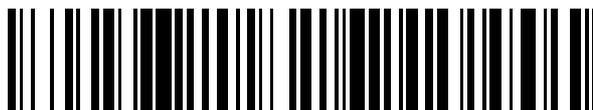


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 666 293**

51 Int. Cl.:

A23C 9/12 (2006.01)

A23C 9/142 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.10.2011 PCT/FI2011/050934**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.05.2012 WO12056106**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.10.2011 E 11785712 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018 EP 2632277**

54 Título: **Producto lácteo y método de preparación**

30 Prioridad:

29.10.2010 FI 20106137

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

03.05.2018

73 Titular/es:

VALIO LTD (100.0%)

Meijeritie 6

00370 Helsinki, FI

72 Inventor/es:

SIBAKOV, TIMO y

TOSSAVAINEN, OLLI

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 666 293 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

Producto lácteo y método de preparación

5 Campo de la invención

La invención se refiere a un producto lácteo que es adecuado para personas que padecen intolerancia a la lactosa y/o efectos adversos de la proteína de la leche. Más particularmente, la invención se refiere a un producto bajo en lactosa en el que la proteína de la leche se hidroliza mediante una proteasa sin afectar negativamente las propiedades organolépticas del producto lácteo. La invención también se refiere a un proceso de preparación de un producto lácteo hidrolizado de proteína con un contenido bajo en lactosa.

Antecedentes de la invención

15 Las intrincadas influencias propicias de la leche sobre la salud de los mamíferos están ampliamente reconocidas y establecidas. Por ejemplo, se ha observado una fuerte correlación inversa entre el consumo regular y elevado de productos lácteos y el desarrollo del síndrome metabólico de sobrepeso en adultos. Asimismo, la leche es una excelente fuente de calcio que puede contribuir a la adecuada formación ósea durante la juventud. La leche no se consume solamente por su valiosa composición nutricional sino que la leche se ha establecido por sí misma como
 20 una bebida consumida comúnmente en las comidas diarias, especialmente entre niños. Sin embargo, hay una cantidad creciente de personas que padecen problemas gastrointestinales cuando consumen productos lácteos. Los problemas pueden derivarse de dos causas principales, es decir, intolerancia a la lactosa y efectos adversos de la proteína de la leche (dividido en hipersensibilidad inmuno mediada = alergia a la leche e intolerancia no inmuno mediada = intolerancia a la proteína de la leche). La intolerancia es causada por una insuficiente escisión de un
 25 sustrato tal como la lactosa por la enzima de lactasa en los intestinos y normalmente se ve aumentada a lo largo de los años mientras que la alergia a la leche es causada por una reacción inmune adversa a las proteínas de la leche de animales, normalmente vaca, y normalmente aparece en lactantes pero normalmente ocurre a edad escolar. Dichos síntomas se evitan proporcionan productos lácteos bajos en lactosa o libres de lactosa para personas intolerantes a la lactosa y productos modificados de proteínas para niños, tales como formulaciones para lactantes.
 30 Para los adultos, la intolerancia a la lactosa es la razón principal para evitar productos lácteos.

Los síntomas de la intolerancia a la lactosa y a los de la hipersensibilidad a la proteína de la leche pueden variar individualmente pero son en gran medida similares entre sí. Los principales síntomas son gastrointestinales, incluyendo flatulencia, ruido estomacal, hinchazón, dolor abdominal, etc. Por ejemplo, Hughes y col. han demostrado que las proteínas sin digerir en el colon causan la formación de gas mediante la deamidación y fermentación (Hughes, R., Magee, E. A. M., Bingham, S., Protein degradation in the large intestine, Curr. Issues Intest. Microbiol. 1(2) (2000): 51: 58).

El documento JP 2002-000291 desvela un método para la producción de un hidrolizado de proteína de la leche que tiene un contenido bajo en lactosa en el que la materia prima de la proteína de la leche se trata con lactasa y enzima proteolítica. Un producto de descomposición del azúcar de la leche con un bajo contenido en lactosa se recupera mediante nanofiltración. La hidrólisis y proteólisis de lactosa puede conseguirse bien simultáneamente o bien una tras la otra en un orden deseado, llevándose a cabo la nanofiltración en cada caso después de la hidrólisis de la lactosa. El hidrolizado de proteína de la leche se informa que es adecuado para personas alérgicas a la comida e intolerantes a la lactosa.

El documento US 2002/0192333 A1 desvela leche resistente a la coagulación ácida que se trata con proteasa para aumentar la biodisponibilidad de calcio de la leche en un animal. El aspecto y sabor de la leche tratada con proteasa permanece inalterado.

El documento US 2005/0244542 A1 desvela leche resistente a la coagulación ácida que tiene una capacidad de absorción aumentada de calcio con las propiedades organolépticas inalteradas. La leche se calienta en primer lugar a una temperatura de aproximadamente 40 °C y 90 °C y a continuación se trata con enzima de proteasa.

El documento CN 101185475 desvela un proceso para preparar una preparación de péptido de leche para polvo de lactante en el que se trata leche desnatada con lactasa y proteasa, decolorada, refinada y filtrada para obtener una solución clara.

El documento RU 2193327 desvela un suero de leche bajo en lactosa que se proteoliza mediante quimotripsina.

El documento US 2009/123602 A1 desvela un método para retirar lactosa de leche en la cual la leche está desgrasada, precipitada, ultrafiltrada, redisuelta, mezclada y restituida.

El documento US 2005/214409 A1 desvela un procedimiento para producir una leche baja en lactosa mediante ultrafiltración, nanofiltración y ósmosis inversa.

El documento US 2010/055286 A1 desvela un proceso para la producción de un producto de leche bajo en lactosa, en el que una materia prima de leche hidrolizada con lactosa se somete a filtración/filtraciones de membrana para separar la proteína, azúcares y minerales en distintas fracciones. Las fracciones separadas se recombinan para producir un producto de leche bajo en lactosa.

5 El documento US 2005/0170044 A1 desvela un proceso para fabricar leche sin lactosa en el que la leche se filtra, tal como ultrafiltra, para producir un permeado y concentrado que contiene sólidos. El concentrado se diluye a continuación con agua para reducir el porcentaje de sólidos en el mismo. Después de la dilución, la lactosa del producto lácteo resultante puede hidrolizarse enzimáticamente.

10 Los productos lácteos bajos en lactosa o sin lactosa ya están disponibles en el mercado desde hace muchos años. Sin embargo, se ha demostrado que los productos lácteos que tienen un bajo contenido en lactosa inferior al 0,01 % no son adecuados para todas las personas intolerantes a la lactosa y aún causan problemas gastrointestinales a algunos consumidores. Por lo tanto, aún existe la necesidad de productos lácteos en los que los síntomas gastrointestinales típicos causados por los productos lácteos sean evitados.

Breve descripción de la invención

20 Hemos encontrado ahora de forma sorprendente que los síntomas causados por los productos lácteos bajos en lactosa pueden reducirse modificando las proteínas de la leche de los productos lácteos bajos en lactosa con enzimas proteolíticas. Más particularmente, se encontró de forma sorprendente que incluso un bajo grado de hidrólisis de las proteínas de la leche en leche baja en lactosa reducía la gravedad de los síntomas estomacales en comparación con leche libre de lactosa normal.

25 Un aspecto de la invención proporciona un producto lácteo hidrolizado de proteína con un contenido bajo en lactosa que tiene una relación de proteína con respecto hidratos de carbono en el intervalo de 0,5 a 5 en peso, una relación de proteína a ceniza en el intervalo de 3 a 9 en peso, y un contenido de lactosa inferior al 1 % en peso, en el que el grado de hidrólisis de proteína es al menos 60 mg de tirosina/litro de la leche hidrolizada de proteína. De manera sorprendente, los productos lácteos de la invención carecen de los típicos defectos en sabor de los productos lácteos hidrolizados de proteína, causado por las enzimas proteolíticas, pero tienen un aspecto y propiedades organolépticas, tales como sabor y sensación en boca, similares a las de un producto lácteo normal.

30 Otro aspecto de la invención proporciona un método para producir un producto lácteo hidrolizado de proteína con un contenido bajo en lactosa que tiene una relación de proteína a hidratos de carbono en el intervalo de 0,5 a 5 en peso, una relación de proteína a ceniza en el intervalo de 3 a 9 en peso, y un contenido de lactosa inferior al 1 % en peso, en el que el grado de hidrólisis de proteína es al menos 60 mg de tirosina/litro del producto lácteo hidrolizado de proteína, que comprende someter a la materia prima de leche a la retirada de lactosa y al tratamiento con proteasa.

40 Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1a muestra los síntomas intestinales presentados por los individuos de estudio antes de la prueba del consumidor.

La Fig. 1b muestra el cambio en los síntomas intestinales después de 10 d de prueba ($p=0,039$).

45 La Fig. 2a muestra el cambio en la puntuación de los síntomas (1-7) en flatulencia ($p=0,014$).

La Fig. 2b muestra el cambio en la puntuación de los síntomas (1-7) en la hinchazón ($p=0,076$).

La Fig. 2c muestra el cambio en la puntuación de los síntomas (1-7) en el dolor abdominal ($p=0,47$).

La Fig. 2d muestra el cambio en la puntuación de los síntomas (1-7) en los ruidos estomacales ($p=0,039$).

50 Descripción detallada de la invención

Como se usa en el presente documento, el término "proteolizado" e "hidrolizado de proteína" se usan como sinónimos.

55 Como se usa en el presente documento, el término "proteólisis" e "hidrólisis de proteína" se usan como sinónimos.

60 Como se usa en el presente documento, el término "materia prima de leche" significa leche y combinaciones de leche y suero como tal o como un concentrado o pretratado como una manera deseada, tal como tratado térmicamente. La materia prima de leche puede complementarse con ingredientes usados generalmente en la preparación de productos lácteos, tales como grasa, proteínas, ceniza (minerales), o fracciones de azúcar o similares. Por lo tanto, la materia prima de leche puede ser, por ejemplo, leche entera, crema, leche baja en grasa o leche desnatada, leche ultrafiltrada, leche diafiltrada, leche microfiltrada, leche reducida en proteína de suero, leche recombinada a partir de polvo de leche, leche orgánica o una combinación de estas, o una dilución de cualquiera de estas. La leche puede provenir de una vaca, oveja, cabra, camello, caballo o cualquier otro animal que produzca

65 leche adecuada para la alimentación. La materia prima de leche es preferentemente leche baja en grasa o desnatada, más preferentemente leche desnatada.

La materia prima de leche puede tratarse térmicamente para aumentar la desnaturalización de las proteínas de suero y separar, de este modo, las proteínas de la leche.

5 Como se usa en el presente documento, el término "producto lácteo" significa un producto de origen lácteo, que comprende caseína y proteína de suero.

10 Como se usa en el presente documento, "bajo en lactosa" significa un contenido de lactosa inferior al 1 % en el producto lácteo hidrolizado de proteína. "Sin lactosa" significa que el contenido de lactosa del producto lácteo es de 0,5 g/ración (por ejemplo, para leche líquida 0,5 g/ 244 g, siendo el contenido en lactosa como máximo el 0,21 %), sin embargo, no superior al 0,5 %.

15 Un aspecto de la invención proporciona un producto lácteo hidrolizado de proteína con un contenido bajo en lactosa que tiene una relación de proteína con respecto a hidratos de carbono en el intervalo de 0,5 a 5 en peso, una relación de proteína a ceniza en el intervalo de 3 a 9 en peso, y un contenido de lactosa inferior al 1 % en peso, en el que el grado de hidrólisis de proteína es al menos 60 mg de tirosina/litro del producto lácteo hidrolizado de proteína medido de acuerdo con el método modificado de Matsubara y col., Crystalline bacterial proteinase II. General properties of crystalline proteinase of Bacillus subtilis N', J. Biochem. 45 (4) (1958) 251-258. Preferentemente, la relación de proteína respecto a hidratos de carbono se encuentra en el intervalo de 0,5 a 3. En una realización, la relación de proteína respecto a hidratos de carbono es de aproximadamente 1. Dicha relación de 0,5 a 5 en peso proporciona un producto lácteo hidrolizado de proteína con un bajo contenido en lactosa con buenas propiedades organolépticas. Más específicamente, el producto lácteo de la invención no tiene un sabor acuoso sino pleno, así como la estructura de un producto lácteo normal.

20 Preferentemente, la relación de proteína con respecto a ceniza del producto lácteo de la invención se encuentra en el intervalo de 3,5 a 7,5 en peso.

En una realización, la relación de proteína: hidratos de carbono: ceniza del producto lácteo de la invención es de aproximadamente 1,12:1:0,26.

30 Dichas relaciones de proteína con respecto a ceniza y proteína: hidratos de carbono: ceniza proporcionan un producto lácteo hidrolizado de proteína de la invención, que tiene propiedades organolépticas y un sabor pleno de la leche normal.

35 Las preparaciones de productos lácteos bajos en lactosa y sin lactosa se conocen generalmente. Se han presentado varios procesos para retirar lactosa de la leche. Un proceso enzimático convencional para la separación de lactosa se conoce generalmente en la técnica, comprendiendo el proceso la etapa de añadir lactasa a partir de hongos o levadura en la leche de tal modo que la lactosa se separa en monosacáridos, es decir, glucosa y galactosa, en más del 80 %.

40 La lactosa también puede retirarse de la materia prima de la leche, por ejemplo, usando técnicas de membrana. Se usan generalmente cuatro procesos de filtración de membrana: ósmosis inversa (RO), nanofiltración (NF), ultrafiltración (UF) y microfiltración (MF). De estos, la UF es principalmente adecuada para separar lactosa de la leche. La ósmosis inversa se aplica generalmente a la concentración, ultra y microfiltración para el fraccionamiento y nanofiltración para tanto la concentración como el fraccionamiento. Existe mucha bibliografía respecto a la retirada de lactosa de la leche con diversas técnicas de membrana.

45 Asimismo, se conoce un proceso de separación cromatográfico para la retirada de lactosa de la leche, por ejemplo, Harju, M., documento EP 0226035. En un proceso conocido en la técnica, por ejemplo, la leche se fracciona de tal modo que la fracción de lactosa se separa y las sales se encuentran en la fracción de proteína o fracción proteínica-grasa. El proceso se caracteriza por equilibrar la resina de intercambio catiónico haciendo que la composición de cationes se corresponda con la de la leche, y la leche de cromatografía en una columna con la resina de intercambio catiónico equilibrada a una temperatura de aproximadamente 50 a 80 °C usando agua en elución. Una ventaja del proceso es que todos los compuestos esenciales para el sabor permanecen en la leche.

50 Además, la lactosa puede precipitarse a partir de fracciones de leche. Existe mucha bibliografía respecto a procesos de cristalización y separación de lactosa.

55 En la presente invención, la lactosa puede retirarse de la leche de cualquier modo conocido en la técnica, tal como mediante técnicas de membrana usando una o más diversas filtraciones de membrana que incluyen microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración, diafiltración y ósmosis inversa, mediante hidrólisis de lactosa, cromatografía, precipitación o cualquier combinación de esas en una o más fases. Puede usarse en la presente invención cualquier enzima de lactasa para la hidrólisis de lactosa conocida en la técnica. En una realización de la invención, la lactosa se retira mediante técnicas de membrana.

65 El contenido de lactosa del producto de leche de la invención es inferior al 1 % en peso, preferentemente inferior al 0,1 % en peso, más preferentemente inferior al 0,01 % en peso.

En la invención, la hidrólisis de proteína de la leche puede lograrse de cualquier modo conocido en la técnica. Puede usarse cualquier enzima de proteasa en la hidrólisis. La separación enzimática de proteína se conoce generalmente en el ámbito, comprendiendo el proceso una etapa de adición de enzima de proteasa o mezclas de la misma a partir de fuentes de enzima generalmente conocidas, es decir, plantas y microorganismos, en la leche de tal modo que la proteína se separa en péptidos y aminoácidos.

El grado de hidrólisis de proteína del producto lácteo hidrolizado de proteína con bajo contenido en lactosa es de 60 mg a 500 mg de tirosina por litro de la leche hidrolizada de proteína que tiene un contenido de proteína de aproximadamente 3,5 % (p/p). Dicho intervalo de tirosina iguala un bajo grado de proteólisis.

De acuerdo con la invención, el producto lácteo hidrolizado de proteína con bajo contenido en lactosa tiene un contenido de tirosina soluble de hasta 500 mg/litro del producto que tiene un contenido de aproximadamente 3,5 % (p/p). En realizaciones adicionales, la tirosina soluble por litro es de 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 110 mg, 120 mg, 130 mg, 140 mg, 150 mg, 160 mg, 170 mg, 180 mg, 200 mg, 220 mg, 240 mg, 260 mg, 280 mg, 300 mg, 320 mg, 340 mg, 360 mg, 380 mg, 400 mg, 420 mg, 440 mg, 460 mg, 480 mg y 500 mg.

Otro aspecto de la invención proporciona un método para producir un producto lácteo hidrolizado de proteína con un contenido bajo en lactosa que tiene una relación de proteína a hidratos de carbono en el intervalo de 0,5 a 5 en peso, una relación de proteína a ceniza en el intervalo de 3 a 9 en peso, y un contenido de lactosa inferior al 1 % en peso, en el que el grado de hidrólisis de proteína es al menos 60 mg de tirosina/litro del producto lácteo hidrolizado de proteína medido de acuerdo con el método modificado de Matsubara y col., Crystalline bacterial proteinase II. General properties of crystalline proteinase of *Bacillus subtilis* N^o, J. Biochem. 45 (4) (1958) 251-258, que comprende someter a la materia prima de leche a la retirada de lactosa y al tratamiento con proteasa.

La retirada de lactosa y tratamiento con proteasa puede realizarse de forma simultánea o uno tras otro, es decir, la retirada de lactosa puede conseguirse antes de, durante o posteriormente al tratamiento con proteasa. En una realización, la retirada de lactosa se lleva a cabo antes del tratamiento con proteasa.

En una realización de la invención, la lactosa se retira de la materia prima de leche por medio de un tratamiento de enzima de lactasa.

Otra realización del método de la invención comprende las etapas de:

- a) someter la materia prima de leche a una o más filtraciones de membrana para producir un producto lácteo bajo en lactosa,
- b) si se desea, hidrolizar el producto lácteo bajo en lactosa mediante lactasa para producir un producto lácteo sin lactosa,
- c) someter el producto lácteo bajo en lactosa o el producto lácteo sin lactosa a un tratamiento con proteasa para producir un producto lácteo hidrolizado de proteína con un contenido bajo en lactosa.

En una realización de la invención, la lactosa residual en el producto lácteo bajo en lactosa se hidroliza en la etapa b) en monosacáridos como bien se conoce en el ámbito. Esto puede llevarse a cabo con enzimas de lactasa disponibles en el mercado en un modo conocido per se. En una realización, los tratamientos con lactasa y proteasa de las etapas b) y c), respectivamente, se llevan a cabo de forma simultánea.

En otra realización de la invención, el producto lácteo bajo en lactosa se produce mediante las etapas de:

- a) someter la materia prima de leche a ultrafiltración para producir un concentrado de ultrafiltración y un permeado de ultrafiltración,
- b) someter el permeado de ultrafiltración a nanofiltración para producir un permeado de nanofiltración y un concentrado de nanofiltración,
- c) devolver el permeado de la NO al concentrado de la UF para producir un producto lácteo bajo en lactosa.

En una realización adicional, el producto lácteo bajo en lactosa se produce mediante las etapas de:

- a) someter la materia prima de leche a ultrafiltración para producir un concentrado de ultrafiltración y un permeado de ultrafiltración,
- b) someter el permeado de ultrafiltración a nanofiltración para producir un permeado de nanofiltración y un concentrado de nanofiltración,
- c) concentrar el permeado de la NF mediante ósmosis inversa (RO) para producir un concentrado de RO y un permeado de RO,
- d) devolver el concentrado de RO al concentrado de la UF para producir un producto lácteo bajo en lactosa.

Aún en una realización adicional, la materia prima de leche se somete a microfiltración para producir un producto lácteo bajo en lactosa como un concentrado de microfiltración. En la microfiltración, las proteínas de suero que incluyen principalmente β -lactoglobulina y α -lactalbumina se concentran en un permeado de microfiltración y la

- caseína en un concentrado de microfiltración. Por lo tanto, la microfiltración permite modificar las proporcionar de β -lactoglobulina y α -lactalbumina en la materia prima de leche hasta un punto deseado y ajustar el contenido de proteína de suero total en el producto lácteo. La microfiltración puede llevarse a cabo a una temperatura elevada, tal como aproximadamente 50 °C o a una temperatura reducida, como aproximadamente 10 °C. En la diafiltración de la
- 5 microfiltración, es posible usar agua potable o fracciones de distintos procesos de membrana de leche, tal como permeado de NF, permeado de UF, concentrado de RO, fracción separada cromatográficamente o una combinación de estas, o una dilución de cualquiera de estas. El medio de diafiltración (agua de diafiltración) también puede originarse a partir de procesos separados.
- 10 Los procesos de la invención permiten que todos los ingredientes naturales presentes en la leche excepto la lactosa puedan retenerse o devolverse al producto lácteo. Por lo tanto, el aspecto y propiedades organolépticas, tales como sabor y sensación en boca, del producto lácteo permanecen similares a los de un producto lácteo normal.
- 15 El producto lácteo de la invención puede complementarse mediante otros ingredientes, como leche o diversos componentes naturales de la leche tales como minerales lácteos, también agua, vitaminas, etc. Pueden proporcionarse diversos componentes lácteos mediante cualquier método de separación adecuado como filtraciones de membrana, cromatografía, etc. Estos componentes pueden introducirse al producto lácteo de la invención para proporcionar le producto lácteo con el contenido graso, proteínico y de lactosa deseado. Los ingredientes complementarios pueden introducirse al producto lácteo proteolizado final de la invención, o en una o más etapas de
- 20 los métodos para producir el producto de la invención.
- En una realización de la invención, la materia prima de leche se somete a tratamiento térmico, por ejemplo, a un intervalo de temperatura de 65 °C a 95 °C, durante 15 segundos a 10 minutos antes de la retirada de lactosa para desnaturalizar al menos parte de las proteínas de suero y separar de forma selectiva las proteínas de suero.
- 25 Preferentemente, la separación de proteína de suero se consigue mediante técnicas de membrana, más preferentemente mediante microfiltración.
- En una realización de la invención, el producto lácteo hidrolizado de proteína se somete a un tratamiento de inactivación de proteasa. Las condiciones de inactivación dependen de la enzima usada en el método. Por ejemplo, calentar a 85 °C durante 1 minuto es suficiente para inactivar la mayoría de las enzimas.
- 30 EL tratamiento de inactivación puede llevarse a cabo mediante cualquiera etapa adecuada del proceso de preparación del producto. Por ejemplo, el tratamiento de inactivación puede conseguirse de forma simultánea con condiciones de tratamiento térmico convencionales usadas generalmente para la destrucción de patógenos en la leche. Ejemplos de tratamientos térmicos a usar en la invención son la pasteurización, pasteurización alta o calentamiento a una temperatura inferior a la temperatura de pasteurización durante un tiempo lo suficientemente largo. Específicamente, puede mencionarse el tratamiento UHT (por ejemplo, leche a 138 °C, 2 a 4 seg.), tratamiento ESL (por ejemplo, leche a 130 °C, 1 a 2 seg.) pasteurización (por ejemplo, leche a 72 °C, 15 seg.) o pasteurización alta (95 °C, 5 min.). El tratamiento térmico puede ser directo (vapor a leche, leche a vapor) o indirecto
- 35 (intercambiador térmico de tubos, intercambiador térmico de placa, intercambiador térmico de superficie rascada). El tratamiento térmico del producto debe ser suficiente para inactivar las enzimas de proteasa para evitar cualquier efecto adverso sobre las propiedades organolépticas.
- Los resultados de las pruebas en las Figuras 1 y 2 muestran de forma sorprendente que incluso un bajo grado de hidrólisis de las proteínas de la leche en l leche de la invención redujeron la gravedad de los síntomas estomacales con individuos sensible en comparación con la leche sin lactosa normal. Las propiedades organolépticas tales como sabor y sensación en boca y aspecto del producto lácteo de la invención se mantienen inesperadamente
- 45 excelentes, correspondiéndose con las de productos lácteos normales. Por ejemplo, los productos de la invención no tienen un sabor amargo típico de los productos lácteos hidrolizados de proteína, causado por los péptidos formados en la proteólisis.
- 50 El producto lácteo hidrolizado de proteína que tiene un contenido bajo en lactosa puede usarse como materia prima en l preparación de todo tipo de productos lácteos agrios y/o productos frescos acidificados, típicamente yogur, leche fermentada, viili y crema fermentada, crema agria, crème fraiche, quark, suero de leche, kefir, bebidas lácteas, u otros productos de leche agria y en la preparación de todo tipo de formulaciones en polvo.
- 55 El método de la invención es adecuado para la preparación de componentes moderna en la cual los componentes que tienen contenidos en grasa, proteínas y lactosa distintos se combinan de un modo conocido solo justo antes del envasado aséptico.
- 60 El método de la invención se puede aplicar tanto para la producción de lotes como para la producción continua. Preferentemente, el proceso de la invención se lleva a cabo como un proceso de lotes.
- Los siguientes ejemplos se presentan para una ilustración adicional de la invención sin limitar la invención a los
- 65 mismos. La tirosina soluble de los productos lácteos de la invención se analizó según el método modificado de Matsubara y col. (Matsubara, H., Hagihara, B., Nakai, M., Komaki, T., Yonetani, T., Okunuki, K., Crystalline bacterial

proteínase II. General properties of crystalline proteinase of *Bacillus subtilis* N^o, J. Biochem. 45 (4) (1958) 251-258). El análisis se llevó a cabo para muestra que se hirvieron durante 4 minutos a 100 °C y se centrifugaron. La tirosina soluble se determinó para el sobrenadante después de la centrifugación (3000 rcf (fuerza centrífuga relativa), 15 min).

5

Ejemplo 1

30 litros de leche pasteurizada (72 °C, 15 seg.) que tiene un contenido en grasa de 1,5 % se ultrafiltraron a 50 °C con un ultrafiltro Labstak de escala de laboratorio a una relación de concentración 1,5 usando membranas de GR61PP que tienen un valor de corte de 20,000 Da. Se recuperaron tanto el concentrado de UF obtenido (20L) como el permeado de UF obtenido (10L).

10

El permeado de UF que incluye principalmente lactosa (10L) se nanofiltró adicionalmente a temperatura ambiente mediante coeficiente de concentración 4 a través de membranas de nanofiltración Millipore Nanomax-50, mediante las cuales se retuvo la lactosa en un concentrado de NF (2,5L) y se pasaron iones univalentes a través de la membrana (retención de NaCl < 65 %) y se recogió en un permeado de NF (7,5L). El concentrado de la nanofiltración es adecuado para su uso adicional como fracción de lactosa de mineral baja.

15

El permeado de la nanofiltración (7,5L) se concentró a temperatura ambiente usando membranas de ósmosis inversa de Nanomax-95 (Millipore) mediante coeficiente de concentración 10, mediante el cual los materiales contenidos en el permeado de nanofiltración se concentraron en un concentrado de ósmosis inversa (RO) (retención de NaCl > 94 %). El concentrado de RO es útil en la producción de leche sin lactosa en términos de la restitución de minerales o complementación/realización de composición de minerales.

20

Se mezclaron 692 g del concentrado de UF y 105 g del concentrado de RO, producidos anteriormente y 203 g de agua, 4 g de HA lactasa (Chr. Hansen A/S, Dinamarca) y 4,7 mg de Alcalasa 2,4L de FG proteasa (Novozymes Inc., Dinamarca) junto con 0,81 mg de Flavourzima 1000 L (Novozymes Inc., Dinamarca) fueron añadidos a la mezcla. La mezcla se dejó hidrolizar a 6 °C durante 24 horas, tiempo durante el cual el contenido de lactosa cae por debajo del 0,01 % y el contenido de tirosina soluble de la mezcla aumenta a 150 mg/L de leche.

25

30

La Tabla 1 muestra las composiciones del concentrado de UF y el concentrado de RO producido tal como se ha descrito anteriormente. La composición y las propiedades organolépticas del producto lácteo proteolizado es similar a la de la leche semidesnatada normal y sabe igual que la leche semidesnatada, excepto en que el producto lácteo proteolizado está completamente libre de lactosa (lactosa <0,01 %) y el contenido de tirosina soluble del mismo se ve aumentado (150 mg/L). La relación de proteína: hidratos de carbono: ceniza en el producto lácteo de la invención fue de 3,35:3,0:0,79, es decir, 1,12:1:0,26.

35

Tabla 1. Producción de leche sin lactosa proteolizada (sólidos no grasos totales, NFTS, aproximadamente 7,3 % en peso)

40

Componente	concentrado de UF k=1,5	concentrado de RO	leche sin lactosa proteolizada de la invención	Leche semidesnatada
Proteína total, %	4,79	0,34	3,35	3,3
Lactosa, %	4,37	0,15	<0,01	4,64
Glucosa+galactosa, %	n.m.	n.m.	3,0	n.m.
Grasa, %	2,22	0	1,5	1,5
Ceniza, %	0,91	1,52	0,79	0,79
Materia seca, %	12,49	1,90	8,84	10,39
(n.m. = no medido)				

El producto lácteo proteolizado obtenido fue tratado térmicamente (125 °C, 4 seg) y se envasó asépticamente para asegurar su vida útil e inactivar las enzimas. El producto lácteo proteolizado se enfrió a 6 °C. Las propiedades organolépticas fueron excelentes.

45

Ejemplo 2

Se procesó leche desnatada tal como se describe en el Ejemplo 1 excepto en que la leche desnatada se ultrafiltró a una relación de concentración de 3,7 y un permeado de UF se nanofiltró adicionalmente mediante un coeficiente de concentración de 4,266 g del concentrado de UF y 369 g del permeado de NF obtenido, y se mezclaron 364 g de leche desnatada. Los tratamientos de enzima con lactasa y proteasa se llevaron a cabo de un modo similar al que se

50

describe en el Ejemplo 1. La composición y las propiedades organolépticas del producto lácteo proteolizado que tiene un contenido de sólidos no grasos totales de aproximadamente 8,4 % fueron similares a los del producto obtenido en el Ejemplo 1. El contenido de tirosina soluble se ve aumentado (148 mg/L).

5 **Tabla 2. Producción de leche sin lactosa proteolizada (NFTS > 8,25 % en peso) a partir de leche desnatada (36,4 %), Concentrado de UF (26,6 %) y permeado de NF (36,9 %)**

Componente	concentrado de UF k=3,7	Permeado de NF	Leche desnatada	leche sin lactosa proteolizada de la invención
Proteína total, %	12,5	0	3,5	4,6
Lactosa, %	5,1	0,14	4,6	<0,01
Glucosa+galactosa, %	n.m.	n.m.	n.m.	3,1
Grasa, %	0,2	0	0,05	0,07
Ceniza, %	1,6	0,24	0,77	0,78
Materia seca, %	18,5	0,3	9,6	8,5
(n.m. = no medido)				

10 Ejemplo 3

Se proceso leche desnatada tal como se describe en el Ejemplo 1 excepto en que el tratamiento con proteasa a 6 °C se llevó a cabo después del tratamiento con lactasa. La composición y las propiedades organolépticas del producto lácteo proteolizado fueron similares a los del producto obtenido en el Ejemplo 1.

15 Ejemplo 4

Se proceso leche desnatada tal como se describe en el Ejemplo 1 excepto en que el tratamiento con proteasa a 6 °C se llevó a cabo antes del tratamiento con lactasa. La composición y las propiedades organolépticas del producto lácteo proteolizado fueron similares a los del producto obtenido en el Ejemplo 1.

20

Ejemplo 5

La temperatura de la leche estandarizada (10 kg) que tiene un contenido graso de 1,5 % se ajustó a 6 °C. Se añadieron 0,8 g de HA lactasa (Chr. Hansen A/S, Dinamarca) y 47 mg de Alcalasa 2,4L de FG proteasa (Novozymes Inc., Dinamarca) junto con 8,1 mg de Flavourzima 1000 L (Novozymes Inc., Dinamarca) a la leche estandarizada. La mezcla obtenida se dejó hidrolizar a 6 °C durante 24 horas. A continuación, el producto lácteo proteolizado se sometió a tratamiento térmico tal como se describe en el Ejemplo 1. El producto lácteo proteolizado es similar a la leche baja en lactosa semidesnatada y sabe igual que la leche baja en lactosa, pero es ligeramente más dulce en comparación con la leche normal. El contenido de tirosina soluble se ve aumentado (147 mg/L).

30

Ejemplo 6

Se microfiltró leche desnatada a una temperatura de filtración de 50 °C usando 0,1 µm de membrana (Synder FR, Synder Filtration, EE.UU.) mediante un factor de concentración de 3 veces por volumen. La mayor parte de proteínas de suero se retiró a un permeado de microfiltración. El concentrado de MF producido en la microfiltración se diafiltró usando un permeado de UF (DSS GR61 PP, Alfa Laval AS, Dinamarca) alimentando el permeado de ultrafiltración al concentrado de MF a la misma velocidad con la cual se retiró el permeado de MF de la diafiltración. La cantidad de permeado de UF fue igual a la cantidad de la leche desnatada en la alimentación. Con la cantidad del permeado de UF usado en la diafiltración es posible regular el contenido de proteína de suero del concentrado de MF final. Después de la etapa de diafiltración, el permeado de ultrafiltración se añadió al concentrado de leche obtenido como un concentrado de MF para ajustar el contenido de proteína del concentrado de leche para corresponderse con el de la leche original. En otras palabras, la leche se diluyó para corresponderse al contenido original de proteína de la leche original. Con el sistema de microfiltración, se retiró el 78 % de la β-lactoglobulina de la leche.

45

El producto lácteo, es decir, el concentrado de MF estandarizado con permeado de UF (Tabla 3) estaba tratado con lactasa y proteasa y tratado térmicamente como en el Ejemplo 1.

Tabla 3. Producción de leche que tiene un bajo contenido de proteínas de suero (concentrado de MF estandarizado con permeado de UF) usando microfiltración

Componente	Leche desnatada (alimentación de MF)	Leche (concentrado de MF estandarizado con permeado de UF)	Leche (permeado de UF)
Proteína total, %	3,4	3,5	0,24
Lactosa, %	4,7	4,3	4,8
Grasa, %	0,1	0,1	0,02
Ceniza, %	0,75	0,77	0,49
Materia seca, %	9,1	9,0	5,8
β -lactoglobulina, g/L	3,2	0,7	n.m.
α -lactalbumina, g/L	1,2	0,37	n.m.
(n.m. = no medido)			

- 5 La composición y las propiedades organolépticas del producto lácteo proteolizado de la invención estaban cerca a la de la leche desnatada normal. El producto lácteo proteolizado sabe igual que la leche desnatada pero está completamente libre de lactosa (lactosa <0,01 %), tiene un contenido aumentado de tirosina soluble (>150 mg/L) y un bajo contenido de proteína de suero (la relación de α -lactalbumina con respecto a β -lactoglobulina < 1).

10 Ejemplo 7

- Se procesó leche desnatada como se describe en el Ejemplo 6 excepto en que la leche desnatada se microfiltró a una temperatura de filtración de 10 °C mediante un factor de concentración de 3,3 veces por volumen, y el concentrado de MF se diafiltró usando un 3 % de permeado de UF hidrolizado de leche. Después de la etapa de diafiltración, el permeado de ultrafiltración hidrolizado de la leche y los minerales lácteos se añadieron al concentrado de leche obtenido como el concentrado de MF para ajustar el contenido de proteína del concentrado de leche para que se corresponda al de la leche original. El producto lácteo, es decir, el concentrado de MF estandarizado con permeado de UF hidrolizado y minerales lácteos (Tabla 4) estaba tratado con enzima y tratado térmicamente como en el Ejemplo 1.

20

Tabla 4. Producción de leche que tiene un bajo contenido de proteína de suero (concentrado de MF estandarizado con permeado de UF) usando microfiltración

Componente	Leche desnatada (alimentación de MF)	Leche (concentrado de MF estandarizado con concentrado de UF hidrolizado y minerales lácteos)	Leche hidrolizada (permeado de UF)
Proteína total, %	3,4	3,5	0,24
Lactosa, %	4,7	0,1	0,01
Glucosa + galactosa, %	n.m.	3,5	4,7
Grasa, %	0,1	0,1	0,02
Ceniza, %	0,75	0,8	0,49
Materia seca, %	9,1	8,5	5,8
β -lactoglobulina, g/L	3,2	0,4	n. m
α -lactalbumina, g/L	1,2	0,15	n. m
(n.m. = no medido)			

- 25 La composición y las propiedades organolépticas del producto lácteo proteolizado de la invención estaban cerca a la de la leche desnatada normal. EL producto lácteo proteolizado sabe como la leche desnatada ligeramente dulce y tiene un contenido aumentado de tirosina soluble (>150 mg/L) y un bajo contenido de proteína de suero (la relación de α -lactalbumina con respecto a β -lactoglobulina < 1).

30

Ejemplo 8

El producto lácteo proteolizado de la invención producido en el Ejemplo 1 se usó en una prueba de consumidor, en el que el producto lácteo proteolizado de la invención se comparó con la leche semidesnatada sin lactosa (control).

- 5 El número total de participantes (N) fue 90, de los cuales 48 sujetos (consumidores) en el grupo de leche proteolizada (lactosa < 0,01 % y el contenido de tirosina soluble >150 mg/L) y 42 sujetos (consumidores) en el grupo de leche de control (lactosa < 0,01 %). Todos los sujetos usaron el producto lácteo diariamente al menos 2 dL durante 10 d de prueba (prueba en blanco). Los síntomas se siguieron e informaron mediante un diario de síntomas. La intensidad de cada síntoma, flatulencia, hinchazón, dolor abdominal y ruido estomacal se midió en una
10 escala de '0' (ausencia de síntomas) a '7' (síntomas graves).

- Como se muestra en la Figura 1b, el cambio en los efectos adversos abdominales (puntuación de síntomas total) fue superior en el grupo de leche proteolizada que en el grupo de control ($p=0,039$). El cambio en la intensidad de cada síntoma se muestra en las Figuras 2a a 2d. El producto lácteo proteolizado de la invención disminuyó
15 significativamente la flatulencia ($p=0,014$) (Figura 2a) y el ruido estomacal ($p=0,039$) (Figura 2d). También se observó menos hinchazón ($p=0,076$) (Figura 2b) y dolor abdominal ($p=0,47$) (Figura 2c).

REIVINDICACIONES

1. Un producto lácteo hidrolizado de proteína con un contenido bajo en lactosa que tiene una relación de proteína a hidratos de carbono en el intervalo de 0,5 a 5 en peso, preferentemente de 0,5 a 3, una relación de proteína respecto a ceniza en el intervalo de 3 a 9 en peso, preferentemente 3,5 a 7,5 en peso, y un contenido de lactosa inferior al 1 % en peso, preferentemente inferior al 0,1 % en peso, más preferentemente inferior al 0,01 % en peso, en el que el grado de hidrólisis de proteína es al menos 60 mg de tirosina/litro de la leche hidrolizada de proteína.
2. El producto lácteo hidrolizado de proteína de la reivindicación 1, en el que la relación de proteína respecto a hidratos de carbono es de aproximadamente 1.
3. El producto hidrolizado de proteína de una cualquier de las reivindicaciones anteriores, en el que la relación de proteína:hidratos de carbono:ceniza es de aproximadamente 1,12: 1: 0,26.
4. Un método para producir un producto lácteo hidrolizado de proteína con un contenido bajo en lactosa que tiene una relación de proteína a hidratos de carbono en el intervalo de 0,5 a 5 en peso, una relación de proteína a ceniza en el intervalo de 3 a 9 en peso, y un contenido de lactosa inferior al 1 % en peso, en el que el grado de hidrólisis de proteína es al menos 60 mg de tirosina/litro del producto lácteo hidrolizado de proteína.
5. El método de la reivindicación 4, en el que la retirada de lactosa puede conseguirse antes de, durante o posteriormente al tratamiento con proteasa, preferentemente antes del tratamiento con proteasa.
6. El método de la reivindicación 4 o 5, en el que la retirada de lactosa se consigue por medio de técnicas de membrana, hidrólisis de lactosa, cromatografía, precipitación o cualquier combinación de estas, preferentemente mediante técnicas de membrana.
7. El método de la reivindicación 6, en el que la materia prima de leche se somete a un tratamiento de enzima con lactasa.
8. El método de la reivindicación 6, en el que
- la materia prima de leche se somete a una o más filtraciones de membrana para producir un producto lácteo bajo en lactosa,
 - opcionalmente, el producto lácteo bajo en lactosa se hidroliza mediante lactasa para producir un producto lácteo sin lactosa,
 - someter el producto lácteo bajo en lactosa o el producto lácteo sin lactosa a un tratamiento con proteasa para producir un producto lácteo hidrolizado de proteína con un contenido bajo en lactosa.
9. El método de la reivindicación 8, en el que
- la materia prima de leche se somete a ultrafiltración para producir un concentrado de ultrafiltración y un permeado de ultrafiltración,
 - el permeado de ultrafiltración se somete a nanofiltración para producir un permeado de nanofiltración y un concentrado de nanofiltración,
 - el permeado de NF se devuelve al concentrado de UF para producir un producto lácteo bajo en lactosa.
10. El método de la reivindicación 9, en el que se añaden minerales lácteos, preferentemente al producto lácteo hidrolizado de proteína o el concentrado de UF.
11. El método de la reivindicación 8, en el que
- la materia prima de leche se somete a ultrafiltración para producir un concentrado de ultrafiltración y un permeado de ultrafiltración,
 - el permeado de ultrafiltración se somete a nanofiltración para producir un permeado de nanofiltración y un concentrado de nanofiltración,
 - el permeado de NF se concentra mediante ósmosis inversa (RO) para producir un concentrado de RO y un permeado de RO,
 - el concentrado de RO se devuelve al concentrado de UF para producir un producto lácteo bajo en lactosa.
12. El método de la reivindicación 11, en el que se añade agua y minerales lácteos, preferentemente al producto lácteo hidrolizado de proteína o el concentrado de UF.
13. El método de la reivindicación 8, en el que la materia prima de leche se somete a microfiltración para producir un producto lácteo bajo en lactosa como un concentrado de microfiltración.
14. El método de la reivindicación 13, en el que los minerales lácteos se añaden al concentrado de MF.

15. El método de la reivindicación 8, en el que las etapas b) y c) se consiguen de forma simultánea.

16. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 15, en el que la materia prima de leche se trata térmicamente antes de la retirada de lactosa y/o tratamiento con proteasa.

5 17. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 16, en el que el producto lácteo hidrolizado de proteína se somete a un tratamiento de inactivación de proteasa.

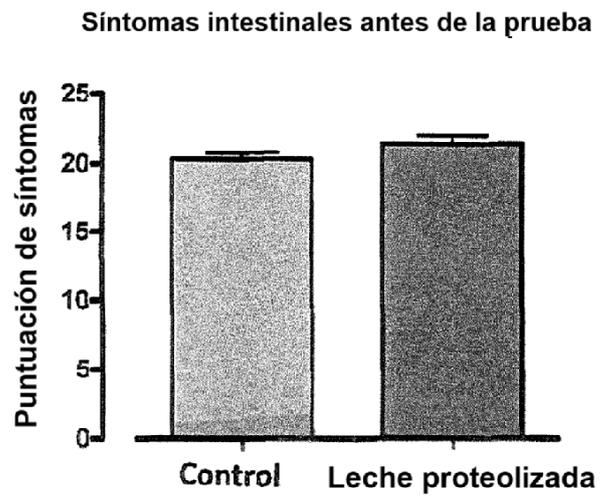


Fig. 1a

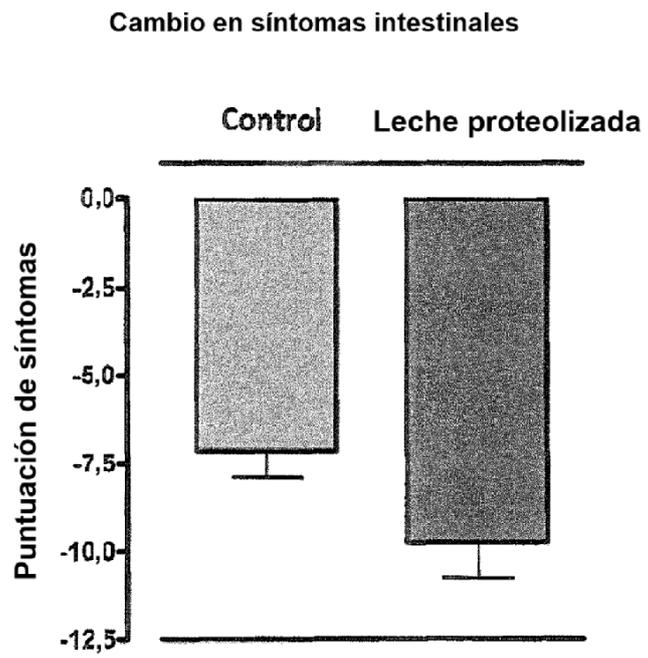


Fig. 1b

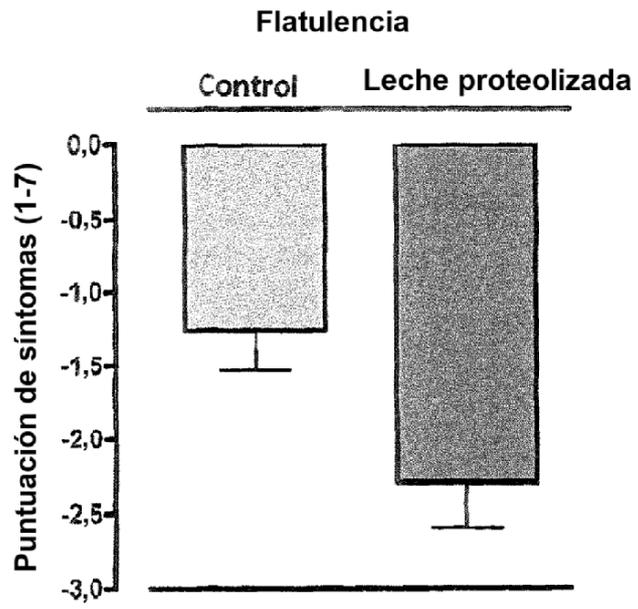


Fig. 2a

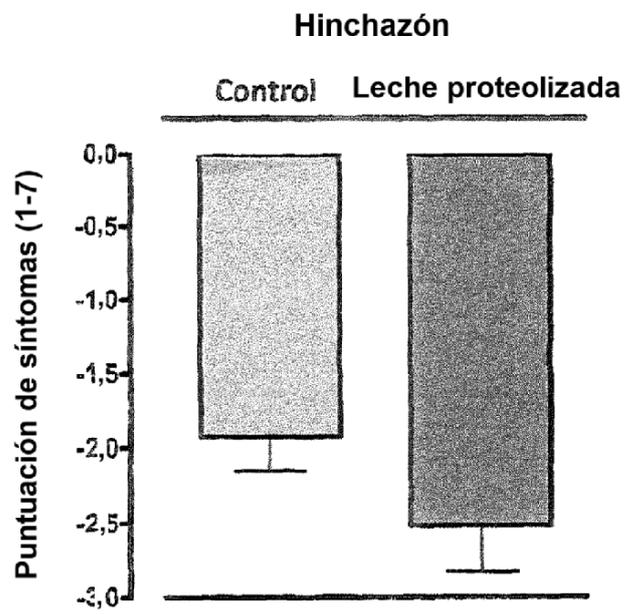


Fig. 2b

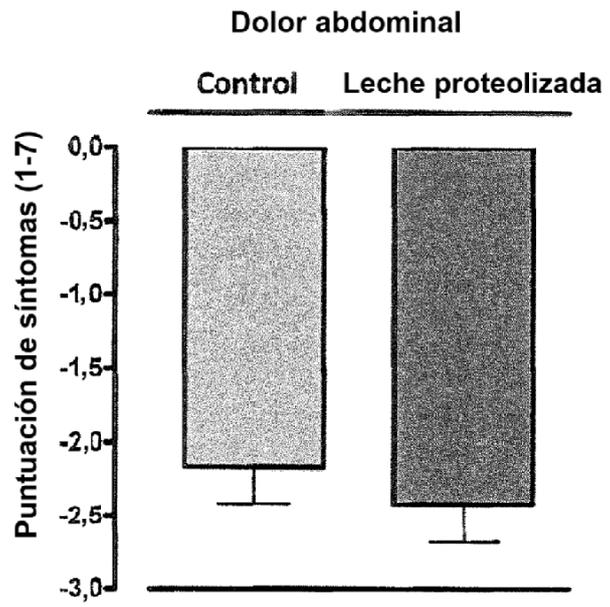


Fig. 2c

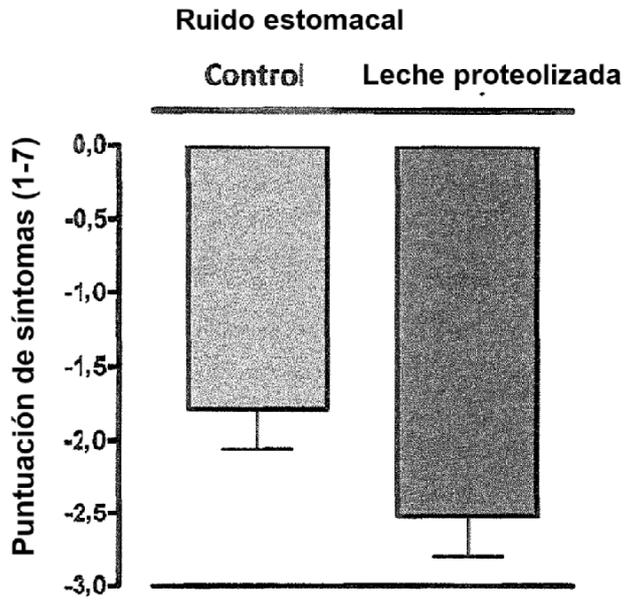


Fig. 2d