

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 754 601**

51 Int. Cl.:

A23C 7/04 (2006.01)

A23C 9/142 (2006.01)

A23C 9/144 (2006.01)

A23J 1/20 (2006.01)

A23J 3/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.06.2016 PCT/FR2016/051582**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.12.2016 WO16207579**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.06.2016 E 16757274 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019 EP 3313190**

54 Título: **Procedimiento de fabricación de una composición proteica láctea desmineralizada, adaptada en particular al sector biológico, y composición proteica láctea desmineralizada**

30 Prioridad:
25.06.2015 WO PCT/FR2015/000127

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.04.2020

73 Titular/es:
**NUTRIBIO (100.0%)
Zone Industrielle de Rouval
80600 Doullens, FR**

72 Inventor/es:
**VAN AUDENHAEGE, MARIEKE y
FAIRISE, JEAN-FRANCOIS**

74 Agente/Representante:
ELZABURU, S.L.P

ES 2 754 601 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

Procedimiento de fabricación de una composición proteica láctea desmineralizada, adaptada en particular al sector biológico, y composición proteica láctea desmineralizada

La invención se refiere principalmente a un procedimiento de desmineralización de una composición proteica láctea.

5 La invención trata igualmente sobre una composición proteica láctea desmineralizada que puede ser obtenida mediante este procedimiento. El documento DP-A-1.031.288 divulga una composición láctea mineral. El documento WO-A-2013/068653 divulga un procedimiento para la preparación de un producto lácteo. El documento FR-A-3.001.362 divulga un procedimiento de fraccionamiento de las partes solubles de guisantes. El documento El documento FR-A-2.809.595 divulga un derivado lácteo que tiene una composición de minerales y de aminoácidos selectivamente modificada.

Entre las composiciones proteicas lácteas conocidas, el lactosuero es la parte líquida procedente de la coagulación de la leche durante la fabricación de queso.

15 El lactosuero está formado principalmente por agua, lactosa, proteínas y minerales. Una de las vías de mejora del lactosuero se refiere a la fabricación de polvo de lactosuero que sirve como ingrediente para la realización de leches infantiles. Para hacer esto, es necesario en particular proceder a una reducción del contenido de minerales para obtener un producto con elevado contenido de proteínas y lactosa.

De forma conocida, el procedimiento de desmineralización de lactosuero comprende en particular una etapa de desnatado que permite disminuir el contenido de materias grasas del lactosuero, seguida de una etapa de electrodiálisis mediante la cual se obtiene un lactosuero dializado que contiene de 50 a 60% en peso menos de 20 minerales. El lactosuero desnatado y dializado se hace pasar seguidamente una columna catiónica de la cual sale fuertemente empobrecido en cationes y seguidamente por una columna aniónica a la salida de la cual el lactosuero se dice que está desmineralizado.

25 Pero la regeneración de las resinas de intercambio iónico implica la utilización de ácidos y bases fuertes como sosa, potasa o ácido clorhídrico, que pueden ser perjudiciales para la calidad del producto desmineralizado obtenido. Como consecuencia de su funcionamiento, las resinas de intercambio iónico inducen la adición de especies minerales exógenas y por este motivo son consideradas como elementos auxiliares tecnológicos en el contexto de la norma europea CE 889/2008. Debido a esto, está prohibida su utilización en el campo biológico.

30 En este contexto, la presente invención se dirige a un procedimiento de desmineralización de una composición proteica láctea desprovisto de cualquier operación que suponga la utilización de resinas de intercambio iónico y que permite obtener un nivel de desmineralización al menos igual a 90%, respetando siempre un perfil de minerales compatible con la elaboración de un producto como la leche infantil.

Para estos fines, el procedimiento de fabricación de la composición proteica láctea desmineralizada se caracteriza esencialmente por que comprende al menos las etapas de:

- preparación o suministro de una composición proteica láctea,
- 35 - ultrafiltración de dicha composición proteica láctea,
- nanofiltración del material retenido de ultrafiltración obtenido en la etapa anterior, y
- electrodiálisis del material retenido de nanofiltración obtenido en la etapa anterior,

estando dicho procedimiento desprovisto de cualquier etapa de paso sobre resinas de intercambio iónico.

40 Por tanto, el procedimiento de la invención es exclusivamente un procedimiento de membrana que lleva a cabo, en un orden específico, etapas de ultrafiltración, de nanofiltración y de electrodiálisis. El procedimiento de la invención permite obtener una composición proteica láctea desmineralizada hasta un 90%, en la que el contenido de minerales es controlado, permitiendo en particular la conservación de la relación entre calcio y fósforo lo más cercana posible a la de la leche, lo que no es el caso en un procedimiento de desmineralización clásico con un paso sobre resinas de intercambio iónico que tienen una relación entre calcio y fósforo bastante más baja. La composición proteica láctea 45 tiene además un grado de desnaturalización proteica bastante inferior al de las composiciones obtenidas mediante el procedimiento de desmineralización de la técnica anterior, que utilizan resinas de intercambio iónico.

ES 2 754 601 T3

El procedimiento de la invención puede comprender también las características opcionales siguientes, consideradas de forma aislada o según cualesquiera combinaciones técnicas posibles:

- el material retenido de ultrafiltración tiene un contenido de materia nitrogenada total al menos igual a 14% del extracto seco;
- 5
- según una primera variante, la composición proteica láctea es suero de quesería;
 - el suero de quesería procede de la agricultura ecológica;
 - según una segunda variante, la composición proteica láctea procede de un procedimiento que comprende al menos las etapas de:
 - suministrar leche cruda;
- 10
- desnatado, pasteurización y purificación bacteriana de dicha leche cruda,
 - microfiltración sobre membrana de dicha leche obtenida en la etapa anterior, y
 - recuperación del permeado de microfiltración que forma la composición proteica láctea,
 - la membrana de microfiltración tiene una porosidad comprendida entre 0,1 y 0,2 micrómetros,
 - la leche cruda procede de la agricultura ecológica.
- 15
- La invención trata también de una composición proteica láctea desmineralizada que puede ser obtenida mediante el procedimiento anteriormente descrito.
- La composición proteica láctea de la invención puede comprender también las características opcionales siguientes, consideradas de forma aislada o según todas las combinaciones técnicas posibles:
- 20
- en la composición proteica láctea que puede ser obtenida mediante el procedimiento anteriormente descrito, la relación entre los contenidos de calcio y de fósforo es superior a 0,65,
 - en este caso, la composición proteica láctea desmineralizada puede comprender:
 - calcio en un contenido inferior a 11 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,
 - sodio con un contenido inferior a 5 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,
 - magnesio con un contenido inferior a 3 miligramos de por gramo de materia nitrogenada total,
- 25
- potasio con un contenido inferior a 5,5 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,
 - cloruros con un contenido inferior a 1,7 migramos por gramo de material nitrogenada total, y
 - fósforo con un contenido inferior a 8,5 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,
 - de forma más precisa, la composición proteica láctea desmineralizada puede comprender:
 - calcio con un contenido inferior a 7,7 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,
- 30
- sodio con un contenido inferior a 3,65 miligramos por gramos de materia nitrogenada total,
 - magnesio con un contenido inferior a 2,15 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,
 - potasio con un contenido inferior a 3,70 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,
 - cloruros con un contenido inferior a 1,5 miligramos por gramo de materia nitrogenada total, y
 - fósforo con un contenido inferior a 7,7 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,

- la composición proteica láctea desmineralizada que puede ser obtenida mediante el procedimiento anteriormente descrito tiene un porcentaje de proteínas nativas con respecto a las proteínas totales que es superior a 85,

- la composición proteica láctea desmineralizada tiene un porcentaje de proteínas nativas con respecto a las proteínas totales que es superior a 90,

5 - el grado de agregación de la proteína A-lactoalbúmina en dicha composición es inferior a 5%,

- el diámetro medio de tipo D4,3 de las partículas de la composición proteica láctea desmineralizada que puede ser obtenido mediante el procedimiento anteriormente descrito es inferior a 0,3 micrómetros,

10 - el diámetro medio de tipo D4,3 de las partículas de la composición proteica láctea desmineralizada es inferior a 0,2 micrómetros y dentro de esto, al menos un 40% de las partículas, en volumen, tienen un tamaño inferior a 0,15 micrómetros.

Finalmente, la invención trata sobre la utilización de una composición proteica desmineralizada como se describe anteriormente, en cuya utilización esta composición es utilizada como ingrediente para la elaboración de una leche infantil.

Ventajosamente, la leche infantil procede de la agricultura ecológica.

15 Otras características y ventajas de la invención se apreciarán claramente con la descripción que se proporciona a continuación, con carácter indicativo y en absoluto limitativa, y en referencia a las figuras siguientes

- la figura 1 es un esquema sinóptico del procedimiento de fabricación de una composición proteica láctea desmineralizada según la invención y según dos vías diferentes de suministro o de fabricación de la composición proteica láctea destinada a ser sometida a etapas de desmineralización,

20 - la figura 2 ilustra los contenidos de minerales, respectivamente, obtenidos a partir de la composición desmineralizada de la invención y de la composición de la técnica anterior, así como los máximos reglamentarios autorizados para estos minerales en una leche infantil,

- la figura 3 representa el espectro de fluorescencia de una solución pura de alfa-lactoalbúmina sometida a fluctuaciones del pH del procedimiento de la invención,

25 - la figura 4 representa un espectro de fluorescencia de una solución pura de alfa-lactoalbúmina sometida a fluctuaciones del pH del procedimiento de la técnica anterior,

- la figura 5 ilustra el reparto de tamaños de partículas en la composición de la invención y en la composición de la técnica anterior.

30 El procedimiento de la invención consiste esencialmente en la sucesión, en orden de las etapas de ultrafiltración, nanofiltración y electrodiálisis de una composición proteica láctea. Esta composición proteica láctea podrá ser, por ejemplo, suero que quesaría o leche desnatada, pasteurizada, bactofugada y microfiltrada.

En la descripción que sigue, el empleo de la expresión "técnica anterior" se refiere al procedimiento y a la composición desmineralizada asociada obtenida cuando se utilizan resinas de intercambio iónico.

35 En referencia a la figura 1, se describe en primer lugar la elaboración de la composición proteica láctea 1 a partir de la leche cruda 2. La leche cruda 2 procede preferentemente del sector biológico.

40 La leche cruda 2 es sometida en primer lugar a un desnatado 3 en condiciones estándar con una temperatura de desnatado de aproximadamente 50°C, seguidamente la leche desnatada 4 es súbitamente pasteurizada 5 a una temperatura de aproximadamente 65°C-68°C durante menos de un minuto. Esta pasteurización está voluntariamente limitada a esta etapa para evitar la agregación de las proteínas séricas sobre las micelas de caseína y obtener el mejor rendimiento proteico en la etapa posterior de microfiltración.

La leche desnatada y pasteurizada 6 se somete seguidamente a una batofugación mecánica 7 para asegurar su purificación bacteriana y perfeccionar su desnatado. se puede prever alternativamente otra operación de purificación bacteriana como, por ejemplo, una microfiltración.

45 La leche desnatada, pasteurizada y bactofugada se somete seguidamente a una etapa de retención, no representada, a una temperatura de aproximadamente 50-52°C con el fin de su preparación para la etapa de

microfiltración 10.

5 La composición de leche desnatada, pasteurizada y bacto­fugada se proporciona en la Tabla 1 siguiente. La materia nitrogenada total abarca principalmente las proteínas, péptidos y nitrógeno no proteínico, por ejemplo, urea. En los resultados que se presentan a continuación, la materia nitrogenada total es cuantificada por dosificación de nitrógeno total por destilación según el método Kjeldahl.

Tabla 1: Composición de leche desnatada, pasteurizada y bacto­fugada

| | |
|---|---------|
| pH a 20°C | 6,6-6,7 |
| Extracto seco (g/l) | 90-96 |
| Materia nitrogenada total (en % de extracto seco) | 36-39 |
| Fracción nitrogenada no proteica (g/l) | 1,8-2,2 |
| Materia grasa residual (g/l) | 0,4-1 |
| Cenizas (g/l) | <9 |
| Lactosa (g/l) | 46-50 |

10 La microfiltración 10 es una microfiltración tangencial cuya membrana cerámica tiene una porosidad de 0,1 micrómetro. Su temperatura de funcionamiento está comprendida entre 49 y 53°C, preferentemente de 52°C. El permeado 11 se somete a un enfriamiento 12 y se recupera a una temperatura comprendida entre 10 y 15°C, preferentemente de 12°C. El permeado 11 enfriado forma así una composición proteica láctea 1a procedente de la leche y se destina a ser sometido a las etapas sucesivas posteriores de concentración y desmineralización que se describirán con posterioridad.

15 La composición proteica láctea 1a obtenida tiene un contenido de extracto seco de aproximadamente 57 a 62 g/kg, un contenido de materia nitrogenada total de aproximadamente 9 a 12% del extracto seco y un contenido de materia grasa inferior a 0,5% del extracto seco.

La composición proteica láctea 1 puede proceder alternativamente de lactosuero de quesería 13 de origen biológico que es sometido a un enfriamiento 14 para ser recuperado a una temperatura comprendida entre 10 y 15°C, preferentemente 12°C, y formar una composición proteica láctea 1b.

20 La composición proteica láctea 1 que va a ser desmineralizada puede ser por tanto una composición proteica láctea 1a procedente de leche de origen ecológico, o bien una composición proteica láctea 1b procedente de lactosuero de quesería de origen ecológico. La composición proteica láctea naturalmente puede no ser de origen ecológico.

La composición proteica láctea 1 es sometida seguidamente a una sucesión de operaciones de membrana. El ejemplo siguiente se refiere a la desmineralización de la composición proteica láctea 1a procedente de leche 2 de origen ecológico.

25 En primer lugar, la composición proteica láctea 1a se somete a una operación de ultrafiltración 15 en la que se recupera la materia retenida 16. Esta operación de ultrafiltración se asemeja a una pre-concentración y una primera desmineralización de la composición proteica láctea 1. Esta operación de ultrafiltración 15 se realiza de forma que la materia retenida 16 presente un contenido de extracto seco superior a 60 g/kg, un contenido de materia grasa inferior a 0,5% del extracto seco pero, sobre todo, un contenido de materia nitrogenada total al menos igual a un
30 15% del extracto seco. El contenido de nitratos y nitritos es nulo o casi nulo. Esta operación permite además aumentar el contenido de materia nitrogenada total y eliminar parcialmente los cationes solubles, lo que da lugar a una disminución de la relación entre los cationes divalentes y el contenido de materia nitrogenada total.

35 La materia retenida de ultrafiltración 16 es sometida seguidamente a una operación de nanofiltración 17 que permite concentrar la materia retenida de ultrafiltración 16 a más de 19% de extracto seco y, preferentemente, a más de 21% de extracto seco. Esta operación permite optimizar el funcionamiento de la etapa posterior de electrodiálisis asegurando además una pre-desmineralización con un valor de 30 a 35% en peso de minerales. La materia retenida de nanofiltración 18 se recupera y presenta, aparte de un contenido de extracto seco superior a 21%, un contenido de material nitrogenada total superior a 13,6% del extracto seco, y siempre un contenido de materia grasa inferior a 0,5% del extracto seco.

5 La materia retenida de nanofiltración 18 se somete seguidamente a una operación de electrodiálisis 19 realizada en condiciones adaptadas para la obtención de una composición proteica láctea desmineralizada 20. Durante la electrodiálisis, la materia retenida de nanofiltración 18 circula en una cámara de materia diluida 21. Bajo el efecto de un campo eléctrico, la materia retenida de nanofiltración 18 se desmineraliza y los iones pasan a una cámara de concentrado 22 y atraviesan de manera selectiva membranas aniónicas o catiónicas 23. La circulación de materia retenida de nanofiltración 18 se efectúa hasta que se alcance el nivel de desmineralización para una conductividad comprendida ente 0,3 y 0,5 mS/cm, preferentemente entre 0,3 y 0,4 mS/cm, para obtener rendimientos de desmineralización incluso mejores.

10 El lactosuero desmineralizado 20 tiene un contenido de extracto seco de aproximadamente 192 a 194 gramos por kilogramos, en cualquier caso superior a 190 gramos por kilogramo, un contenido de materia grasa inferior a 0,5% de estrato seco, un contenido de materia nitrogenada de aproximadamente 15 a 16% del extracto seco, en cualquier caso al menos igual a 14% de extracto seco, un contenido de lactosa inferior a 83% del extracto seco y un contenido de cenizas inferior a 1% del extracto seco, preferentemente inferior a 0,7% del extracto seco. El contenido de nitratos y nitritos es nulo o casi nulo.

15 La Tabla 2 siguiente pone de manifiesto el sinergismo de las operaciones de nanofiltración y electrodiálisis. A partir de una composición proteica láctea 1 (columna 1) obtenida a partir de leche cruda de origen ecológico que ha sido sometida al tratamiento anteriormente descrito, y conociendo los porcentajes respectivos de desmineralización para la nanofiltración (columna 2) y para la electrodiálisis (columna 4), se calculan los contenidos teóricos de un lactosuero desmineralizado (columna 5). Estos contenidos teóricos corresponden a la suma de los porcentajes de desmineralización de la nanofiltración y la electrodiálisis. En la columna 6 se recogen los contenidos de minerales efectivamente obtenidos después del paso por la nanofiltración y la electrodiálisis en el contexto del procedimiento de la invención.

Tabla 2: Exposición del sinergismo de las etapas de nanofiltración y electrodiálisis

| | Composición proteica láctea (1a) | % de desmineralización por nanofiltración | % de desmineralización por electrodiálisis | Lactosuero desmineralizado teórico | Lactosuero desmineralizado según el procedimiento de la invención |
|-----------------------------------|----------------------------------|---|--|------------------------------------|---|
| Calcio (mg/kg de extracto seco) | 5010 | 2,5 | 37,3 | 3066 | 651 |
| Magnesio (mg/kg de extracto seco) | 1095 | 3,2 | 24,7 | 798 | 208 |
| Potasio (mg/kg de extracto seco) | 24585 | 35,6 | 71,0 | 4593 | 313 |
| Sodio (mg/kg de extracto seco) | 5920 | 36,8 | 54,5 | 1703 | 339 |
| Fósforo (mg/kg de extracto seco) | 5615 | -7,5 | 45,0 | 3321 | 990 |

25 La Tabla 3 siguiente expone las composiciones minerales de lactosueros desmineralizados hasta un valor de 90% de la técnica anterior y de la invención, así como su relación respectiva de contenidos de calcio y fósforo.

Tabla 3: Composiciones minerales de composiciones proteicas lácteas desmineralizadas de la técnica anterior y de la invención; comparación de las relaciones de los contenidos de calcio y fósforo

| | Técnica anterior 1 (mg/100 mg) | Técnica anterior 2 (mg/100 mg) | Inventción 1 (mg/kg MAT) | Inventción 2 (mg/g MAT) | Inventción 3 (mg/g MAT) | Inventción 4 (mg/g MAT) |
|---------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Sodio | 7 | 80 | 3,63 | 2,48 | 2,35 | 5 |
| Potasio | 3,5 | 185 | 3,30 | 2,59 | 1,80 | 5,5 |
| Calcio | 15 | 30 | 7,66 | 5,78 | 4,71 | 11 |

| | | | | | | |
|---------------|-----------|------------|------------|------------|------------|------|
| Magnesio | 8 | 16,5 | 2,14 | 1,64 | 1,38 | 3 |
| Fósforo | 85 | 100 | 7,62 | 7,15 | 6,86 | 8,5 |
| Cloruros | 30,5 | 15 | 1,25 | 1,45 | 1,14 | 1,7 |
| Cenizas | 04% de ES | 0,9% de ES | 0,6% de ES | 0,4% de ES | 0,4% de ES | - |
| Relación Ca/P | 0,49 | 0,3 | 1,01 | 0,81 | 0,69 | 1,29 |

Técnica anterior 1: Lactosuero desmineralizado ecológico en polvo obtenido mediante un primer procedimiento que comprende pasos sobre resinas de intercambio iónico

Técnica anterior 2: Lactosuero desmineralizado en polvo obtenido mediante un segundo procedimiento que comprende pasos sobre resinas de intercambio iónico

Invencción 1: Lactosuero desmineralizado líquido obtenido a partir de una composición proteica láctea procedente de leche de origen ecológico; conductividad al final de la electrodiálisis: 0,5 mS/cm; sin ajuste del pH; resultados expresados en miligramos por gramo de materia nitrogenada total

Invencción 2: Lactosuero desmineralizado líquido obtenido a partir de una composición proteica láctea procedente de leche de origen ecológico; conductividad al fin de la electrodiálisis: 0,4 mS/cm; sin ajuste del pH; resultados expresados en miligramos por gramo de materia nitrogenada total

Invencción 3: Lactosuero desmineralizado líquido obtenido a partir de una composición proteica láctea procedente de leche de origen ecológico; conductividad al fin de la electrodiálisis: 0,35 mS/cm; sin ajuste del pH; resultados expresados en miligramos por gramo de materia nitrogenada total

Invencción 4: Extrapolación de los resultados de las invenciones 1, 2 y 3 para una conductividad al final de la electrodiálisis de 0,7 mS/cm; resultados expresados en miligramos por gramo de material nitrogenada total

Se comprueba en las Tablas 2 y 3 que el procedimiento de la invención permite obtener una composición proteica láctea desmineralizada de hasta 90% mediante una sucesión de procedimientos de membrana sin utilizar resinas de intercambio catiónico ni resinas de intercambio aniónico.

5 Se comprueba además con respecto a la Tabla 2 anterior que los grados de desmineralización reales obtenidos mediante el procedimiento de la invención son al menos cuatro veces superiores a los teóricamente calculados.

10 Se comprueba además que el lactosuero desmineralizado de la invención tiene ventajosamente un contenido de fósforo bajo y un contenido de calcio suficientemente controlado para que la relación de los contenidos de calcio y fósforo esté comprendida entre 0,65 y 1,29. Esta relación se aproxima a la de la leche, que es de aproximadamente 1,25, contrariamente a los lactosueros desmineralizados de los dos procedimientos de la técnica anterior que presentan relaciones respectivas de calcio sobre fósforo de 0,49 y 0,3.

La obtención de una relación más elevada de los contenidos de calcio y fósforo permite ventajosamente limitar la cantidad de minerales que van a ser añadidos durante la elaboración posterior de la leche infantil.

15 La figura 2 ilustra el contenido de ciertos minerales (sodio, potasio, calcio, fósforo, magnesio y cloruros) expresado en peso por 100 kcal en una mezcla constituida por una composición proteica láctea desmineralizada y leche, antes de cualquier complemento de minerales, con el fin de elaborar una leche infantil para la primera edad. Los resultados con la referencia 30 se refieren al caso en que la composición proteica láctea desmineralizada es la de la invención, y los resultados con la referencia 31 se refieren al caso en que la composición proteica láctea desmineralizada es la de la técnica anterior. Están representados también en esta figura los valores máximos reglamentarios autorizados para estos minerales (referencia 32) en una leche infantil de la primera edad.

20 Se comprueba que la composición proteica láctea desmineralizada de la invención, cuando se mezcla con leche con el fin de obtener una leche infantil, por ejemplo, una leche para la primera edad, tiene un perfil de minerales bastante inferior a los valores máximos reglamentarios autorizados. Estos resultados ilustran también la elevada latencia posible para añadir algunos minerales según el tipo de leche infantil pretendida, sin sobrepasar los valores máximos autorizados.

25

El procedimiento de la invención descrito en este ejemplo de realización se aplica a la desmineralización de cualquier composición proteica láctea.

5 El procedimiento de la invención permite realizar una nueva línea de producción de una composición proteica láctea desmineralizada de hasta 90% con un perfil de minerales específico y compatible con la formulación de leche infantil, todo ello únicamente mediante procedimientos de membranas de filtración y de desmineralización. La composición proteica láctea desmineralizada obtenida respeta, por tanto, los requisitos iónicos específicos, particularmente para servir como ingrediente para la fabricación de leche infantil. El procedimiento de la invención no necesita una adición auxiliar tecnológica que modifique la composición intrínseca del producto. La ausencia de resinas de intercambio iónico permite que la composición proteica láctea desmineralizada obtenida cumpla con las condiciones descritas en el reglamento europeo CE 889/2008 que rigen la fabricación de productos transformados de origen ecológico, con la única condición de que la leche cruda o el suero de quesería utilizados para fabricar la composición proteica láctea procedan de la agricultura ecológica.

15 El solicitante ha comprobado sorprendentemente que el procedimiento de la invención daba lugar a consecuencias ventajosas en la composición proteica láctea desmineralizada obtenida más allá del objetivo primero de realizar una composición láctea desmineralizada sin utilizar resinas de intercambio iónico.

20 En efecto, se comprobó en primer lugar que la proporción de proteínas nativas en la composición proteica láctea desmineralizada de la invención es bastante superior a la proporción de proteínas nativas presentes en la composición desmineralizada de la técnica anterior. Dicho de otro modo, la proporción de desnaturalización de proteínas en la composición proteica láctea desmineralizada de la invención es bastante inferior al grado de desnaturalización de las proteínas en la composición desmineralizada de la técnica anterior.

Esta baja proporción de la desnaturalización está directamente asociada al procedimiento de la invención que no implica una variación importante del pH ni un tratamiento térmico sustancial, como se demuestra a continuación.

25 Las figuras 3 y 4 presentan, respectivamente, para una composición proteica desmineralizada de la invención y para la composición desmineralizada de la técnica anterior, los espectros de fluorescencia intrínseca para una solución pura de alfa-lactoalbúmina a la que son aplicadas las fluctuaciones de pH del procedimiento de la invención y del procedimiento de la técnica anterior. Estas figuras reflejan la fluorescencia emitida durante la excitación de aminoácidos "triptófano" presentes en la alfa-lactoalbúmina.

En el procedimiento de la invención en el que no se realiza ajuste alguno del pH, el pH fluctúa de aproximadamente 6,7 a 5,3.

30 En referencia a la figura 3, la curva de referencia 33 representa el espectro de fluorescencia de la solución de alfa-lactoalbúmina a pH 6,7. Esta curva presenta un valor lambda máximo de 329 nanómetros, característico del estado nativo de esta proteína. La curva de referencia 34 representa el espectro de fluorescencia de la solución de alfa-lactoalbúmina a un pH de 5,3. Se comprueba que el aspecto del espectro cambia ensanchándose y presentando una intensidad máxima de fluorescencia disminuida. Esta modificación del espectro ilustra un cambio de estructura de las construcciones proteicas característica de un fenómeno de agregación proteica.

35 La curva de referencia 35 representa el espectro de fluorescencia de la solución de alfa-lactoalbúmina cuando el pH de 5,3 es elevado a 6,7, con el fin de verificar el carácter reversible de las modificaciones de las construcciones proteicas. Se comprueba por tanto que el aspecto de la curva se hace idéntico y superponible a la curva inicial 33. En particular, la intensidad máxima de la fluorescencia es nuevamente de 329 nanómetros.

40 Estos resultados ilustran que, si la acidificación a un pH mínimo de 5,3 conduce a un fenómeno de agregación proteica, esta agregación es completamente reversible. Por tanto, la estructura de las proteínas en la composición desmineralizada de la invención que es sometida a una acidificación débil a un pH de 5,3, está totalmente protegida.

45 En el procedimiento de la técnica anterior, en el que se utilizan resinas de intercambio iónico, el pH fluctúa desde aproximadamente 6,5 hasta un pH mínimo comprendido entre 2, y 2,5 antes de ser ajustado a 6,5. El procedimiento de la técnica anterior implica también llevar a cabo un tratamiento térmico superior a 90°C, como se detallará más adelante.

50 En referencia a la figura 4, la curva 36, como la curva 33 de la figura 3, representa el espectro de fluorescencia de la solución de alfa-lactoalbúmina a pH 6,7 y presenta una longitud de onda de emisión máxima de 329 nanómetros. La curva 37 ilustra el espectro obtenido cuando la solución de alfa-lactoalbúmina es llevada a un pH de 2,4, y la curva 38 ilustra el espectro obtenido cuando la solución de alfa-lactoalbúmina a pH 2,4 es sometida a un tratamiento térmico de 95°C.

Se comprueba que, si las curvas 37 y 38 se superponen, presentan una diferencia con respecto a la curva 36 que lleva la longitud de onda de emisión máxima a 334 nanómetro. Esta diferencia hacia longitudes de onda de emisión máximas más elevadas ilustra el despliegue parcial de la estructura unitaria proteica.

5 La curva 39 representa el espectro de fluorescencia de la solución de alfa-lactoalbúmina cuando el pH de 2,4 con el tratamiento térmico (curva 38) e elevado a 6,5.

Se comprueba que la curva 39 no es superponible con la curva inicial 36, siendo la intensidad de la fluorescencia inferior y siendo disminuida la longitud de onda máxima a aproximadamente 324 nanómetros.

10 Resulta que las modificaciones de la estructura proteica inducidas por la acidificación a un pH de 2,4 con o sin tratamiento térmico no son reversibles para la composición desmineralizada de la técnica anterior, lo que se plasma en una pérdida del estado nativo de la proteína.

Además de las variaciones de pH bastante menos considerables en el procedimiento de la invención respecto al procedimiento de la técnica anterior, las variaciones de temperaturas a las que son sometidas las proteínas en el procedimiento de la invención son también menos considerables que en el procedimiento de la técnica anterior, lo que garantiza la conservación de la estructura nativa de las proteínas.

15 En el procedimiento de la invención, se aplica una temperatura de aproximadamente 65°C-68°C durante la pasteurización de la leche desnatada, y seguidamente la temperatura se lleva a 10°C-12°C durante la desmineralización. De forma opcional, puede ser aplicada una etapa de pasteurización a 72°C durante algunos segundos a la composición desmineralizada. En el procedimiento de la técnica anterior, la utilización como materia prima de un lactosuero de quesería necesita una primera operación de pasteurización realizada a una temperatura superior a 72°C y seguidamente, después de una desmineralización, se efectúa una segunda etapa de pasteurización a una temperatura superior a 90°C.

20 Si se consideran las temperaturas de termo-desnaturalización irreversibles de tres especies proteicas principales presentes en la fase soluble de la leche, a saber, suero de albúmina bovino, alfa-lactoalbúmina y beta-lactoglobulina, respectivamente de 63°C, 69°C y 72°C, se comprueba que las temperaturas del procedimiento de la invención son inferiores a las temperaturas de desnaturalización de alfa-lactoalbúmina y beta-lactoalbúmina. De esto resulta que el estado de estas proteínas no es modificado mediante el procedimiento de la invención. Inversamente, las temperaturas del procedimiento de la técnica anterior conducen a una modificación de las estructuras de estas tres especies proteicas.

30 Se hace referencia a la Tabla 4 siguiente, que expone resultados analíticos de dosificaciones proteicas que permiten caracterizar los contenidos de proteínas en su estado nativo y su grado de agregación.

La composición proteica de las composiciones proteicas lácteas desmineralizadas se determinó por medio de un método químico (dosificación de nitrógeno mediante la técnica de Kjeldahl) y por medio de cromatografía líquida de fase inversa realizada a través de análisis en diferentes condiciones operatorias.

35 La composición de proteínas solubles se determinó mediante cromatografía en fase líquida a continuación de la eliminación de las proteínas desnaturalizadas y caseínas residuales mediante precipitación a un pH de 4,6. Este análisis permite determinar los contenidos de proteínas presentes en su estado nativo.

El análisis de las proteínas totales se determinó también después de la disociación de los agregados. Esta técnica permite en particular medir la desnaturalización proteica global de la muestra (grado de agregación), pero también la de las proteínas individuales.

40 Los resultados de la tabla 4 se exponen también para las proteínas más representativas, a saber, la beta-lactoglobulina y la caseína kappa, las 2 proteínas sensibles al calor que se agregan conjuntamente bajo el efecto de los tratamientos térmicos, así como para la alfa-lactoalbúmina, que es la proteína de interés nutritivo en la nutrición infantil.

45 Tabla 4: Resultados analíticos de dosificaciones proteicas en la composición de la invención y en la composición de la técnica anterior

| | Composición desmineralizada de la invención | Composición desmineralizada de la técnica anterior |
|--|---|--|
| Fracción nitrogenada soluble a pH = 4,6 (con respecto a la fracción nitrogenada total) | 96% | 69% |
| % de proteínas nativas (con respecto al % de proteínas totales) | 93-97% | < 85% |
| Grado de agregación de beta-lactoglobulina (con respecto a la beta-lactoglobulina total) | < 8% | 15% |
| Grado de agregación de caseína kappa (con respecto a la caseína kappa total) | ≤ 20% | 55% |
| Grado de agregación de alfa-lactoalbúmina (con respecto a alfa-lactoalbúmina total) | ≤ 5% | No determinado |

5 Está confirmado por los resultados expuestos en la Tabla 4 que el porcentaje de proteínas nativas en la composición desmineralizada de la invención es netamente superior al de la composición de la técnica anterior. Se comprueba además de el grado de agregación de beta-lactoglobulina y de caseína kappa son bastante bajos en la composición de la invención. finalmente, el grado de agregación de alfa-lactoalbúmina es también bajo.

10 Se hace referencia a la figura 5 que ilustra el tamaño de las partículas presentes en la composición de la invención (curva 41) y en la composición de la técnica anterior (curva 42). El tamaño de las partículas se mide mediante la técnica de granulometría. En la composición de la invención, se observa una distribución de tamaño de partículas bastante homogénea, con una población muy mayoritaria de partículas de tamaño pequeño y un pico muy reducido correspondiente a partículas (o agregados particulares) de tamaño un poco superior. El diámetro medio de tipo D_{4,3} es de 0,19 micrómetros y un 50% de las partículas (en volumen) tienen un tamaño inferior a 0,14 micrómetros.

15 Por el contrario, la distribución de tamaño es bimodal para la composición de la técnica anterior, con una población de tamaño pequeño y una población correspondientes a agregados grandes. Estos datos se encuentran en los tamaños característicos, con un diámetro medio de tipo D_{4,3} de 5,17 micrómetros y, respectivamente, 50% y 90% de las partículas (en volumen) que tienen un tamaño superior a 0,75 micrómetros y 11,8 micrómetros.

20 Estos resultados se enmarcan en la continuidad de la conservación de la estructura proteica que resulta del procedimiento de la invención, ya que se ha comprobado que la mayor parte de las partículas de la composición de la invención no están agregadas mientras que, por el contrario, en la composición de la técnica anterior, además de ser sometidas a una desnaturalización, las proteínas las proteínas están en gran parte entre ellas en forma de agregados.

Por tanto, se ha demostrado en lo que antecede que las proteínas séricas de la composición desmineralizada de la invención estaban mayoritariamente conservadas en su estado nativo, no agregadas. Por el contrario, las proteínas séricas de la composición de la técnica anterior están en un estado parcialmente desnaturalizado y agregado, con una mezcla de proteínas individuales y de agregados de mayor tamaño.

25 Resulta una diferencia de comportamiento de las proteínas séricas de la composición de la invención y de la composición de la técnica anterior y, más particularmente, una diferencia de interacción con las micelas de caseína aprobadas por el ingrediente de leche de la fórmula infantil.

30 Esta diferencia de estado estructural de las proteínas séricas va a tener un impacto sobre su capacidad para interactuar con la estructura micelar durante la etapa de tratamiento térmico previa a la deshidratación de la leche infantil.

En efecto, las proteínas séricas nativas tienen una capacidad más considerable de fijación a la superficie de la construcción micelar que las proteínas séricas desnaturalizadas agregadas. La homogeneidad y el grosor del manto

sérico en la superficie micelar será por tanto más considerable en el caso de la composición de la invención, lo que podrían tener un impacto sobre la accesibilidad de las micelas de caseínas, retrasar su degradación por enzimas digestivas en el tracto gastrointestinal y tienen un impacto sobre el nivel de alergenicidad de las caseínas, reduciendo de hecho la alergenicidad de la composición de la invención.

5 La Tabla 5 siguiente expone los contenidos de aminoácidos esenciales de interés nutritivo principal (histidina, triptófano, tirosina y leucina), a aminoácidos esenciales de interés nutritivo principal (histidina, triptófano, tirosina y leucina), de aminoácidos esenciales y semiesenciales y de aminoácidos ramificados en la composición desmineralizada de la invención y en la composición desmineralizada de la técnica anterior. El contenido de aminoácidos esenciales es un parámetro particularmente importante en la leche infantil, ya que el lactante no tiene capacidad de sintetizarlos; por tanto, estos deben ser aportados a través de la alimentación, más particularmente antes de la fase de diversificación alimentaria.

Tabla 5: Contenidos de aminoácidos esenciales de interés nutritivo principal, de aminoácidos esenciales y semiesenciales y de aminoácidos ramificados en la composición de la invención y en la composición de la técnica anterior

| | Composición de la invención | Composición de la técnica anterior | Diferencia |
|---|-----------------------------|------------------------------------|------------|
| Histidina | 2,30 ± 0,05 | 1,89 ± 0,05 | +22% |
| Triptófano | 2,20 ± 0,14 | 1,85 ± 0,25 | +19% |
| Tirosina | 3,23 ± 0,15 | 2,68 ± 0,14 | +21% |
| Leucina | 12,10 ± 0,23 | 10,84 ± 0,12 | +12% |
| Aminoácidos esenciales y semiesenciales | 56,5 ± 0,5 | 54,4 ± 0,4 | +4% |
| Aminoácidos ramificados | 22,4 | 21,8 | +3% |

15 Se comprueba que la composición de la invención tiene un considerable contenido de aminoácidos esenciales, particularmente en lo que se refiere a los de interés nutritivo principal.

Este resultado es particularmente importante para el triptófano. En efecto, la reglamentación prohíbe complementar triptófano en todas sus formas en las leches infantiles biológicas. Pues bien, el triptófano está presente en una cantidad considerable en la leche materna y participa activamente en el buen desarrollo de la nutrición. Por tanto, la composición de la invención se aproxima de forma natural a la composición de la leche materna, también desde el punto de vista del contenido de triptófano.

Además, el triptófano se describe como precursor de la serotonina y la melatonina. El triptófano intervendría así de forma positiva sobre la regulación del sueño y del estrés, así como sobre la concentración.

25 finalmente, se realizaron análisis granulométricos sobre la materia grasa que forma la materia sobrenadante, después de una centrifugación, de una leche infantil reconstituida, siendo elaborada ésta a partir de la composición de la invención o de la composición de la técnica anterior.

30 El tamaño de las partículas se mide mediante la técnica de granulometría, que permite medir el tamaño de gotitas lípidas individuales cuando la medición se hace en presencia de SDS, y el tamaño de los agregados y las gotitas lípidas en el caso de que haya floculación (medición en agua, únicamente). En este último caso, los resultados se expresan en D4,3 (en micrómetros) que aumentan con el grado de agregación de las gotitas.

35 Se determinó que el diámetro medio de tipo D4,3 para la composición de la invención es de 0,75 ± 0,03 micrómetros, mientras que el diámetro medio de tipo D4,3 para la composición de la técnica anterior es de 4,59 ± 0,05 micrómetros. Se comprueba así que el fenómeno de floculación es bastante menos considerable en una leche infantil reconstituida, elaborada a partir de la composición de la invención, encontrándose la mayoría de los glóbulos grasos en un estado individualizado. Inversamente, en una leche reconstituida elaborada a partir de la composición de la técnica anterior, se observa una proporción no despreciable de agregados de glóbulos grasos.

Se determinó también que el tamaño medio de los glóbulos grasos individuales para la composición de la invención es de 0,51 ± 0,02 micrómetros, mientras que el tamaño medio de los glóbulos grasos individuales para la

composición de la técnica anterior es de $0,59 \pm 0,02$ micrómetros.

5 Se obtiene como resultado una estabilidad más considerable en una leche infantil reconstituida a partir de la composición de la invención. Esta organización más favorable de la materia grasa está asociada sin duda a la menor desnaturalización proteica durante el procedimiento de la invención y a la interacción privilegiada de las proteínas de la composición con las construcciones micelares, como se expuso con anterioridad.

Por tanto, se ha demostrado en lo que antecede que, además de los efectos ventajosos, sobre la calidad de las proteínas, el procedimiento de la invención y la composición desmineralizada resultante participan también de una mejor funcionalidad del producto acabado.

10 Las cualidades anteriormente expuestas de la composición de la invención están asociadas principalmente al hecho de que el procedimiento de la invención no implica acidificación ni tratamiento térmico excesivos que alteren la naturaleza de las proteínas y los demás constituyentes de la materia prima.

15 Permaneciendo en el contexto de la invención, la composición desmineralizada anteriormente descrita podría ser obtenida mediante un procedimiento distinto al anteriormente descrito, con la condición en particular de que este último respete las bajas fluctuaciones del pH y la temperatura.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de fabricación de una composición proteica láctea desmineralizada, caracterizado por que comprende al menos una de las etapas de:
- preparación (2, 3, 5, 7, 9, 10, 12) o suministro de una composición proteica láctea (1, 1a, 1b),
- 5 - ultrafiltración (15) de dicha composición proteica láctea (1),
- nanofiltración (17) de la materia retenida de ultrafiltración (16) obtenida en la etapa anterior, y
 - electrodiálisis (19) de la materia retenida de nanofiltración (18) obtenida en la etapa anterior,
- estando desprovisto dicho procedimiento de cualquier etapa de paso sobre resinas de intercambio iónico.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que la materia retenida de ultrafiltración (16) tiene un contenido de materia nitrogenada total al menos igual a 14% del extracto seco.
- 10 3. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado por que la composición proteica láctea (1) es suero de quesería (13).
4. Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado por que el suero de quesería (13) procede de la agricultura ecológica.
- 15 5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado por que la composición proteica láctea (1) procede de un procedimiento que comprende al menos las etapas de:
- suministro de leche cruda (2),
 - desnatado (3), pasteurización (5) y purificación bacteriana (7) de dicha leche cruda (2),
 - microfiltración sobre membrana (10) de la leche obtenida en la etapa anterior, y
- 20 - recuperación del permeado de microfiltración (11) que forma la composición proteica láctea (1a).
6. Procedimiento según la reivindicación 5, caracterizado por que la membrana de microfiltración tiene una porosidad comprendida entre 0,1 y 0,2 micrómetros.
7. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 5 y 6, caracterizado por que la leche cruda (2) procede de la agricultura ecológica.
- 25 8. Composición proteica láctea desmineralizada, caracterizada por que puede ser obtenida mediante el procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
9. Composición proteica láctea desmineralizada según la reivindicación 8, caracterizada por que la relación entre los contenidos de calcio y de fósforo es superior a 0,65.
10. Composición proteica láctea desmineralizada según la reivindicación 9, caracterizada por que comprende:
- 30 - calcio en un contenido inferior a 11 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,
- sodio con un contenido inferior a 5 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,
 - magnesio con un contenido inferior a 3 miligramos de por gramo de materia nitrogenada total,
 - potasio con un contenido inferior a 5,5 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,
 - cloruros con un contenido inferior a 1,7 migramos por gramo de material nitrogenada total, y
- 35 - fósforo con un contenido inferior a 8,5 miligramos por gramo de materia nitrogenada total.

11. Composición proteica láctea desmineralizada según una cualquiera de las reivindicaciones 9 y 10, caracterizada por que comprende:
- calcio con un contenido inferior a 7,7 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,
 - sodio con un contenido inferior a 3,65 miligramos por gramos de materia nitrogenada total,
- 5
- magnesio con un contenido inferior a 2,15 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,
 - potasio con un contenido inferior a 3,70 miligramos por gramo de materia nitrogenada total,
 - cloruros con un contenido inferior a 1,5 miligramos por gramo de materia nitrogenada total, y
 - fósforo con un contenido inferior a 7,7 miligramos por gramo de materia nitrogenada total.
- 10
12. Composición proteica láctea desmineralizada según la reivindicación 8, caracterizada por que tiene un porcentaje de proteínas nativas con respecto a las proteínas totales que es superior a 85.
13. Composición proteica láctea desmineralizada según la reivindicación 12, caracterizada por que tiene un porcentaje de proteínas nativas con respecto a las proteínas totales que es superior a 90.
- 15
14. Composición proteica láctea desmineralizada según una cualquiera de las reivindicaciones 12 y 13, caracterizada por que el grado de agregación de la proteína A - lactoalbúmina en dicha composición es inferior a 5%.
15. Composición proteica láctea desmineralizada según la reivindicación 8, caracterizada por que el diámetro medio de tipo D4,3 de las partículas de dicha composición es inferior a 0,3 micrómetros.
- 20
16. Composición proteica láctea desmineralizada según la reivindicación 15, caracterizada por que el diámetro medio de tipo D4,3 de las partículas de dicha composición es inferior a 0,2 micrómetros y por que al menos un 40% de las partículas en volumen tienen un tamaño inferior a 0,15 micrómetros.
17. Utilización de una composición proteica láctea desmineralizada según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 16, en la que dicha composición proteica láctea desmineralizada es utilizada como ingrediente para la elaboración de una leche infantil.
- 25
18. Utilización según la reivindicación 17, caracterizada por que la leche infantil procede de la agricultura ecológica.

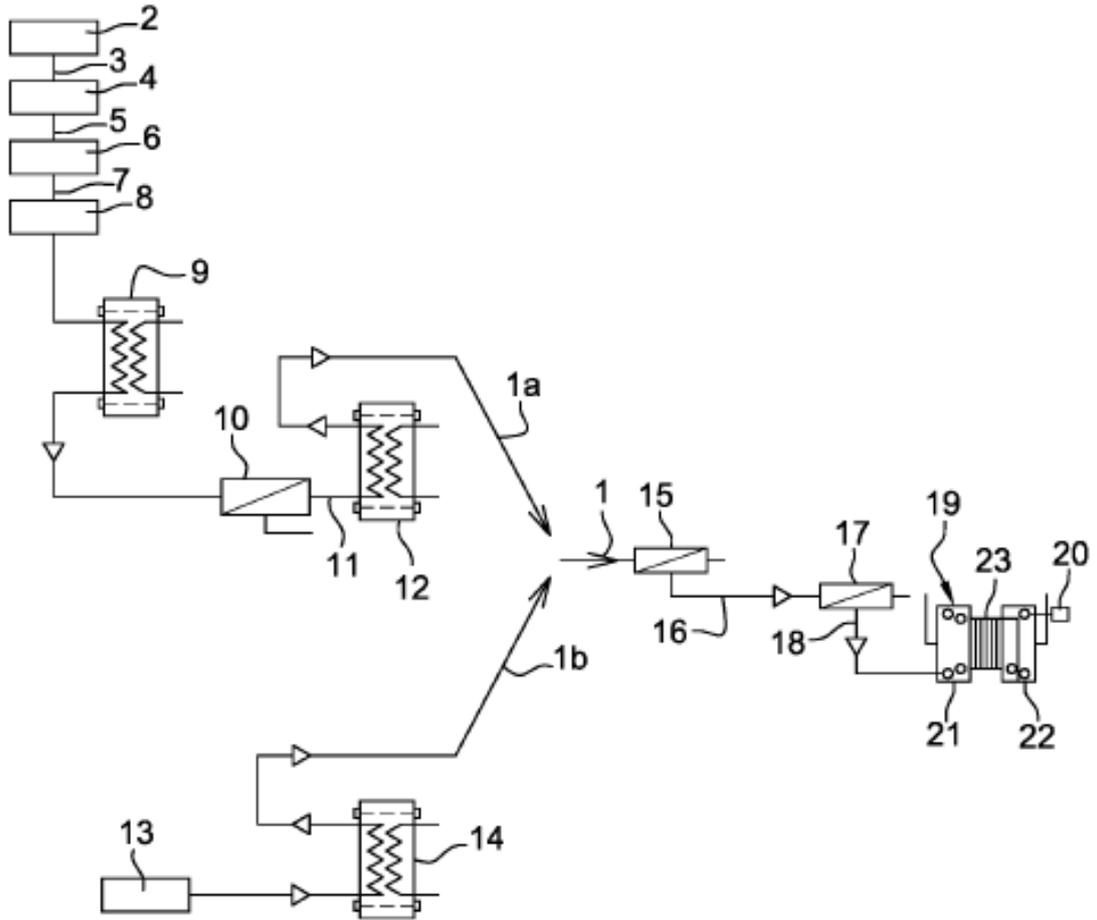


Fig. 1

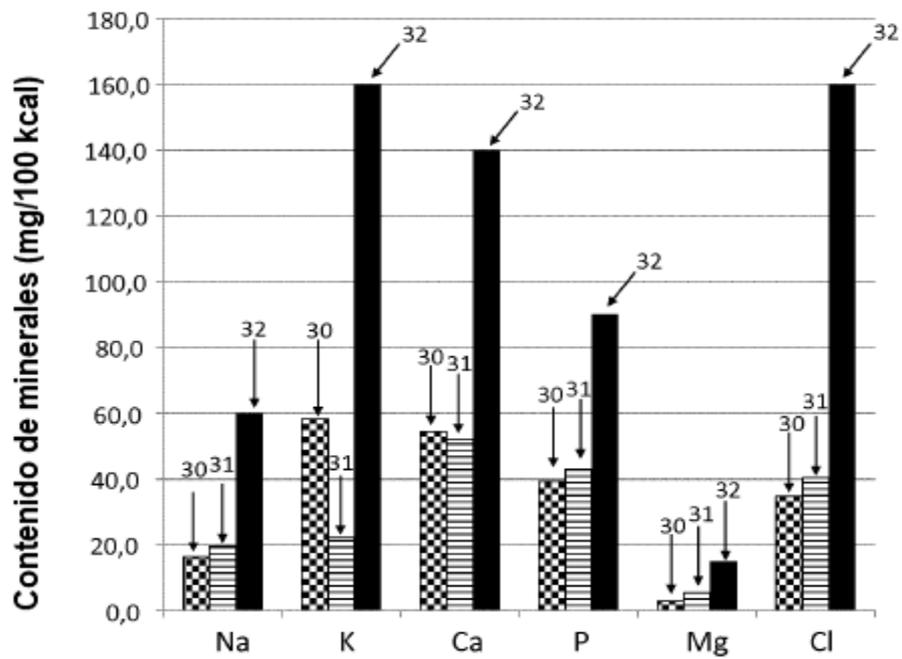


Fig. 2

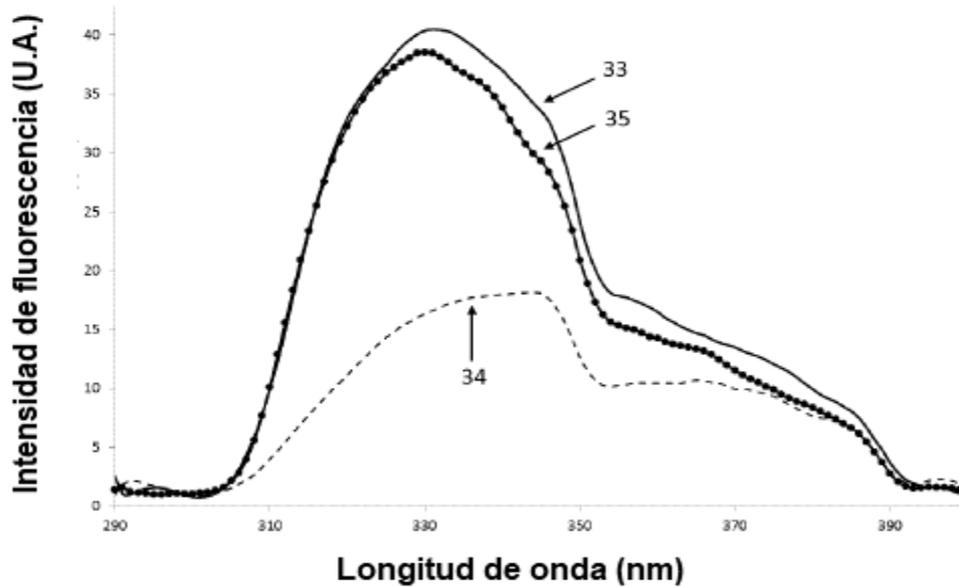


Fig. 3

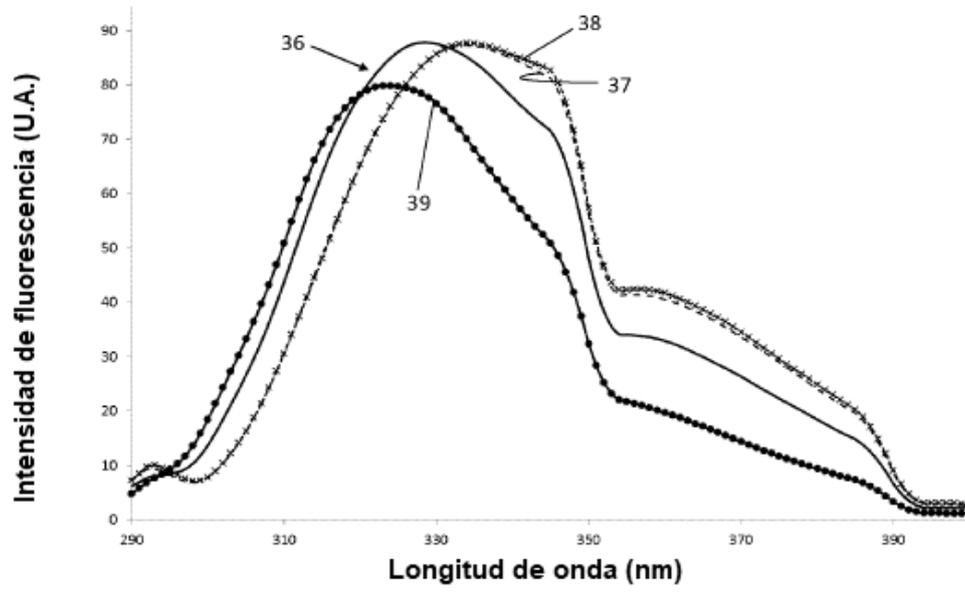


Fig. 4

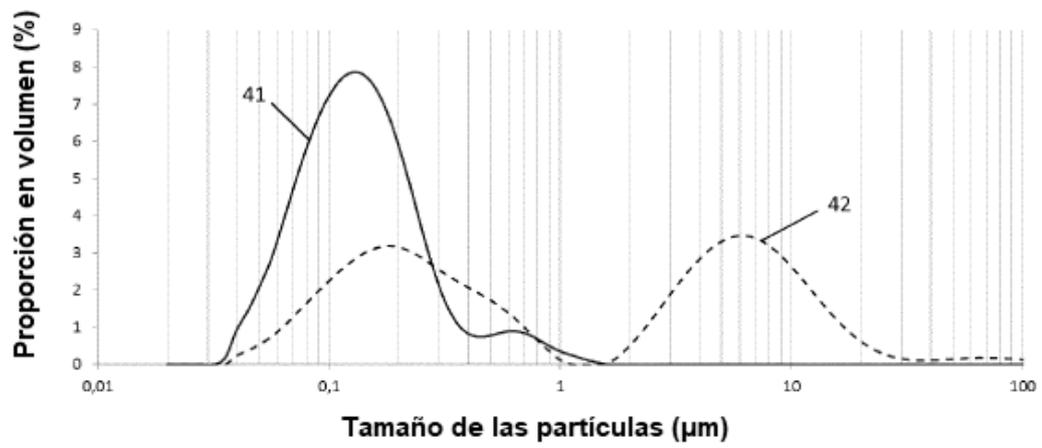


Fig. 5