemente personas que siguen un régimen dietético particular, por ejemplo, sopas, yogures, leche, zumos de fruta, postres, etc. En el campo cosmético, en cambio, el concentrado objeto de la presente invención puede estar comprendido en productos de hidratación o, en general, en productos que posibilitan la nutrición de las células de la piel. Asimismo, en el campo de la biotecnología, el concentrado de proteínas séricas se puede usar, por ejemplo, como un elemento para ser introducido en medios de cultivo para células de mamíferos o para microorganismos previstos, por ejemplo, para la producción de proteínas recombinantes.

Dichos productos tendrán una concentración por kilogramo de proteínas igual a la del concentrado de la presente descripción.

En los productos de acuerdo con la presente descripción, las proteínas séricas serán aquellas comprendidas en el concentrado de acuerdo con la presente descripción y por tanto, el propio producto tendrá una concentración de lactosa igual a ≤ 0,5 gramos de lactosa por kilogramo de proteínas de lactosuero.

En el caso de productos tales como leche o yogur que comprenden el concentrado de la presente descripción, a fin de mantener la ausencia de lactosa y aumentar la concentración de proteína séricas, obteniendo de este modo un producto con una mayor concentración de proteína, se podría usar leche deslactosada como producto de partida al que se añadirá el concentrado de la presente descripción.

## **Ejemplos**

10

20

15 Ejemplo 1: Enriquecimiento de productos alimentarios con el concentrado de proteínas de lactosuero.

Los productos alimentarios que comprenden el concentrado de proteínas séricas se pueden preparar tal como sigue:

Sopas: entre 10 y 15 g de concentrado para una porción de sopa de entre 150 y 250 ml; Leche: entre 5 y 10 g de proteínas séricas para una porción de leche de entre 150 y 250 ml; Yogur: entre 5 y 10 g de concentrado para una porción de yogur de entre 100 y 250 ml; Zumo de fruta: entre 5 y 10 g de concentrado para una porción de entre 100 y 1000 ml; Postre: entre 5 y 10 g de concentrado para una porción de postre de entre 100 y 250 ml.

#### **REIVINDICACIONES**

- 1. Un procedimiento para la preparación de un concentrado de proteínas séricas con un reducido contenido de lactosa procedente de una muestra de lactosuero, que comprende las siguientes etapas:
  - a) concentrar dicha muestra de lactosuero, obteniendo así una concentración de proteína de entre aproximadamente 150 300 gramos/litro;
  - b) someter dicho concentrado de lactosuero a al menos una etapa de diafiltración;
  - c) diluir dicho concentrado de proteínas diafiltrado, obteniendo así una solución que tiene una concentración de proteína en el intervalo de aproximadamente 50-90 gramos/litro;
  - d) añadir a dicha solución aproximadamente 5-10 gramos de una sílice pirogénica por litro de solución;
  - e) añadir a dicha solución aproximadamente 70-300 ml de etanol al 95 % v/v, por kilogramo de proteínas;
  - f) acidificar el pH de la solución obtenida en la etapa e) hasta un valor de aproximadamente 4,5-5,0;
  - g) calentar la solución acidificada a una temperatura entre aproximadamente 55 y 70 °C durante al menos 20 minutos, alcanzándose dicha temperatura en un periodo de aproximadamente 30 minutos;
  - h) enfriar la solución hasta una temperatura entre aproximadamente 10 y 20 °C;
  - i) llevar a cabo la separación de la solución enfriada de proteínas;
  - I) llevar el pH de la solución separada hasta un valor de aproximadamente 5,8-6,8;
  - m) someter la solución obtenida en l) a al menos un paso de microfiltración, obteniendo de este modo un concentrado de proteínas con una concentración de proteína de entre aproximadamente 100 y 300 gramos/litro;
  - n) someter dicho concentrado de proteínas a al menos una etapa de diafiltración;
  - o) secar y/o liofilizar dicho concentrado de proteínas;

5

10

15

20

35

45

- en el que dicho concentrado de proteínas séricas procedente de lactosuero tiene una concentración ≤ 0,5 gramos de lactosa por kilogramo de proteínas.
  - 2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha muestra de lactosuero comprende lactosuero dulce y/o lactosuero ácido.
- 30 3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que la concentración en las etapas a) y n) se lleva a cabo mediante ultrafiltración.
  - 4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, en el que dicha ultrafiltración se lleva a cabo con membranas que tienen un límite de entre aproximadamente 5000 y 15000 daltons.
  - 5. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicha al menos una etapa de diafiltración en las etapas b) y n) son al menos tres.
- 6. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicha al menos una etapa de diafiltración en la etapa b) se lleva a cabo usando como disolvente agua desmineralizada, y/o agua desionizada, y/o una solución osmótica.
  - 7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, en el que dicha diafiltración se efectúa usando 3 volúmenes de dicho disolvente por cada volumen de la solución concentrada de proteínas.
  - 8. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicha etapa d) se lleva a cabo añadiendo aproximadamente 7 gramos de sílice pirogénica por litro de dicha solución diluida.
- 9. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que dicha etapa e) se lleva a cabo añadiendo a dicha solución aproximadamente 100-150 ml de etanol por kilogramo de proteínas.
  - 10. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que dicha etapa g) se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 66 °C.
- 11. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que dicho al menos un paso de microfiltración en la etapa m) se lleva a cabo usando una membrana con un límite de aproximadamente 12 micrómetros o 0,6 micrómetros.
- 12. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que dichas proteínas tienen una pureza de al menos 96 %.
  - 13. Un concentrado de proteínas de lactosuero obtenible mediante el procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.
- 65 14. Un concentrado de proteínas de lactosuero que comprende ≤ 0,5 gramos de lactosa por kilogramo de proteínas.

7

- 15. El concentrado de proteínas de lactosuero de acuerdo con la reivindicación 14, en el que dichas proteínas tienen una pureza de al menos 96 %.
- 16. El concentrado de proteínas de lactosuero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, caracterizado por que no tiene los olores ni los sabores desagradables característicos de las proteínas del suero.

5

17. Uso de un concentrado de proteínas de lactosuero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, para la preparación de productos de alimentación, cosmética o biotecnología.