

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201991293 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.01.22

(22) Дата подачи заявки
2017.12.22

(51) Int. Cl. A23J 1/20 (2006.01)
A23L 33/19 (2016.01)
A23L 2/66 (2006.01)

(54) ПОЛУЧЕНИЕ НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БЕТА-ЛАКТОГЛОБУЛИНА И СВЯЗАННЫЕ С НИМИ СПОСОБЫ, ВАРИАНТЫ ПРИМЕНЕНИЯ И ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ

(31) 16206861.3

(32) 2016.12.23

(33) EP

(86) PCT/EP2017/084553

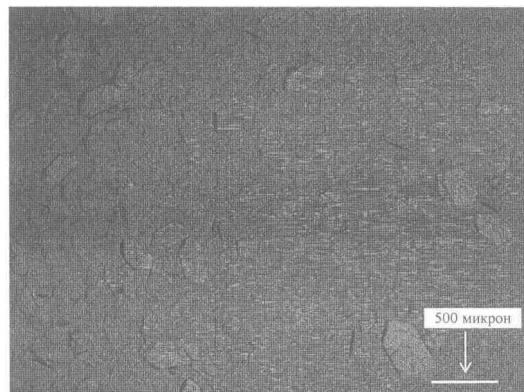
(87) WO 2018/115520 2018.06.28

(71) Заявитель:
АРЛА ФУДС АМБА (DK)

(72) Изобретатель:
Бертельсен Ханс, Лаурисен Каспер
Бёгелунн (DK)

(74) Представитель:
Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к новому способу получения композиций на основе выделенного бета-лактоглобулина и/или композиций, содержащих кристаллизованный бета-лактоглобулин. Кроме того, настоящее изобретение относится к новым композициям на основе бета-лактоглобулина, к вариантам применения данных композиций и к продуктам питания, содержащим данные композиции.



A1

201991293

201991293

A1

ПОЛУЧЕНИЕ НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БЕТА-ЛАКТОГЛОБУЛИНА И СВЯЗАННЫЕ С НИМИ СПОСОБЫ, ВАРИАНТЫ ПРИМЕНЕНИЯ И ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к новому способу получения композиций на основе выделенного бета-лактоглобулина и/или композиций, содержащих кристаллизованный бета-лактоглобулин. Кроме того, настоящее изобретение относится к новым композициям на основе бета-лактоглобулина, к вариантам применения данных композиций и к продуктам питания, содержащим данные композиции.

ПРЕДПОСЫЛКИ К СОЗДАНИЮ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Концепция фракционирования молочного белка хорошо известна в данной области и была разработана в течение последних десятилетий для ряда технологий с целью получения композиций, обогащенных различными видами молочных белков, при этом каждая из них имеет конкретные свойства и характеристики.

Выделение бета-лактоглобулина (BLG) из молочной сыворотки является предметом ряда публикаций и обычно включает множество стадий разделения и часто хроматографических методик для получения очищенного продукта, содержащего бета-лактоглобулин.

Например, у de Jongh et al (Mild Isolation Procedure Discloses New Protein Structural Properties of β -Lactoglobulin, J Dairy Sci., vol. 84(3), 2001, pages 562-571) описана очистка BLG из свеженадоенного молока при помощи низкотемпературной кислотной коагуляции казеина и за счет воздействия на полученную кислую сыворотку комбинацией аффинной хроматографии (DEAE Sepharose) и гель-проникающей хроматографии. Полученная композиция на основе BLG, как было отмечено, содержала 0,985 г бета-лактоглобулина на 1 г белка.

Slack et al (Journal of Food Processing and Preservation, vol. 10, 1986, pages 19-30) исследовали другой подход и получали обогащенные BLG осадки путем корректировки показателя pH с использованием деминерализованной кислой сыворотки и сладкой сыворотки до значения 4,65 и разделения образовавшегося осадка путем центрифугирования и декантации. Полученные гранулы осадка были описаны как относительно нерастворимые и содержащие значительное количество белковых примесей в дополнительном BLG. Образования кристаллов не наблюдали. Следует отметить, что осадки BLG, которые могут образовываться при pH 4,65, не являются кристаллами BLG.

Palmer (Crystalline Globulin from Cow's Milk, J. Biol. Chem., Vol. 104, 1934, pages 359-372) сообщал о трудоемком и времязатратном способе получения кристаллов белка на основе кислой сыворотки при помощи ряда последовательных высаливаний нежелательных белков, корректировки показателя pH и диализа для удаления других нежелательных белков. И наконец, при получении высокоочищенного раствора BLG происходила кристаллизация BLG. Продолжительность проведения способа составляла более 12 дней и требовалось добавление толуола. Следовательно, процедуры, раскрытые у Palmer, несовместимы с безопасным производством продуктов питания и давали продукты, которые были однозначно несъедобными.

Aschaffenburg et al (Improved Method for the Preparation of Crystalline beta-Lactoglobulin and alpha-Lactalbumin from Cow's Milk, Bioch., vol. 65, 1957, pages 273-277) раскрывают улучшенный способ относительно способа по Palmer, причем улучшение обеспечивает получение кристаллов бета-лактоглобулина в течение нескольких дней, а не недель. Однако улучшенный способ все же требует удаления нежелательных белков перед кристаллизацией и дополнительно используется толуол для кристаллизации, что делает его несовместимым с безопасным производством продуктов питания.

В JP H10 218755 A раскрыто получение косметических композиций, содержащих ингибитор продуцирования меланина, который содержит BLG в качестве активного ингредиента. Кроме того, этот документ показывает, что BLG, например, можно выделять при помощи следующего процесса: соляную кислоту добавляют в молоко для осаждения казеина с последующей фильтрацией с получением сыворотки. Показатель pH сыворотки доводят до 6,0 и добавляют сульфат аммония в количестве для половинного насыщения; осажденный белок удаляют высаливанием, а фильтрат извлекают. Фильтрат насыщают сульфатом аммония и извлекают осажденный белок. Извлеченный белок снова растворяют в воде и подвергают диализу при pH 5,2 для отделения кристаллов, при этом β -лактоглобулин получают в пропорции равной приблизительно 1,8 г на 1 л сыворотки. Однако общие стадии предложенного способа, описанного в JP H10 218755 A, не приводят к достаточному образованию кристаллов BLG. Таким образом, документ не содержит полезное раскрытие кристаллизации BLG или кристаллов BLG.

В US 2790790 раскрыт способ осаждения белков из раствора, а более конкретно фракционированное осаждение относительно неконъюгированных белков из водного раствора за счет использования хлорида натрия в качестве осаждающего средства. Способ предложен для выделения BLG путем опосредованного NaCl осаждения при pH 3,6-3,8. В примере II этого документа предлагается, чтобы осадок, полученный с использованием NaCl, можно было диализировать обычным способом для образования кристаллического β -лактоглобулина. Однако в US 2790790 не показано, что образование кристаллов BLG при pH 3,6-3,8 фактически возможно, и не содержит ссылок на значение "совершенно новый способ" диализа осадка BLG. Таким образом, документ не содержит полезное раскрытие кристаллизации BLG или кристаллов BLG.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Авторы настоящего изобретения сделали неожиданное открытие, заключающееся в том, что очень BLG высокой чистоты можно получать непосредственно в неочищенном растворе молочных сывороточных белков, который содержит значительные количества других молочных сывороточных белков помимо BLG, и без использования таких органических растворителей, как толуол. Это противоречит общим знаниям из уровня техники, которые свидетельствуют о том, что белки должны быть в значительной степени очищены перед тем, как их можно будет кристаллизовать, и что не все белки можно кристаллизовать.

Это открытие имеет потенциал изменения способа, посредством которого обрабатывают и фракционируют молочный сывороточный белок в молочной промышленности, и делает доступным как эффективное, так и щадящее получение высокоочищенного BLG, который безопасен для использования в качестве пищевого ингредиента.

Таким образом, один аспект настоящего изобретения относится к способу получения пищевой композиции, содержащей бета-лактоглобулин (BLG) в кристаллизованной и/или выделенной форме, при этом способ предусматривает стадии

- a) обеспечения раствора молочного сывороточного белка, содержащего BLG и по меньшей мере один дополнительный молочный сывороточный белок, при этом указанный раствор молочного сывороточного белка является перенасыщенным по BLG и характеризуется показателем pH в диапазоне 5-6,
- b) кристаллизации BLG в перенасыщенном растворе молочного сывороточного белка, и
- c) необязательно отделения кристаллов BLG от остального раствора молочного сывороточного белка.

Кроме того, авторы настоящего изобретения выявили, что пищевые композиции на основе молочного сывороточного белка в порошкообразной форме, которые содержат кристаллы BLG, характеризуются значительно более высокими показателями насыпной плотности, чем сопоставимые композиции из уровня техники. Это является преимуществом, поскольку упрощает манипуляции с порошком и делает его в меньшей степени пылящим.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к пищевой композиции, содержащей бета-лактоглобулин в кристаллизованной и/или выделенной форме, например, к получаемой с помощью одного или нескольких способов, описанных в данном документе. Например, пищевая композиция может представлять собой порошок, содержащий кристаллы BLG и характеризующийся объемной плотностью по меньшей мере 0,40 г/мл. Альтернативно пищевая композиция может быть жидкой суспензией или взвесью, содержащей кристаллы BLG.

В контексте настоящего изобретения сухой продукт, такой как, например, порошок, который содержит “кристаллы BLG”, содержит продукт, полученный путем высушивания суспензии кристаллов BLG, при этом кристаллическая структура влажных кристаллов BLG могла изменяться в процессе высушивания и по меньшей мере частично могла утратить свои характеристики, определенные с рентгеновской дифракции. Аналогично термины “сухой кристалл BLG” и “высушенный кристалл BLG” относятся к частице, полученной путем высушивания влажного кристалла BLG, причем эта сухая частица не обязательно сама имеет кристаллическую структуру. Однако авторы настоящего изобретения наблюдали, что при повторном суспендировании высушенных кристаллов BLG в холодной (4 градуса C) деминерализованной воде при массовом соотношении, составляющем 2 части воды на 1 часть высушенных кристаллов BLG, кристалл BLG регидратируется и приобретает по сути такую же кристаллическую структуру (тип симметрии кристаллической решетки и параметры элементарной ячейки), как перед высушиванием.

BLG хорошо известен как отличный источник незаменимых аминокислот, в том числе, например, лейцина, поэтому пищевая композиция на основе BLG, обеспечиваемая настоящим изобретением, имеет таким образом несколько представляющих интерес вариантов применения в пищевой промышленности.

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к выделенному кристаллу BLG, имеющему ромбическую пространственную группу $P 2_1 2_1 2_1$ и параметры элементарной ячейки $a=68,68 (\pm 5\%) \text{ \AA}$,

$b=68,68 (\pm 5\%) \text{ \AA}$ и $c=156,65 (\pm 5\%) \text{ \AA}$; и где кристалл имеет интегральные углы элементарной ячейки $\alpha=90^\circ$, $\beta=90^\circ$ и $\gamma=90^\circ$.

Еще один аспект настоящего изобретения относится к применению пищевой композиции, определенной в данном документе, в качестве пищевого ингредиента.

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к продукту питания, содержащему пищевую композицию, определенную в данном документе, и источник жиров и/или источник углеводов.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На фиг. 1 показаны две перекрывающиеся хроматограммы раствора неочищенного молочного сывороточного белка (сплошная линия) на основе сладкой сыворотки и полученного маточного раствора после кристаллизации (пунктирная линия). Различие между сплошной и пунктирной линиями имеет место из-за удаленных кристаллов BLG.

Фиг. 2 представляет собой полученную в ходе микроскопии фотографию кристаллов BLG, извлеченных в примере 1.

Фиг. 3 представляет собой хроматограмму извлеченного кристалла BLG из примера 1.

Фиг. 4 представляет собой график зависимости проводимости раствора молочного сывороточного белка от полученного выхода извлеченных кристаллов BLG.

Фиг. 5 представляет собой график зависимости температуры и проводимости раствора молочного сывороточного белка от полученного выхода извлеченных кристаллов BLG.

На фиг. 6 показана взаимосвязь содержания общего белка (показано косвенно с помощью градусов по шкале Брикса, которые пропорциональны содержанию белка) в растворе молочного сывороточного белка и полученного выхода извлеченных кристаллов BLG.

На фиг. 7 показаны хроматограммы сырьевого материала 1 из примера 3 (сплошная линия) и маточной жидкости (пунктирная линия), полученной после кристаллизации и удаления кристаллов BLG.

На фиг. 8 представлена полученная в ходе микроскопии фотография образца, отобранного на ранних стадиях кристаллизации сырьевого материала 1 из примера 3.

На фиг. 9 представлена полученная в ходе микроскопии фотография образца, отобранного после завершения кристаллизации сырьевого материала 1 из примера 3.

На фиг. 10 показана хроматограмма промытых кристаллов BLG, полученных из сырьевого материала 1 из примера 3.

На фиг. 11 показаны хроматограммы сырьевого материала 2 из примера 3 (сплошная линия) и маточной жидкости (пунктирная линия), полученной после кристаллизации и удаления кристаллов BLG.

На фиг. 12 представлено изображение сырьевого материала 2 из примера 3 до (изображение слева) и после (изображение справа) кристаллизации.

На фиг. 13 показана полученная в ходе микроскопии фотография кристаллов BLG, как целых, так и фрагментированных, полученных из сырьевого материала 2 из примера 3.

На фиг. 14 и 15 показано, что рост проводимости или изменение показателя pH суспензии кристаллов BLG приводит к растворению кристаллов BLG.

На фиг. 17 показано изображение сырьевого материала 3 из примера 3 до (изображение слева) и после (изображение справа) кристаллизации.

На фиг. 18 представлена полученная в ходе микроскопии фотография кристаллов BLG, извлеченных из сырьевого материала 3 из примера 3.

На фиг. 19 показана хроматограмма извлеченного кристалла BLG из сырьевого материала 3 из примера 3 без какой-либо стадии промывания.

На фиг. 20 показано влияние повышенной проводимости на выход извлеченных кристаллов BLG.

На фиг. 21 представлена полученная в ходе микроскопии фотография кристаллов BLG, образовавшихся при проводимости 4,20 мСм/см.

На фиг. 22 показана полученная в ходе микроскопии фотография кристаллов BLG, полученных на ранних стадиях кристаллизации раствора молочного сывороточного белка на основе SPC.

Фиг. 23 показывает разницу объемной плотности стандартного изолята молочного сывороточного белка (WPI) и высокоочищенной композиции на основе BLG по настоящему изобретению, при этом композиция содержит кристаллы BLG.

На фиг. 24 представлена фотография центробежного фильтра, в котором кристаллы BLG из примера 3, сырьевого материала 1 были выделены из маточной жидкости.

На фиг. 25 представлена фотография аликвот шести образцов напитков с низким содержанием фосфора примера 8. Слева направо аликвоты представляют образцы A, B, C, D, E и F.

На фиг. 26 представлено схематическое изображение варианта процесса кристаллизация из примера 10, в котором используют DCF для отделения кристаллов BLG от маточного раствора.

На фиг. 27 показаны три фотографии отфильтрованного осадка, полученного в ходе разделения кристалла BLG и маточного раствора с помощью центрифужного фильтра.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Как указано выше, один аспект настоящего изобретения относится к способу получения пищевой композиции, содержащей бета-лактоглобулин (BLG) в кристаллизованной и/или выделенной форме, при этом способ предусматривает стадии

а) обеспечения раствора молочного сывороточного белка, содержащего BLG и по меньшей мере один дополнительный молочный сывороточный белок, при этом указанный раствор молочного сывороточного белка является перенасыщенным по BLG и характеризуется показателем pH в диапазоне 5-6,

б) кристаллизации BLG в перенасыщенном растворе молочного сывороточного белка, и

с) необязательно отделения кристаллов BLG от остального раствора молочного сывороточного белка.

В контексте настоящего изобретения термин “пищевая композиция” относится к композиции, которая безопасна для потребления человеком и используется в качестве пищевого ингредиента, и которая не содержит создающие проблему количества токсичных компонентов, таких как толуол, или других нежелательных органических растворителей. BLG является наиболее преобладающим белком в бычьей сыворотке и молочной сыворотке, и он существует в нескольких генетических вариантах, причем основные в коровьем молоке обозначены как А и В. BLG представляет собой липокалиновый белок и может связывать множество гидрофобных молекул, что свидетельствует о его роли в их транспорте. BLG, как дополнительно было показано, способен связывать железо посредством сидерофоров и может играть роль в борьбе с патогенами. Гомолог BLG отсутствует в грудном молоке человека.

Коровий BLG представляет собой относительно небольшой белок из прим. 162 остатков аминокислот с молекулярной массой, составляющей прим. 18,3-18,4 кДа. При физиологических условиях главным образом он димерный, но диссоциирует на мономер при pH ниже приблизительно 3, сохраняя свое нативное состояние, что определено с помощью ЯМР. И наоборот, BLG также существует в тетрамерных, октамерных и других мультимерных формах агрегации при различных природных условиях.

Растворы BLG могут образовывать гели в различных условиях, когда нативная структура в достаточной степени дестабилизирована, что обеспечивает агрегацию. При длительном нагревании при низком показателе pH и низкой ионной силе образуется прозрачный гель ‘с тонкими нитями’, в котором молекулы белка собраны в длинные жесткие волокна.

В контексте настоящего изобретения термин “BLG” или “бета-лактоглобулин” относится к BLG разных видов млекопитающих, например, в нативной и/или гликозилированной формах, и он включает существующие в природе генетические варианты.

В контексте настоящего изобретения термин “кристалл” относится к твердому материалу, составляющие компоненты которого (такие как атомы, молекулы или ионы) расположены в высокоупорядоченной микроскопической структуре, образуя кристаллическую решетку, которая простирается во всех направлениях. Кристаллы BLG представляют собой кристаллы белка, которые главным образом содержат

BLG, расположенный в высокоупорядоченной микроскопической структуре, образуя кристаллическую решетку, которая простирается во всех направлениях. Кристаллы BLG могут, например, быть монокристаллическими или поликристаллическими и могут, например, представлять собой интактные кристаллы, фрагменты кристаллов или их комбинацию. Фрагменты кристалла, например, образуются, если интактные кристаллы подвергаются механическому сдвигу в ходе обработки. Фрагменты кристаллов также имеют высокоупорядоченную микроскопическую структуру кристалла, но могут не иметь ровной поверхности и/или ровных краев или углов интактного кристалла. См., например, фиг. 18 в качестве примера ряда интактных кристаллов BLG и фиг. 13 в качестве примера фрагментов кристаллов BLG. Используя оптическую микроскопию, в обоих случаях кристалл BLG или фрагменты кристалла можно идентифицировать визуально как отчетливо структурированные, компактные и взаимосвязанные структуры. Зачастую кристалл BLG или фрагменты кристалла по меньшей мере частично прозрачные. Кроме того, кристаллы белка, как известно, являются двулучепреломляющими, и это оптическое свойство можно использовать для идентификации неизвестных частиц, которые имеют кристаллическую структуру. Некристаллические агрегаты BLG, с другой стороны, выглядят как слабо структурированные, непрозрачные и открытые или пористые комки разного размера.

В контексте настоящего изобретения термин “кристаллизуется” относится к образованию кристаллов белка. Кристаллизация может, например, происходить самопроизвольно или инициироваться добавлением затравок для кристаллизации.

Пищевая композиция содержит BLG в кристаллизованной и/или выделенной форме. Пищевая композиция, которая содержит BLG в выделенном виде, содержит по меньшей мере 80% (вес/вес) BLG относительно общего количества твердых веществ. Пищевая композиция, которая содержит BLG в кристаллизованной форме, содержит по меньшей мере некоторое количество кристаллов BLG, но предпочтительно значительное количество кристаллов BLG.

Кристаллы BLG можно часто наблюдать с помощью микроскопии, и они могут даже достигать размера, который делает их видимым невооруженным глазом.

В контексте настоящего изобретения жидкость, которая является “перенасыщенной” или “перенасыщенной по BLG”, содержит растворенный BLG в концентрации, которая выше точки насыщения BLG в этой жидкости при заданных физических и химических условиях. Термин “перенасыщенный” хорошо известен в области кристаллизации (смотрите, например, Gérard Coquerela, “Crystallization of molecular systems from solution: phase diagrams, supersaturation and other basic concepts”, Chemical Society Reviews, p. 2286-2300, Issue 7, 2014), и перенасыщение можно определять с помощью ряда различных методик измерения (например, спектроскопии или анализа размера частиц). В контексте настоящего изобретения перенасыщение по BLG определяют с помощью следующей процедуры.

Процедура испытания на предмет перенасыщенности жидкости по BLG при определенном наборе условий:

а) Внесите 50 мл образца жидкости, подлежащую испытанию, в центрифужную пробирку (VWR № по каталогу 525-0402) высотой 115 мм, внутренним диаметром 25 мм и емкостью 50 мл. Соблюдайте

осторожность, чтобы сохранить образец и последующие его фракции в исходных физических и химических условиях жидкости в ходе стадий а) – h).

b) Сразу же центрифугируйте образец при 3000 г в течение 3,0 минут с достижением макс. ускорения за 30 с и макс. замедления за 30 с.

c) Сразу после центрифугирования перенесите как можно больше супернатанта (не встряхивая пеллеты, если они образовались) во вторую центрифужную пробирку (такого же типа, как и на стадии а).

d) Отберите аликвоту супернатанта объемом 0,05 мл (аликвота А).

e) Добавьте 10 мг кристаллов BLG (с по меньшей мере 98% чистотой BLG относительно общего количества твердых веществ) с размером частиц не более 200 микрон во вторую центрифужную пробирку и встряхивайте смесь.

f) Обеспечьте возможность второй центрифужной пробирке отстояться 60 минут при исходной температуре.

g) Сразу после стадии f) центрифугируйте вторую центрифужную пробирку при 500 г в течение 10 минут, а затем отберите еще одну аликвоту супернатанта в объеме 0,05 мл (аликвота В).

h) Извлеките пеллету, полученную при центрифугировании на стадии g), если она присутствует, повторно суспендируйте ее в воде milliQ, и сразу же проверьте суспензию на присутствие кристаллов, которые видимы при помощи микроскопии.

i) Определите концентрацию BLG в аликвотах А и В с помощью способа, указанного в примере 9.9 – результаты выражены как вес/вес % BLG относительно общего веса аликвот. Концентрация BLG в аликвоте А называется $C_{BLG, A}$, а концентрация BLG в аликвоте В называется $C_{BLG, B}$.

j) Жидкость, из которой отбирали образец стадии а), являлась перенасыщенной (при конкретных условиях), если $C_{BLG, B}$ ниже, чем $C_{BLG, A}$, и если кристаллы наблюдаются на стадии i).

В контексте настоящего изобретения термины “жидкость” и “раствор” охватывают композиции, которые содержат комбинацию жидких и твердых или полутвердых частиц, таких как, например, кристаллы белков или другие белковые частицы. Следовательно, “жидкость” или “раствор” может быть суспензией или даже взвесью. Однако “жидкость” и “раствор” предпочтительно поддаются перекачке насосом.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения способ не предусматривает разделение на стадии c) и обеспечивает пищевую композицию, которая содержит и кристаллы BLG, и дополнительный молочный сывороточный белок. Кроме того, если этот вариант способа включает высушивание на стадии f), то он обеспечивает сухую композицию, содержащую кристаллы BLG и дополнительный молочный сывороточный белок, т. е. WPC или WPI, в которой по меньшей мере часть BLG присутствует в виде кристаллов BLG. Предпочтительно способ предусматривает стадии а), b) и f) в прямой последовательности.

Если сырьевой материал на основе молочного сывороточного белка представляет собой концентрат молочного сывороточного белка (WPC), изолят молочного сывороточного белка (WPI), концентрат белка сыворотки (SPC) или изолят белка сыворотки (SPI), то вышеуказанный вариант способа делает возможным получение WPC, WPI, SPC или SPI в жидкой или сухой форме, в которой по меньшей мере часть BLG присутствует в кристаллической форме.

Термины “концентрат молочного сывороточного белка” и “концентрация белка сыворотки ” относится к сухим или водным композициям, в которых общее количество белка составляет 20-89% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ.

WPC или SPC предпочтительно содержит:

20-89% (вес/вес) белка относительно общего количества твердых веществ,
15-70% (вес/вес) BLG относительно общего белка,
8-50% (вес/вес) ALA относительно общего белка и
0-40% (вес/вес) CMP относительно белка.

Альтернативно, но и предпочтительно WPC или SPC может содержать:

20-89% (вес/вес) белка относительно общего количества твердых веществ,
15-90% (вес/вес) BLG относительно общего белка,
4-50% (вес/вес) ALA относительно общего белка и
0-40% (вес/вес) CMP относительно белка.

Предпочтительно WPC или SPC содержит:

20-89% (вес/вес) белка относительно общего количества твердых веществ,
15-80% (вес/вес) BLG относительно общего белка,
4-50% (вес/вес) ALA относительно общего белка и
0-40% (вес/вес) CMP относительно белка.

Более предпочтительно WPC или SPC содержит:

70-89% (вес/вес) белка относительно общего количества твердых веществ,
30-90% (вес/вес) BLG относительно общего белка,
4-35% (вес/вес) ALA относительно общего белка и
0-25% (вес/вес) CMP относительно белка.

Термины “изолят молочного сывороточного белка” и “изолят белка сыворотки” относится к сухим или водным композициям, в которых общее количество белка составляет 90-100% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ.

WPI или SPI предпочтительно содержит:

90-100% (вес/вес) белка относительно общего количества твердых веществ,
15-70% (вес/вес) BLG относительно общего белка,
8-50% (вес/вес) ALA относительно общего белка и
0-40% (вес/вес) CMP относительно общего белка.

Альтернативно, но и предпочтительно WPI или SPI может содержать:

90-100% (вес/вес) белка относительно общего количества твердых веществ,
30-95% (вес/вес) BLG относительно общего белка,
4-35% (вес/вес) ALA относительно общего белка и
0-25% (вес/вес) CMP относительно общего белка.

Более предпочтительно WPI или SPI может содержать:

90-100% (вес/вес) белка относительно общего количества твердых веществ,

30-90% (вес/вес) BLG относительно общего белка,

4-35% (вес/вес) ALA относительно общего белка и

0-25% (вес/вес) CMP относительно общего белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения способ, кроме того, предусматривает стадию d) промывания кристаллов BLG, например, выделенных кристаллов BLG, полученных на стадии c).

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения способ, кроме того, предусматривает стадию e) перекристаллизации кристаллов BLG, например, кристаллов BLG, полученных на стадии c) или d).

Способ может, например, предусматривать стадии a), b), c), d) и e) или даже состоять из них. Альтернативно способ может предусматривать стадии a), b), c) и e) или даже состоять из них.

В некоторых особенно предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения способ, кроме того, предусматривает стадию f) высушивания композиции, содержащей BLG, полученной на стадии b), c), d) или e).

Способ может, например, предусматривать стадии a), b) и f) или даже состоять из них.

Альтернативно способ может предусматривать стадии a), b), c) и f) или даже состоять из них.

Альтернативно способ может предусматривать стадии a), b), c), d) и f) или даже состоять из них.

Альтернативно способ может предусматривать стадии a), b), c), d), e) и f) или даже состоять из них.

Как было сказано, стадия a) настоящего изобретения включает обеспечение раствора молочного сывороточного белка, который содержит BLG и по меньшей мере дополнительный молочный сывороточный белок.

В контексте настоящего изобретения термин “молочный сывороточный белок” относится к белку, который присутствует в сыворотке молока. Молочный сывороточный белок из раствора молочного сывороточного белка может представлять собой подгруппу разных видов белков, присутствующих в сыворотке молока, или он может быть полным набором разных видов белков, присутствующих в сыворотке молока. Однако раствор молочного сывороточного белка всегда содержит BLG.

В контексте настоящего изобретения термин “дополнительный белок” означает белок, который не представляет собой BLG. Дополнительный белок, который присутствует в растворе молочного сывороточного белка, обычно содержит один или несколько не являющихся BLG белков, которые присутствуют в сыворотке молока. Неограничивающие примеры таких белков представляют собой альфа-лактальбумин, бычий сывороточный альбумин, иммуноглобулины, макропептид казеина (CMP), остеокальцин, лактоферрин и мембранные белки жировых глобул молока.

Таким образом, раствор молочного сывороточного белка предпочтительно может содержать по меньшей мере один дополнительный молочный сывороточный белок, выбранный из группы, состоящей из альфа-лактальбумина, бычьего сывороточного альбумина, иммуноглобулинов, макропептида казеина (CMP), остеопонтина, лактоферрина, мембранных белков жировых глобул молока и их комбинаций.

Альфа-лактальбумин (ALA) является белком, присутствующим в молоке практически всех млекопитающих. ALA образует регуляторную субъединицу гетеродимера лактозосинтазы (LS), а β -1,4-галактозилтрансфераза (beta4Gal-T1) образует каталитический компонент. Вместе эти белки обеспечивают возможность продуцировать лактозу за счет LS путем переноса галактозных фрагментов к глюкозе. Являясь мультимером, альфа-лактальбумин сильно связывает ионы кальция и цинка и может проявлять бактерицидную или противораковую активность. Одно из основных структурных различий с бета-лактоглобулином заключается в том, что ALA не имеет какой-либо свободной тиольной группы, которая может служить в качестве исходной точки для реакции ковалентной агрегации. В результате чистый ALA не будет образовывать гели при денатурации и подкислении.

В контексте настоящего изобретения термин “ALA” или “альфа-лактальбумин” относится к альфа-лактальбумину разных видов млекопитающих, например, в нативной и/или гликозилированной формах, и включает существующие в природе генетические варианты.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка содержит не более 10% (вес/вес) казеина относительно общего количества белка, предпочтительно не более 5% (вес/вес), более предпочтительно не более 1% (вес/вес) и еще более предпочтительно не более 0,5% казеина относительно общего количества белка. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка не содержит какого-либо поддающегося выявлению количества казеина.

Термин “сыворотка молока” относится к жидкости, которая остается после удаления из молока казеина и жировых глобул молока, например, с помощью микрофльтрации или ультрафльтрации через поры большого размера. Сыворотка молока может также называться “идеальной молочной сывороткой”.

Термин “белок сыворотки молока” или “белок сыворотки” относится к белку, который присутствует в сыворотке молока.

Термин “молочная сыворотка” относится к жидкому супернатанту, который остается после осаждения и удаления казеина из молока. Осаждение казеина может, например, проводиться путем подкисления молока и/или с помощью сычужного фермента.

Существует несколько типов молочной сыворотки, такие как “сладкая молочная сыворотка”, которая является сывороточным продуктом, получаемым путем осаждения казеина на основе использования сычужного фермента, и “кислая молочная сыворотка”, которая является сывороточным продуктом, получаемым путем осаждения казеина на основе использования кислоты. Осаждение казеина на основе использования кислоты может, например, проводиться путем добавления пищевых кислот или посредством бактериальных культур.

Как уже было сказано, авторы настоящего изобретения обнаружили, что кристаллизация BLG возможна без использования органических растворителей. Этот подход к очистке можно также использовать для очистки препаратов, содержащих молочный сывороточный белок, которые уже были подвергнуты определенной очистке BLG, и он обеспечивает простые способы, которые еще больше повышают чистоту BLG. Таким образом, в некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит в диапазоне 1-20% (вес/вес) дополнительного молочного сывороточного белка относительно общего количества белка. Предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может содержать в диапазоне 2-15% (вес/вес) дополнительного молочного сывороточного белка относительно общего количества белка. Еще более предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может, например, содержать в диапазоне 3-10% (вес/вес) дополнительного молочного сывороточного белка относительно общего количества белка.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 5% (вес/вес) ALA относительно общего количества белка. Предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 10% (вес/вес) ALA относительно общего количества белка. Еще более предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 15% (вес/вес) ALA относительно общего количества белка. Альтернативно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может содержать по меньшей мере 20% (вес/вес) ALA относительно общего количества белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 25% (вес/вес) ALA относительно общего количества белка. Предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 30% (вес/вес) ALA относительно общего количества белка. Раствор молочного сывороточного белка из стадии а) предпочтительно содержит по меньшей мере 35% (вес/вес) ALA относительно общего количества белка. Еще более предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может содержать по меньшей мере 40% (вес/вес) ALA относительно общего количества белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит ALA в диапазоне 5-95% (вес/вес) относительно общего количества белка. Предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит ALA в диапазоне 5-70% (вес/вес) относительно общего количества белка. Еще более предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может содержать ALA в диапазоне 10-60% (вес/вес) относительно общего количества белка. Раствор молочного сывороточного белка из стадии а) предпочтительно содержит ALA в диапазоне 12-50% (вес/вес) относительно общего количества белка. Еще более предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может содержать ALA в диапазоне 20-45% (вес/вес) относительно общего количества белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка из стадии а) характеризуется соотношением по весу BLG и ALA, составляющим по меньшей мере 0,01. Предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) характеризуется

соотношением по весу BLG и ALA, составляющим по меньшей мере 0,5. Еще более предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) характеризуется соотношением по весу BLG и ALA, составляющим по меньшей мере 1, как например, по меньшей мере 2. Например, раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может характеризоваться соотношением по весу BLG и ALA, составляющим по меньшей мере 3. Все количества и концентрации BLG и других белков в растворе молочного сывороточного белка и сырьевого материала на основе сывороточного белка относятся к растворенному белку и не содержат осажденный или кристаллизованный белок.

В контексте настоящего изобретения термин "соотношение по весу" компонента X и компонента Y означает значение, полученное путем расчета m_X/m_Y , где m_X представляет собой количество (вес) компонентов X, а m_Y представляет собой количество (вес) компонентов Y.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка из стадии а) характеризуется соотношением по весу BLG и ALA в диапазоне 0,01-20. Предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) характеризуется соотношением по весу BLG и ALA в диапазоне 0,2-10. Еще более предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) характеризуется соотношением по весу BLG и ALA в диапазоне 0,5-4. Например, раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может характеризоваться соотношением по весу BLG и ALA в диапазоне 1-3.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 1% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка. Предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 2% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка. Еще более предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 5% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка. Предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может содержать по меньшей мере 10% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 12% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка. Например, раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может содержать по меньшей мере 15% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка. Раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может содержать по меньшей мере 20% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка. Альтернативно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может содержать по меньшей мере 30% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка.

В некоторых особенно предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит не более 95% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка. Предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может содержать не более 90% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка. Более предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) может, например, содержать не более 85% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка. Еще более предпочтительно раствор сывороточного белка из стадии

4-30% (вес/вес). Еще более предпочтительно, когда раствор молочного сывороточного белка содержит BLG в диапазоне 10-25% (вес/вес).

Любой подходящий источник молочного сывороточного белка можно использовать для получения раствора молочного сывороточного белка. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка содержит концентрат белка сыворотки молока, концентрат молочного сывороточного белка, изолят белка сыворотки молока, изолят молочного сывороточного белка или их комбинации или даже состоит из них.

Предпочтительно, когда раствор молочного сывороточного белка представляет собой деминерализованный раствор молочного сывороточного белка.

В этом контексте термин деминерализованный означает, что проводимость раствора молочного сывороточного белка составляет не более 15 мСм/см, а предпочтительно не более 10 мСм/см, а еще более предпочтительно не более 8 мСм/см. Проводимость ультрафильтрата (UF) деминерализованного раствора молочного сывороточного белка предпочтительно составляет не более 7 мСм/см, более предпочтительно не более 4 мСм/см, а еще более предпочтительно не более 1 мСм/см.

Особенно предпочтительно, чтобы раствор молочного сывороточного белка представлял собой деминерализованный концентрат белка сыворотки молока, деминерализованный изолят белка сыворотки молока, деминерализованный концентрат молочного сывороточного белка или деминерализованный изолят молочного сывороточного белка.

В некоторых особенно предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка содержит деминерализованный и с откорректированным показателем pH концентрат белка сыворотки молока, концентрат молочного сывороточного белка, изолят белка сыворотки молока, изолят молочного сывороточного белка или их комбинации или даже состоит из них.

Раствор молочного сывороточного белка может, например, содержать деминерализованный концентрат белка сыворотки молока или даже состоять из него. Альтернативно раствор молочного сывороточного белка может содержать деминерализованный концентрат молочного сывороточного белка или даже состоять из него. Альтернативно раствор молочного сывороточного белка может содержать деминерализованный изолят белка сыворотки молока или даже состоять из него. Альтернативно раствор молочного сывороточного белка может содержать деминерализованный изолят молочного сывороточного белка или даже состоять из него.

В контексте настоящего изобретения термины “концентрат молочного сывороточного белка” и “концентрат белка сыворотки молока” относятся к препаратам на основе молочной сыворотки или сыворотки молока, которые содержат белок в диапазоне прим. 20-89% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ.

В контексте настоящего изобретения термины “изолят молочного сывороточного белка” и “изолят белка сыворотки молока” относятся к препаратам на основе молочной сыворотки или сыворотки молока, которые содержат по меньшей мере 90% (вес/вес) белка относительно общего количества твердых веществ.

Термины “состоит по сути из” и “состоящий по сути из” означают, что интересующий признак или характеристика охватывает определенные материалы или стадии и те, которые физически не влияют на основные и новые характеристики заявленного изобретения.

Белок из раствора молочного сывороточного белка предпочтительно получают из молока млекопитающих, а предпочтительно из молока жвачных животных, таких как, например, корова, овца, коза, буйвол, верблюд, лама, кобыла и/или олень. Белок, полученный из молока бычьих (коровы), является особенно предпочтительным. BLG и дополнительный молочный сывороточный белок, следовательно, предпочтительно представляют собой бычий BLG и бычий молочный сывороточный белок.

Белок из раствора молочного сывороточного белка предпочтительно настолько близок к его нативному состоянию, насколько это возможно, и предпочтительно его подвергали лишь умеренным тепловым обработкам или вообще не подвергали.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения BLG из раствора молочного сывороточного белка имеет степень лактозилирования не более 1. Предпочтительно BLG из раствора молочного сывороточного белка характеризуется степенью лактозилирования не более 0,6. Более предпочтительно BLG из раствора молочного сывороточного белка характеризуется степенью лактозилирования не более 0,4. Еще более предпочтительно BLG из раствора молочного сывороточного белка характеризуется степенью лактозилирования не более 0,2. Наиболее предпочтительно BLG из раствора молочного сывороточного белка имеет степень лактозилирования не более 0,1, как например, предпочтительно не более 0,01.

Степень лактозилирования BLG определяют согласно Czerwenka et al (J. Agric. Food Chem., Vol. 54, No. 23, 2006, pages 8874-8882).

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка характеризуется значением содержания фурузина, составляющим не более 80 мг/100 г белка. Предпочтительно раствор молочного сывороточного белка характеризуется значением содержания фурузина, составляющим не более 40 мг/100 г белка. Более предпочтительно раствор молочного сывороточного белка характеризуется значением содержания фурузина, составляющим не более 20 мг/100 г белка. Еще более предпочтительно раствор молочного сывороточного белка характеризуется значением содержания фурузина, составляющим не более 10 мг/100 г белка. Наиболее предпочтительно раствор молочного сывороточного белка, характеризуется значением содержания фурузина, составляющим не более 5 мг/100 г белка, как например, предпочтительно значением содержания фурузина, составляющим 0 мг/100 г белка.

Раствор молочного сывороточного белка обычно содержит другие компоненты помимо белка. Раствор молочного сывороточного белка может содержать другие компоненты, которые обычно присутствуют в молочной сыворотке или сыворотке молока, как например, минералы, углеводы и/или липиды. Альтернативно или дополнительно раствор молочного сывороточного белка может содержать компоненты, которые не свойственны молочной сыворотке или сыворотке молока. Однако такие не свойственные

компоненты должны предпочтительно быть безопасными для использования в производстве продуктов питания и предпочтительно также для потребления человеком.

Данный способ особенно предпочтителен для выделения BLG из неочищенных растворов молочного сывороточного белка, который содержит другие твердые вещества, отличные от BLG.

Раствор молочного сывороточного белка может, например, содержать углеводы, как, например, лактозу, олигосахариды и/или продукты гидролиза лактозы (т. е. глюкозу и галактозу). Раствор молочного сывороточного белка может, например, содержать углеводы в диапазоне 0-40% (вес/вес), как например, в диапазоне 1-30% (вес/вес) или в диапазоне 2-20% (вес/вес).

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка содержит не более 20% (вес/вес) углеводов, предпочтительно не более 10% (вес/вес) углеводов, более предпочтительно не более 5% (вес/вес) углеводов и еще более предпочтительно не более 2% (вес/вес) углеводов.

Раствор молочного сывороточного белка может также содержать липиды, например, в виде триглицеридов и/или других типов липидов, таких как фосфолипиды.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения в растворе молочного сывороточного белка из стадии а) общее количество липидов составляет не более 15% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ. Предпочтительно в растворе молочного сывороточного белка из стадии а) общее количество липидов составляет не более 10% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ. Более предпочтительно в растворе молочного сывороточного белка из стадии а) общее количество липидов составляет не более 6% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ. Еще более предпочтительно в растворе молочного сывороточного белка из стадии а) общее количество липидов составляет не более 1,0% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ. Наиболее предпочтительно в растворе молочного сывороточного белка из стадии а) общее количество липидов составляет не более 0,5% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ.

Общее количество белка в растворе молочного сывороточного белка обычно составляет по меньшей мере 1% (вес/вес) относительно веса раствора молочного сывороточного белка. Предпочтительно общее количество белка в растворе молочного сывороточного белка составляет по меньшей мере 5% (вес/вес). Более предпочтительно общее количество белка в растворе молочного сывороточного белка составляет по меньшей мере 10% (вес/вес). Еще более предпочтительно общее количество белка в растворе молочного сывороточного белка составляет по меньшей мере 15% (вес/вес).

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения общее количество белка в растворе молочного сывороточного белка находится в диапазоне 1-50% (вес/вес). Предпочтительно общее количество белка в растворе молочного сывороточного белка находится в диапазоне 5-40% (вес/вес). Более предпочтительно общее количество белка в растворе молочного сывороточного белка находится в диапазоне 10-30% (вес/вес). Еще более предпочтительно общее количество белка в растворе молочного сывороточного белка находится в диапазоне 15-25% (вес/вес).

Общее количество белка в растворе молочного сывороточного белка определяют согласно примеру 9.2.

Раствор молочного сывороточного белка обычно получают путем осуществления в отношении сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка корректировки одного или нескольких свойств, что даст раствор молочного сывороточного белка, являющийся перенасыщенным по BLG.

Сырьевой материал предпочтительно представляет собой WPC, WPI, SPC, SPI или их комбинацию.

В контексте настоящего изобретения термин “сырьевой материал на основе молочного сывороточного белка” относится к композиции, которая превращается в раствор молочного сывороточного белка, перенасыщенного по BLG. Сырьевой материал на основе молочного сывороточного белка обычно представляет собой водную жидкость, содержащую BLG и по меньшей мере один дополнительный молочный сывороточный белок, но обычно она не является перенасыщенной по BLG.

Варианты осуществления, относящиеся к химическому составу раствора молочного сывороточного белка, также относятся к сырьевому материалу на основе молочного сывороточного белка, однако обычно по меньшей мере один параметр сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка регулируют так, чтобы избежать перенасыщения или по меньшей мере самопроизвольной кристаллизации.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения перенасыщенный раствор молочного сывороточного белка получают путем осуществления в отношении сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка одной или нескольких из следующих корректировок:

- корректировки показателя pH,
- снижения проводимости,
- снижения температуры,
- повышения концентрации белка,
- добавления средства, которое снижает активность воды,
- модифицирования ионного состава.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения получение раствора молочного сывороточного белка включает доведение показателя pH сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка до pH в диапазоне 5-6.

Все значения pH измеряют при помощи стеклянного электрода для измерения pH и нормализуют при 25 градусах C.

Раствор молочного сывороточного белка может, например, характеризоваться pH в диапазоне 4,9-6,1. Например, показатель pH раствора молочного сывороточного белка может быть в диапазоне 5,0-6,1. Альтернативно показатель pH раствора молочного сывороточного белка может быть в диапазоне 5,1-6,1. Предпочтительно показатель pH раствора молочного сывороточного белка находится в диапазоне 5,1-6,0.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения показатель pH раствора молочного сывороточного белка находится в диапазоне 5,0-6,0. Предпочтительно показатель pH раствора

молочного сывороточного белка находится в диапазоне 5,1-6,0. Более предпочтительно показатель pH раствора молочного сывороточного белка находится в диапазоне 5,1-5,9. Еще более предпочтительно показатель pH раствора молочного сывороточного белка может быть в диапазоне 5,2-5,9. Наиболее предпочтительно показатель pH раствора молочного сывороточного белка находится в диапазоне 5,2-5,8.

Показатель pH предпочтительно корректируют с помощью пищевых кислот и/или оснований. Особенно предпочтительны такие пищевые кислоты, как например, карбоновые кислоты. Применимые примеры таких кислот, например, представляют собой соляную кислоту, серную кислоту, фосфорную кислоту, уксусную кислоту, малеиновую кислоту, виннокаменную кислоту, молочную кислоту, лимонную кислоту или глюконовую кислоту и/или их смеси.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения показатель pH корректируют с использованием лактона, такого как, например, D-глюконо-дельта-лактона, который медленно гидролизуетсЯ и одновременно снижает показатель pH содержащей его водной жидкости. Целевой показатель pH после завершения гидролиза лактона можно точно определить.

Применимые примеры приемлемых пищевых оснований, например, представляют собой источники гидроксидов, такие как, например, гидроксид натрия, гидроксид калия, гидроксид кальция, соли пищевых кислот, такие как, например, цитрат тринатрия и/или их комбинации.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения показатель pH корректируют путем добавления катионообменного материала в его H^+ форме. Гранулированный/с большим размером частиц катионообменный материал легко удаляется из раствора молочного сывороточного белка перед кристаллизацией или даже после кристаллизации. Корректировка показателя pH путем добавления катионообменного материала в его H^+ форме особенно предпочтительно в настоящем изобретении, поскольку это снижает показатель pH без добавления отрицательных противоионов, которые значительно влияют на проводимость сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения получение раствора молочного сывороточного белка включает снижение проводимости сырьевого материала на основе сывороточного белка.

Значения проводимости, указанные в данном документе, были нормализованы при 25 градусах C, если не указано иное.

Авторы выявили, что снижение проводимости раствора молочного сывороточного белка приводит к более высокому выходу кристаллов BLG. Минимально достигаемая проводимость раствора молочного сывороточного белка зависит от состава белковой фракции и липидной фракции (если присутствуют). Некоторые виды белков, такие как, например, макропептид казеина (CMP), вносят больший вклад в проводимость, чем другие виды белков. Таким образом, предпочтительно, чтобы проводимость сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка доводили практически до того уровня, при котором белок и противоионы белка являются основными компонентами, вносящими вклад в проводимость.

Снижение проводимости часто включает удаление по меньшей мере некоторых небольших свободных ионов, которые присутствуют в жидкой фазе и слабо связаны с белками.

Зачастую предпочтительно, когда раствор молочного сывороточного белка характеризуется проводимостью не более 10 мСм/см. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка характеризуется проводимостью не более 5 мСм/см. Предпочтительно раствор молочного сывороточного белка характеризуется проводимостью не более 4 мСм/см.

Более низкие значения проводимости являются еще более предпочтительными и способствуют более высоким выходам кристаллов BLG. Таким образом, раствор молочного сывороточного белка предпочтительно характеризуется проводимостью не более 3 мСм/см. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка характеризуется проводимостью не более 1 мСм/см. Предпочтительно раствор молочного сывороточного белка характеризуется проводимостью не более 0,5 мСм/см.

Проводимость сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка предпочтительно снижают с помощью диализа или диафильтрации. Диафильтрация путем ультрафильтрации особенно предпочтительна, поскольку она позволяет вымывать соли и небольшие заряженные молекулы, в то время как белки сохраняются. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения единая ультрафильтрационная установка используется для ультрафильтрации/диафильтрации и последующего концентрирования сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка.

Авторы настоящего изобретения выявили признаки, указывающие, что соотношение проводимости (выраженной в мСм/см) и общего количества белка в растворе молочного сывороточного белка (выраженного в вес. % общего белка относительно общего веса раствора молочного сывороточного белка) предпочтительно можно поддерживать на уровне или ниже определенного порогового значения с целью облегчения кристаллизации BLG.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения соотношение проводимости и общего количества белка в растворе молочного сывороточного белка составляет не более 0,3. Предпочтительно соотношение проводимости и общего количества белка в растворе молочного сывороточного белка составляет не более 0,25. Предпочтительно соотношение проводимости и общего количества белка в растворе молочного сывороточного белка составляет не более 0,20. Более предпочтительно соотношение проводимости и общего количества белка в растворе молочного сывороточного белка составляет не более 0,18. Еще более предпочтительно соотношение проводимости и общего количества белка в растворе молочного сывороточного белка составляет не более 0,12. Наиболее предпочтительно соотношение проводимости и общего количества белка в растворе молочного сывороточного белка составляет не более 0,10.

Предпочтительно, например, когда соотношение проводимости и общего количества белка в растворе сывороточного белка составляет прим. 0,07 или даже ниже.

Кроме того, авторы настоящего изобретения выявили, что сырьевой материал на основе молочного сывороточного белка предпочтительно можно подвергать обработке для обеспечения раствора молочного сывороточного белка с проводимостью ультрафильтрата не более 10 мСм/см. Проводимость ультрафильтрата является мерой проводимости фракции небольших молекул жидкости и измеряется согласно примеру 9.10. При использовании собственно термина “проводимость” в данном документе он относится к проводимости представляющей интерес жидкости. Если используют термин “проводимость ультрафильтрата”, то он относится к проводимости низкомолекулярной фракции жидкости и измеряется согласно примеру 9.10.

Предпочтительно проводимость ультрафильтрата раствора молочного сывороточного белка составляет не более 7 мСм/см. Более предпочтительно проводимость ультрафильтрата раствора молочного сывороточного белка может составлять не более 5 мСм/см. Еще более предпочтительно проводимость ультрафильтрата раствора молочного сывороточного белка может составлять не более 3 мСм/см.

Можно использовать даже более низкие значения проводимости ультрафильтрата, которые особенно предпочтительны, если необходимо получить высокий выход BLG. Таким образом, предпочтительно проводимость ультрафильтрата раствора молочного сывороточного белка составляет не более 1,0 мСм/см. Более предпочтительно проводимость ультрафильтрата раствора молочного сывороточного белка может составлять не более 0,4 мСм/см. Еще более предпочтительно проводимость ультрафильтрата раствора молочного сывороточного белка может составлять не более 0,1 мСм/см. Наиболее предпочтительно проводимость ультрафильтрата раствора молочного сывороточного белка может составлять не более 0,04 мСм/см.

Могут быть достигнуты еще более низкие значения проводимости ультрафильтрата, например, воду MilliQ используют в качестве разбавителя при диафильтрации (вода MilliQ имеет проводимость, составляющую прим. 0,06 мкСм/см). Таким образом, проводимость ультрафильтрата раствора молочного сывороточного белка может составлять не более 0,01 мСм/см. Альтернативно проводимость ультрафильтрата раствора молочного сывороточного белка может составлять не более 0,001 мСм/см. Альтернативно проводимость ультрафильтрата раствора молочного сывороточного белка может составлять не более 0,0001 мСм/см.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения получение раствора молочного сывороточного белка включает снижение температуры сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка.

Например, получение раствора молочного сывороточного белка может включать снижение температуры сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка до по меньшей мере 5 градусов С, предпочтительно по меньшей мере 10 градусов С и еще более предпочтительно по меньшей мере 15 градусов С. Например, получение раствора молочного сывороточного белка может включать снижение температуры сырьевого материала на основе сывороточного белка до по меньшей мере 20 градусов С.

Температура сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка, например, может быть снижена до не более 30 градусов С, предпочтительно не более 20 градусов С и еще более предпочтительно до не более 10 градусов С. Авторы выявили, что еще более низкие температуры обеспечивают более

высокую степень перенасыщения, поэтому температуру сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка можно, например, снижать до не более 5 градусов С, предпочтительно до не более 2 градусов С и еще более предпочтительно до не более 0 градусов С. Температура даже может быть ниже 0 градусов С, однако предпочтительно раствор молочного сывороточного белка должен оставаться в состоянии, которое поддается перекачиванию насосом, например, в виде ледяной взвеси.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка представляет собой ледяную взвесь перед иницированием кристаллизации BLG. Альтернативно или дополнительно кристаллизующийся раствор молочного сывороточного белка может превращаться в ледяную взвесь или поддерживаться в виде нее в ходе кристаллизации BLG на стадии b).

В некоторых особенно предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения получение раствора молочного сывороточного белка включает повышение концентрации общего белка в сырьевом материале на основе молочного сывороточного белка. Сырьевой материал на основе молочного сывороточного белка, например, может быть подвергнут одной или нескольким стадиям концентрирования белка, таким как ультрафильтрация, нанофильтрация, обратный осмос и/или выпаривание, за счет чего происходит концентрирование с получением раствора молочного сывороточного белка.

Ультрафильтрация особенно предпочтительна, поскольку она позволяет селективное концентрирование белка, в то же время концентрации солей и углеводов практически не изменяются. Как указано выше, ультрафильтрацию предпочтительно используют как для диафильтрации, так и для концентрирования сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения концентрация BLG в растворе молочного сывороточного белка ниже уровня, при котором происходит самопроизвольная кристаллизация BLG. Таким образом, зачастую предпочтительно останавливать обогащение сырьевого материала на основе сывороточного белка тогда, когда раствор молочного сывороточного белка пребывает в области мета-стабильного состояния, т. е. в перенасыщенной области, в которой кристаллы BLG могут расти при использовании затравки, но в которой кристаллизация не начинается самопроизвольно.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения получение раствора молочного сывороточного белка включает добавление одного или нескольких средств, снижающих активность воды, в сырьевой материал на основе молочного сывороточного белка.

Применимые, но не ограничивающие, примеры таких средств, снижающих активность воды, представляют собой полисахариды и/или полиэтиленгликоль (PEG).

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения получение раствора молочного сывороточного белка включает модифицирование ионного состава сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка, например, с помощью ионного обмена, добавления новых видов ионов, диализа или диафильтрации.

Обычно раствор молочного сывороточного белка получают путем объединения двух или более вышеуказанных стадий способа для обеспечения перенасыщения.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения получение раствора молочного сывороточного белка включает осуществление воздействия на сырьевой материал на основе молочного сывороточного белка с помощью по меньшей мере следующих:

- концентрирование, например, с применением ультрафильтрации, нанофильтрации или обратного осмоса при температуре выше 10 градусов С и
- последующее охлаждение до температуры ниже 10 градусов С.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения получение раствора молочного сывороточного белка включает осуществление воздействия на сырьевой материал на основе молочного сывороточного белка с помощью по меньшей мере следующих:

- концентрирование при показателе pH выше 6,0 и
- последующее снижение показателя pH путем добавления кислоты (например, GDL или катионообменного материала в виде H⁺)

В еще одних предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения получение раствора молочного сывороточного белка включает осуществление на сырьевой материал на основе молочного сывороточного белка с помощью по меньшей мере следующих:

- снижение проводимости, например, путем диафильтрации с применением мембраны, которая задерживает по меньшей мере BLG.

В дополнительных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения получение раствора молочного сывороточного белка включает осуществление воздействия на сырьевой материал на основе молочного сывороточного белка с помощью комбинации по меньшей мере следующих:

- доведения показателя pH до 5-6,
- снижения проводимости путем диафильтрации с применением мембраны, которая задерживает по меньшей мере BLG,
- концентрирования белка, например, с применением ультрафильтрации, нанофильтрации или обратного осмоса при температуре выше 10 градусов С, и
- в завершении, охлаждения до температуры ниже 10 градусов С.

Кроме того, авторы настоящего изобретения, выявили, что выход BLG в способе по настоящему изобретению можно улучшить путем контроля молярного соотношения суммарного количества натрия+калия и суммарного количества кальция и магния. Более высокое относительное количество кальция и магния, очевидно, означает увеличение выхода BLG, и, таким образом, повышается эффективность извлечения BLG в способе по настоящему изобретению.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка из стадии а) характеризуется молярным соотношением Na + K и Ca + Mg не более 4. Более предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) характеризуется молярным соотношением Na + K и Ca + Mg не более 2. Еще более предпочтительно раствор молочного сывороточного

белка из стадии а) характеризуется молярным соотношением Na + K и Ca + Mg не более 1,5 и еще более предпочтительно не более 1,0. Наиболее предпочтительно раствор молочного сывороточного белка из стадии а) характеризуется молярным соотношением Na + K и Ca + Mg не более 0,5, как например, не более 0,2.

Молярное соотношение Na + K и Ca + Mg рассчитывают как $(m_{Na}+m_K)/(m_{Ca}+m_{Mg})$, где m_{Na} представляет содержание элементарного Na в молях, m_K представляет содержание элементарного K в молях, m_{Ca} представляет содержание элементарного Ca в молях, а m_{Mg} представляет содержание элементарного Mg в молях.

Особенно предпочтительно, чтобы раствор молочного сывороточного белка был перенасыщен по BLG путем всаливания и чтобы таким образом BLG мог кристаллизоваться из раствора молочного сывороточного белка в режиме всаливания.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раствор молочного сывороточного белка характеризуется низким содержанием денатурированного белка, особенно если пищевой продукт на основе BLG по настоящему изобретению также должен характеризоваться определенной степенью денатурации белка. Предпочтительно раствор молочного сывороточного белка характеризуется степенью денатурации белка не более 2%, предпочтительно не более 1,5%, более предпочтительно не более 1,0% и наиболее предпочтительно не более 0,8%.

Стадия b) способа включает кристаллизацию по меньшей мере некоторой части BLG в перенасыщенном растворе молочного сывороточного белка.

Особенно предпочтительно, чтобы кристаллизация на стадии b) происходила в режиме всаливания, т. е. в жидкости, которая характеризуется низкой ионной силой и проводимостью. Это отличается от режима высаливания, при котором значительные количества солей добавляют в раствор для активации кристаллизации.

Кристаллизация BLG на стадии b) может, например, включать одно или несколько из следующего:

- ожидания прохождения кристаллизации,
- добавления затравок для кристаллизации,
- еще большего повышения значений степени перенасыщения по BLG и/или
- механического воздействия.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения стадия b) включает добавление затравки для кристаллизации в раствор молочного сывороточного белка. Авторы выявили, что добавление затравки для кристаллизации обеспечивает возможность контроля, когда и где кристаллизация BLG будет проходить, чтобы избежать внезапного закупоривания технологического оборудования и непредвиденных остановок в ходе получения. Например, зачастую целесообразно избегать начала кристаллизации при одновременном концентрировании сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка.

В принципе, можно использовать любой затравочный материал, который инициирует кристаллизацию BLG. Однако предпочтительно, чтобы гидратированные кристаллы BLG или высушенные кристаллы BLG использовались для затравки, чтобы избежать добавления дополнительных примесей в раствор молочного сывороточного белка.

Затравки для кристаллизации могут быть в сухом виде или могут образовывать часть суспензии при добавлении в раствор молочного сывороточного белка. Добавление суспензии, содержащей затравку для кристаллизации, например кристаллы BLG, является предпочтительным в настоящем изобретении, поскольку, как оказалось, это обеспечивает более быстрое начало кристаллизации. Предпочтительно, чтобы такая суспензия, содержащая затравку для кристаллизации, характеризовалась показателем pH в диапазоне 5-6 и проводимостью не более 10 мСм/см.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения по меньшей мере часть затравок для кристаллизации находится в твердой фазе, которая вступает в контакт с раствором молочного сывороточного белка.

Затравки для кристаллизации предпочтительно имеют меньший размер частиц, чем кристаллы BLG требуемого размера. Размер затравок для кристаллизации можно изменять путем удаления наибольших частиц затравок с помощью просеивания или других способов фракционирования по размеру. Уменьшение размера частиц, например, посредством измельчения, можно также осуществлять перед фракционированием частиц по размеру.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения по меньшей мере 90% (вес/вес) затравок для кристаллизации характеризуются размером частиц (измеренным с помощью ситового анализа) в диапазоне 0,1-600 микрон. Например, по меньшей мере 90% (вес/вес) затравок для кристаллизации могут характеризоваться размером частиц в диапазоне 1-400 микрон. Предпочтительно по меньшей мере 90% (вес/вес) затравок для кристаллизации могут характеризоваться размером частиц в диапазоне 5-200 микрон. Более предпочтительно по меньшей мере 90% (вес/вес) затравок для кристаллизации могут характеризоваться размером частиц в диапазоне 5-100 микрон.

Размер частиц и доза затравок для кристаллизации могут быть оптимизированы для обеспечения оптимальной кристаллизации BLG.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения затравки для кристаллизации добавляют в сырьевой материал на основе молочного сывороточного белка перед достижением перенасыщения по BLG, но предпочтительно таким образом, что при достижении перенасыщения по меньшей мере некоторая часть затравок для кристаллизации по-прежнему присутствует. Например, это можно осуществлять с помощью добавления затравки для кристаллизации, когда состояние сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка близко к перенасыщенному, например, в ходе охлаждения, концентрирования и/или корректировки показателя pH, и для достижения перенасыщения перед полным растворением затравки для кристаллизации.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения стадия b) включает еще большее повышение степени перенасыщения по BLG, предпочтительно до степени, при которой сразу же происходит кристаллизация BLG, т. е. не более чем в течение 20 минут, и предпочтительно не более чем в течение 5 минут. Это также называется зоной образования зародышей кристаллизации, где кристаллиты образуются самопроизвольно и начинается процесс кристаллизации.

Например, степень перенасыщения может быть повышена с помощью одного или нескольких из следующих:

- еще большее повышение концентрации белка в растворе молочного сывороточного белка,
- еще большее охлаждение раствор молочного сывороточного белка,
- приведение раствора молочного сывороточного белка к показателю pH, близкому к оптимальному для кристаллизации BLG,
- еще большее снижение проводимости.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения стадия b) включает ожидание образования кристаллов BLG. Это может занимать несколько часов и характерно для раствора молочного сывороточного белка, который лишь незначительно перенасыщен по BLG и в который не добавляли затравок для кристаллизации.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения есть условие, что обеспечение раствора молочного сывороточного белка (стадия a) и кристаллизация BLG (стадия b) происходят в виде двух отдельных стадий.

Однако в других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения стадия b) включает дополнительную корректировку кристаллизации раствора молочного сывороточного белка для повышения степени перенасыщения по BLG или по меньшей мере поддержания перенасыщения. Дополнительная корректировка приводит к повышению выхода кристаллов BLG.

Такая дополнительная корректировка может включать одно или несколько из:

- еще большего повышения концентрации белка в кристаллизующемся растворе молочного сывороточного белка,
- охлаждения кристаллизующегося раствора молочного сывороточного белка до еще более низкой температуры,
- приведения кристаллизующегося раствора молочного сывороточного белка еще ближе к оптимальному для кристаллизации BLG показателю pH,
- еще большего снижения проводимости кристаллизующегося раствора молочного сывороточного белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения кристаллизующийся раствор молочного сывороточного белка поддерживают в зоне мета-стабильного состояния в ходе проведения стадии b) во избежание самопроизвольного образования новых кристаллитов.

Авторы определили структуру кристаллической решетки выделенных кристаллов BLG с помощью рентгеновской кристаллографии и не выявили аналогичного кристалла в предшествующем уровне техники.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения по меньшей мере некоторые кристаллы BLG, полученные в ходе стадии b), имеют ромбическую пространственную группу $P 2_1 2_1 2_1$.

Предпочтительно по меньшей мере некоторые полученные кристаллы BLG имеют ромбическую пространственную группу $P 2_1 2_1 2_1$ и параметры элементарной ячейки $a=68,68 (\pm 5\%) \text{ \AA}$, $b=68,68 (\pm 5\%) \text{ \AA}$ и $c=156,65 (\pm 5\%) \text{ \AA}$; и интегральные углы элементарной ячейки $\alpha=90^\circ$, $\beta=90^\circ$ и $\gamma=90^\circ$.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения по меньшей мере некоторые полученные кристаллы BLG имеют ромбическую пространственную группу $P 2_1 2_1 2_1$ и параметры элементарной ячейки $a=68,68 (\pm 2\%) \text{ \AA}$, $b=68,68 (\pm 2\%) \text{ \AA}$ и $c=156,65 (\pm 2\%) \text{ \AA}$; и интегральные углы элементарной ячейки $\alpha=90^\circ$, $\beta=90^\circ$ и $\gamma=90^\circ$.

Еще более предпочтительно по меньшей мере некоторые полученные кристаллы BLG могут иметь ромбическую пространственную группу $P 2_1 2_1 2_1$ и параметры элементарной ячейки $a=68,68 (\pm 1\%) \text{ \AA}$, $b=68,68 (\pm 1\%) \text{ \AA}$ и $c=156,65 (\pm 1\%) \text{ \AA}$; и интегральные углы элементарной ячейки $\alpha=90^\circ$, $\beta=90^\circ$ и $\gamma=90^\circ$.

Наиболее предпочтительно по меньшей мере некоторые полученные кристаллы BLG имеют ромбическую пространственную группу $P 2_1 2_1 2_1$ и параметры элементарной ячейки $a=68,68 \text{ \AA}$, $b=68,68 \text{ \AA}$ и $c=156,65 \text{ \AA}$; и интегральные углы элементарной ячейки $\alpha=90^\circ$, $\beta=90^\circ$ и $\gamma=90^\circ$.

В некоторых особенно предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения способ предусматривает стадию c) отделения по меньшей мере некоторой части кристаллов BLG из оставшегося раствора молочного сывороточного белка. Это особенно предпочтительно, когда требуется очистка BLG.

Стадия c) может, например, предусматривать отделение кристаллов BLG с достижением содержания твердых веществ, составляющего по меньшей мере 30% (вес/вес). Предпочтительно стадия c) предусматривает отделение кристаллов BLG с достижением содержания твердых веществ, составляющего по меньшей мере 40% (вес/вес). Еще более предпочтительно стадия c) предусматривает отделение кристаллов BLG с достижением содержания твердых веществ, составляющего по меньшей мере 50% (вес/вес).

Авторы выявили, что высокое содержание твердых веществ предпочтительно для очистки BLG, поскольку водная часть, которая сцепляется с выделенными кристаллами BLG, обычно содержит примеси, которых нельзя допускать. Дополнительно высокое содержание твердых веществ снижает энергопотребление для превращения отделенных кристаллов BLG в сухой продукт, как например, порошок, и оно увеличивает выход BLG, полученного в установке для высушивания с заданной мощностью.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения стадия c) предусматривает отделение кристаллов BLG с достижением содержания твердых веществ, составляющего

по меньшей мере 60%. Предпочтительно стадия с) предусматривает отделение кристаллов BLG с достижением содержания твердых веществ, составляющего по меньшей мере 70%. Еще более предпочтительно стадия с) предусматривает отделение кристаллов BLG с достижением содержания твердых веществ, составляющего по меньшей мере 80%.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения отделение на стадии с) включает одну или несколько из следующих технологических операций:

- центрифугирование,
- декантацию,
- фильтрацию,
- осаждение,
- комбинации приведенных выше.

Эти типовые технологические операции хорошо известны специалисту в данной области техники и легко осуществляются. Отделение фильтрацией может, например, включать применение вакуум-фильтрации, динамической фильтрации в тангенциальном потоке (DCF), фильтр-прессов или фильтровальных центрифуг.

Различные размеры пор для фильтрации можно использовать исходя из требуемого выхода. Предпочтительно фильтр позволяет проходить нативному молочному сывороточному белку и небольшим агрегатам, но удерживает кристаллы BLG. Фильтр предпочтительно имеет номинальный размер пор, составляющий по меньшей мере 0,1 микрон. Фильтр может, например, иметь номинальный размер пор, составляющий по меньшей мере 0,5 микрон. Еще более предпочтительно фильтр может иметь номинальный размер пор, составляющий по меньшей мере 2 микрона.

Можно также использовать фильтры с большими размерами пор, и в действительности они предпочтительны, если главным образом большие кристаллы следует отделять от жидкости, содержащей кристаллы BLG. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фильтр имеет номинальный размер пор, составляющий по меньшей мере 5 микрон. Предпочтительно фильтр имеет номинальный размер пор, составляющий по меньшей мере 20 микрон. Еще более предпочтительно фильтр может иметь размер пор, составляющий по меньшей мере 40 микрон.

Фильтр может, например, иметь размер пор в диапазоне 0,03-5000 микрон, как например, 0,1-5000 микрон. Предпочтительно фильтр может иметь размер пор в диапазоне 0,5-1000 микрон. Еще более предпочтительно фильтр может иметь размер пор в диапазоне 5-800 микрон, как например, в диапазоне 10-500 микрон или в диапазоне 50-500 микрон.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения фильтр имеет размер пор в диапазоне 0,03-100 микрон. Предпочтительно фильтр может иметь размер пор в диапазоне 0,1-50 микрон. Более предпочтительно фильтр может иметь размер пор в диапазоне 4-40 микрон. Еще более предпочтительно фильтр может иметь размер пор в диапазоне 5-30 микрон, как например, в диапазоне 10-20 микрон.

Преимущество использования фильтров с размером пор больше 1 микрона состоит в том, что бактерии и другие микроорганизмы также по меньшей мере частично удаляются в ходе отделения и также необязательно в ходе промывания и/или перекристаллизации. Таким образом, способ по настоящему изобретению делает возможным получение высокоочищенного BLG при очень низкой бактериальной нагрузке, за счет чего предупреждается тепловое повреждение белка.

Другим преимуществом использования фильтров с размером пор более 1 микрона является то, что удаление воды и последующее высушивание становится более легким и менее энергозатратным.

Оставшийся раствор молочного сывороточного белка, который отделяют от кристаллов BLG, можно рециркулировать в сырьевой материал на основе молочного сывороточного белка в ходе получения раствора молочного сывороточного белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения на стадии с) используют центрифужный фильтр. В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения на стадии с) используют декантирующую центрифугу. Исходные результаты (см. пример 13) показали, что использование центрифужного фильтра и/или декантирующей центрифуги для отделения кристаллов BLG от маточной жидкости обеспечивает более надежную работу способа, чем, например, вакуум-фильтрация.

Зачастую предпочтительно подвергнуть высушиванию образовавшийся фильтровальный осадок при помощи сушильного газа с целью снижения содержания влаги в фильтровальном осадке и предпочтительно, чтобы сделать возможным отделение фильтровального осадка с фильтра. Применение сушильного газа может составлять часть стадии отделения или альтернативно конечную стадию высушивания, если фильтровальный осадок превращается непосредственно в сухую пищевую композицию на основе BLG.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения на стадии с) используют установку для DCF.

Исходные испытания (см. пример 12) показали, что использование установки для DCF с размером пор мембраны в диапазоне 0,03-5 микрон и предпочтительно в диапазоне 0,3-1,0 микрон обеспечивает эффективное отделение кристаллов BLG, и авторы наблюдали, что установка для DCF может функционировать в течение периода времени, достаточного для отделения кристаллов от даже больших партий раствора молочного сывороточного белка, содержащего кристаллы BLG.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения стадию с) выполняют с помощью установки для DCF, оснащенной мембраной, способной удерживать кристаллы BLG, при этом фильтрат DCF рециркулируют с получением части раствора молочного сывороточного белка или сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка, и при этом ретентат DCF можно извлекать или возвращать в резервуар для кристаллизации. Предпочтительно фильтрат DCF обрабатывают, например, ультра-/диафильтрацией, чтобы сделать его перенасыщенным по BLG перед смешиванием с раствором молочного сывороточного белка или сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка.

Предпочтительно в этих вариантах осуществления не требуется повышение температуры жидких потоков повышалась выше 15 градусов С, поэтому они менее склонны к микробному загрязнению, чем варианты способа, в которых требуются более высокие температуры. Другим промышленным преимуществом этих вариантов осуществления является то, что уровень перенасыщения легко контролируется и его можно поддерживать на том уровне, при котором нежелательно возникновение самопроизвольной кристаллизации. Таким образом, температура жидких потоков в этих вариантах осуществления способа составляет предпочтительно не более 15 градусов С, более предпочтительно не более 12 градусов С и еще более предпочтительно не более 10 градусов С, а наиболее предпочтительно не более 5 градусов С.

Эти варианты осуществления представлены в виде примера в примере 10 и показаны на фиг. 26. Эти варианты осуществления можно осуществлять или в виде периодических способов, или в виде непрерывного способа.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения способ предусматривает стадию d) промывания кристаллов BLG, например, отделенных на стадии c) кристаллов BLG. Промывание может состоять из одной стадии промывания или из множества стадий промывания.

Стадия d) промывания предпочтительно включает приведение кристаллов BLG в контакт с промывающей жидкостью без полного растворения кристаллов BLG и последующее отделение оставшихся кристаллов BLG от промывающей жидкости.

Промывающую жидкость предпочтительно выбирают так, чтобы избежать полного растворения кристаллов BLG, и она может, например, содержать холодную деминерализованную воду, холодную водопроводную воду или холодный фильтрата, полученный обратным осмосом, или даже состоять по сути из них.

Промывающая жидкость может характеризоваться pH в диапазоне 5-6, предпочтительно в диапазоне 5,0-6,0 и даже более предпочтительно в диапазоне 5,1-6,0, как например, в диапазоне 5,1-5,9.

Промывающая жидкость может характеризоваться проводимостью не более 0,1 мСм/см, предпочтительно не более 0,02 мСм/см и еще более предпочтительно не более 0,005 мСм/см.

Можно использовать промывающие жидкости с еще более низкими значениями проводимости. Например, промывающая жидкость может характеризоваться проводимостью не более 1 мСм/см. Альтернативно промывающая жидкость может характеризоваться проводимостью не более 0,1 мСм/см, как например, прим. 0,05 мСм/см.

Стадию промывания предпочтительно проводят при низкой температуре с целью ограничения растворения кристаллизованного BLG. Температура промывающей жидкости предпочтительно составляет не более 30 градусов С, более предпочтительно не более 20 градусов С и еще более предпочтительно не более 10 градусов С.

Например, стадию промывания можно проводить при не более 5 градусах С, более предпочтительно при не более 2 градусах С, например, при прим. 0 градусах С. Температуры ниже 0 градусов С можно использовать

до тех пор, пока промывающая жидкость не замерзнет при этой температуре, например, за счет присутствия одного или более веществ, понижающих точку замерзания температуры замерзания.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения промывающая жидкость содержит BLG, например, в количестве по меньшей мере 1% (вес/вес), а предпочтительно в количестве по меньшей мере 3% (вес/вес), как например, в количестве 4% (вес/вес).

В ходе стадии промывания d) обычно растворяется не более 80% (вес/вес) от исходного количества кристаллов BLG, предпочтительно не более 50% (вес/вес) и еще более предпочтительно не более 20% (вес/вес) от исходного количества кристаллов BLG. Предпочтительно в ходе стадии промывания d) растворяется не более 15% (вес/вес) от исходного количества кристаллов BLG, более предпочтительно не более 10% (вес/вес) и еще более предпочтительно не более 5% (вес/вес) исходного количества кристаллов BLG.

Соотношение по весу общего количества промывающей жидкости и исходного количества отделенных кристаллов BLG зачастую составляет по меньшей мере 1, предпочтительно по меньшей мере 2 и более предпочтительно по меньшей мере 5. Например, соотношение по весу количества промывающей жидкости и исходного количества отделенных кристаллов BLG может составлять по меньшей мере 10. Альтернативно соотношение по весу общего количества промывающей жидкости и исходного количества отделенных кристаллов BLG может составлять по меньшей мере 20, например, по меньшей мере 50 или по меньшей мере 100.

Термин “общее количество промывающей жидкости” относится к общему количеству промывающей жидкости, используемому в ходе всего способа.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения одна или несколько последовательностей промывания происходят в одном и том же фильтровальном устройстве или в аналогичном фильтровальном устройстве, где и отделение кристаллов BLG. К фильтровальному осадку, главным образом содержащему кристаллы BLG, добавляют промывочную жидкость один или несколько раз в определенной последовательности, которую удаляют через фильтр, тогда как остальная часть кристаллов BLG остается в фильтровальном осадке.

В особенно предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения стадию c) отделения проводят с помощью фильтра, который удерживает кристаллы BLG. Затем фильтровальный осадок приводят в контакт с одним или несколькими количествами промывающей жидкости, которая проходит через фильтровальный осадок и фильтр. Зачастую предпочтительно, чтобы количество промывающей жидкости в каждом случае не более чем в 10 раз превышало по объему фильтровальный осадок, предпочтительно не более чем в 5 раз превышало по объему фильтровальный осадок, более предпочтительно не более чем в 1 раз превышало по объему фильтровальный осадок, еще более предпочтительно не более чем в 0,5 раза превышало по объему фильтровальный осадок, как например, не более чем в 0,2 раза превышало по объему фильтровальный осадок. В объеме фильтровального осадка содержатся и твердые вещества, и жидкости (жидкости и газы) фильтровального осадка. Фильтровальный

осадок предпочтительно промывают таким образом по меньшей мере 2 раза, предпочтительно по меньшей мере 4 раза и еще более предпочтительно по меньшей мере 6 раз.

Использованную на стадии d) промывающую жидкость можно, например, рециркулировать в сырьевой материал на основе молочного сывороточного белка или раствор молочного сывороточного белка, где промытый BLG можно выделять снова.

Кроме того, способ может предусматривать стадию e), которая включает стадию перекристаллизации, предусматривающую:

- растворение отделенных кристаллов BLG в жидкости для перекристаллизации,
- корректировку свойств жидкости для перекристаллизации с достижением перенасыщения по BLG,
- кристаллизацию BLG в перенасыщенной жидкости для перекристаллизации с откорректированными свойствами и
- отделение кристаллов BLG от оставшейся жидкости для перекристаллизации с откорректированными свойствами.

Стадия e) может предусматривать или одну последовательность перекристаллизации, или множество последовательностей повторной кристаллизации.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кристаллы BLG или из стадии c), или из стадии d) подвергают перекристаллизации по меньшей мере 2 раза. Например, кристаллы BLG можно подвергать перекристаллизации по меньшей мере 3 раза, например, по меньшей мере 4 раза.

Стадии промывания и повторной кристаллизации можно объединять в любой последовательности и можно проводить много раз при необходимости.

Отделенные на стадии c) кристаллы BLG можно, например, подвергнуть обработке с помощью последовательности следующих технологических процессов:

- одна или несколько стадий промывания (стадия d) с последующими
- одной или несколькими стадиями перекристаллизации (стадия e).

Альтернативно отделенные на стадии c) кристаллы BLG можно подвергнуть обработке с помощью последовательности технологических операций:

- одна или несколько стадий перекристаллизации (стадия e) с последующей
- одной или несколькими стадиями промывания (стадия d).

Также можно объединять несколько стадий промывания и перекристаллизации, например, в такой последовательности:

- одна или несколько стадий промывания (стадия d),
- одна или несколько стадий перекристаллизации (стадия e),
- одна или несколько стадий промывания (стадия d) и
- одна или несколько стадий перекристаллизации (стадия e).

Или, например, в такой последовательности:

- одна или несколько стадий перекристаллизации (стадия e),
- одна или несколько стадий промывания (стадия d),
- одна или несколько стадий перекристаллизации (стадия e),
- одна или несколько стадий промывания (стадия d).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения способ, кроме того, включает воздействие на отделенный BLG с помощью дополнительных стадий обогащения по BLG, например, на основе хроматографии или селективной фильтрации. Однако в других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения способ не включает дополнительных стадий обогащения по BLG после стадии b). Под термином “стадия дополнительного обогащения по BLG” подразумевают стадию способа, с помощью которой обогащают по BLG относительно общего количества белка, при этом стадия не относится к кристаллизации BLG или обработке кристаллов BLG. Пример такой стадии дополнительного обогащения по BLG представляет собой ионообменную хроматографию. Промывание кристаллов BLG и/или перекристаллизация BLG не считается “стадией дополнительного обогащения по BLG”.

В некоторых особенно предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения способ включает стадию f) высушивания, где содержащую BLG композицию, полученную на стадиях b), c), d) или e), превращают в сухую композицию.

В контексте настоящего изобретения термин “сухой” означает, что представляющие интерес композиция или продукт содержат не более 6% (вес/вес) воды и предпочтительно еще меньше.

В контексте настоящего изобретения термин “содержащая BLG композиция” используется для описания композиции, которую подвергают стадии f) высушивания.

В контексте настоящего изобретения “содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e)”, означает композицию, которая содержит по меньшей мере некоторую часть BLG из стадии b), c), d) или e). В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения “содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e)”, непосредственно получена на стадиях b), c), d) или e). Однако в других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения “содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e)”, является результатом дополнительной обработки композиции, полученной непосредственно на стадиях b), c), d) или e).

Зачастую предпочтительно, чтобы содержащая BLG композиция содержала значительное количество BLG, присутствующего в композиции, полученной непосредственно на стадиях b), c), d) или e). В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e), содержит по меньшей мере 50% (вес/вес) BLG, полученного на стадиях b), c), d) или e), предпочтительно по меньшей мере 70% и еще более предпочтительно по меньшей мере 80%.

Предпочтительно содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e), содержит по меньшей мере 85% (вес/вес) BLG, полученного на стадиях b), c), d) или e). Более предпочтительно содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e), содержит по меньшей мере 90% (вес/вес) BLG, полученного на стадиях b), c), d) или e). Еще более предпочтительно содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e), содержит по меньшей мере 95% (вес/вес) BLG, полученного на стадиях b), c), d) или e). Наиболее предпочтительно содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e), содержит 100% (вес/вес) BLG, полученного на стадиях b), c), d) или e).

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения стадия высушивания включает одно или несколько из высушивания распылением, высушивания лиофилизацией, центробежного аэрофонтанного высушивания, высушивания во вращающемся барабане и/или высушивания в псевдоожиженном слое.

В некоторых особенно предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения стадия высушивания включает содержащую BLG композицию, в которой кристалл BLG был растворен, и при этом полученный порошок не содержит кристаллы BLG, образовавшиеся на стадии b) или посредством перекристаллизации до стадии высушивания. Эти варианты осуществления предпочтительны в том случае, если пищевая композиция на основе BLG должна иметь сходство с, например, обычным высушенным порошком молочного сывороточного белка.

Например, кристаллы BLG могут быть растворены путем:

- повышения температуры,
- повышения проводимости, например, путем добавления одной или нескольких солей,
- изменения показателя pH, например, не в пределах диапазона 5-6,
- снижения концентрации BLG, например, путем разбавления,
- или комбинации приведенных выше.

Высушивание распылением является в данном случае предпочтительным способом высушивания содержащей BLG композиции, которая не содержит кристаллы BLG.

В других особенно предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения стадия высушивания включает содержащую BLG композицию, которая по-прежнему содержит кристаллы BLG, и где полученный порошок содержит кристаллы BLG. Эти варианты осуществления предпочтительны в том случае, если пищевая композиция на основе BLG должна иметь более высокую плотность, чем традиционный высушенный порошок молочного сывороточного белка.

В некоторых особенно предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения стадия высушивания включает содержащую BLG композицию, которая по-прежнему содержит кристаллы BLG, и где полученный порошок содержит кристаллы BLG. Эти варианты осуществления предпочтительны в том случае, если пищевая композиция на основе BLG должна иметь более высокую плотность, чем традиционный высушенный порошок молочного сывороточного белка.

В примере 7 изложено, что авторы настоящего изобретения выявили, что высушивание распылением суспензии кристаллов BLG с сохранением при этом по меньшей мере некоторой структуры кристаллов является возможным, если высушенные кристаллы BLG повторно суспендируют в холодной деминерализованной воде. Особенно предпочтительно избегать воздействия на содержащую BLG композицию, содержащую кристаллы BLG, режимом тепловой обработки, который растворяет значительное количество кристаллов BLG перед распылением. Таким образом, если предварительное нагревание содержащей BLG композиции, содержащей кристаллы BLG, используют перед распылением, предпочтительно тщательно контролировать тепловую нагрузку.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения содержащая BLG композиция, содержащая кристаллы BLG, имеет температуру не более 70 градусов С на выходе из распылительного устройства (например, форсунки или атоизатора), предпочтительно не более 60 градусов С, более предпочтительно не более 50 градусов С. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения содержащая BLG композиция, содержащая кристаллы BLG, имеет температуру не более 40 градусов С на выходе из распылительного устройства, предпочтительно не более 30 градусов С, более предпочтительно не более 20 градусов С, еще более предпочтительно не более 10 градусов С и наиболее предпочтительно не более 5 градусов С.

Распылительное устройство распылительной сушилки представляет устройство, например, форсунку или атоизатор, которое превращает раствор или суспензию, предназначенную для высушивания, в капли, которые поступают в сушильную камеру распылительной сушилки.

Особенно предпочтительно, чтобы содержащая BLG композиция, содержащая кристаллы BLG, имела температуру в диапазоне 0-50 градусов С на выходе из распылительного устройства, предпочтительно в диапазоне 2-40 градусов С, более предпочтительно в диапазоне 4-35 градусов С и наиболее предпочтительно в диапазоне 5-10 градусов С на выходе из распылительного устройства.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения содержащая BLG композиция характеризуется степенью кристалличности BLG, составляющей по меньшей мере 20%, на выходе из распылительного устройства, предпочтительно по меньшей мере 40%, более предпочтительно по меньшей мере 60%, еще более предпочтительно по меньшей мере 80% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 90%, как например, предпочтительно 97-100%. Содержащая BLG композиция может быть или изолятом BLG, например, содержать BLG в количестве более 90% (вес/вес) относительно общего белка, или она может содержать значительные количества других белков и поэтому содержать BLG в количестве не более 90% (вес/вес) относительно общего белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения содержащая BLG композиция может иметь белковую композицию в виде обычного жидкого WPC или WPI или обычного жидкого SPC или SPI, как описано в данном документе, но характеризоваться кристалличностью BLG, составляющей по меньшей мере 20%, на выходе из распылительного устройства, предпочтительно по меньшей мере 40%, более предпочтительно по меньшей мере 60%, еще более предпочтительно по меньшей мере 80% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 90%, как например, предпочтительно 97-100%.

Температура газа на входе в распылительную сушилку предпочтительно находится в диапазоне 140-220 градусов С, более предпочтительно в диапазоне 160-200 градусов С и еще более предпочтительно в диапазоне 170-190 градусов С, как например, предпочтительно приблизительно 180 градусов С. Температура газа на выходе из распылительной сушилки предпочтительно находится в диапазоне 50-95 градусов С, более предпочтительно в диапазоне 70-90 градусов С и еще более предпочтительно в диапазоне 80-88 градусов С, как например, предпочтительно приблизительно 85 градусов С. Как правило, твердые вещества, которые подвергают высушиванию распылением, считаются нагретыми до температуры, которая на 10-15 градусов С меньше температуры газа на выходе.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения температура в распылительной сушилке находится предпочтительно в диапазоне 50-85 градусов С, более предпочтительно в диапазоне 60-80 градусов С и еще более предпочтительно в диапазоне 65-75 градусов С, как например, предпочтительно приблизительно 70 градусов С.

Идея высушивания распылением суспензии кристаллов BLG не была раскрыта в предшествующем уровне техники и сама по себе является отдельным аспектом настоящего изобретения.

Таким образом, аспект настоящего изобретения относится к способу получения высушенной распылением пищевой порошкообразной композиции, содержащей BLG, при этом указанная композиция содержит высушенные кристаллы BLG, при этом способ предусматривает стадии:

- обеспечения жидкой содержащей BLG композиции, содержащей кристаллы BLG, и предпочтительно характеризующейся степенью кристалличности BLG, составляющей по меньшей мере 20%, при этом указанная жидкая содержащая BLG композиция предпочтительно содержит по меньшей мере 10% (вес/вес) от общего количества твердых веществ и предпочтительно содержит по меньшей мере 5% (вес/вес) BLG, и
- атомизации жидкой содержащей BLG композиции в сушильной камере работающей распылительной сушилки для превращения жидкой содержащей BLG композиции, содержащей кристаллы BLG, в порошок.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения содержащую BLG композицию, предназначенную для высушивания, смешивают с сухим изолятом BLG для повышения содержания твердых веществ до такого уровня, при котором смесь может быть высушена с помощью высушивания в псевдооживленном слое. Это также называется обратным смешиванием и обеспечивает возможность осуществления высокорентабельного высушивания продукта на основе BLG. Эти варианты осуществления особенно предпочтительны для содержащих BLG композиций, которые содержат кристаллы BLG.

Преимущество способа по настоящему изобретению заключается в том, что содержащая BLG композиция, которая предназначена для высушивания, может характеризоваться очень высоким содержанием твердых веществ до стадии высушивания, и, таким образом, меньшее количество воды необходимо удалить и меньше энергии расходуется в ходе технологической операции высушивания.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e), характеризуется содержанием твердых веществ,

составляющим по меньшей мере 20% (вес/вес). Предпочтительно содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e), характеризуется содержанием твердых веществ, составляющим по меньшей мере 30% (вес/вес). Более предпочтительно содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e), характеризуется содержанием твердых веществ, составляющим по меньшей мере 40% (вес/вес). Еще более предпочтительно содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e), характеризуется содержанием твердых веществ, составляющим по меньшей мере 50% (вес/вес), как например, по меньшей мере 60% (вес/вес).

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e), характеризуется содержанием твердых веществ в диапазоне 20-80% (вес/вес). Предпочтительно содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e), характеризуется содержанием твердых веществ в диапазоне 30-70% (вес/вес). Более предпочтительно содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e), характеризуется содержанием твердых веществ в диапазоне 40-65% (вес/вес). Еще более предпочтительно содержащая BLG композиция, полученная на стадиях b), c), d) или e), характеризуется содержанием твердых веществ в диапазоне 50-65% (вес/вес), как например, прим. 60% (вес/вес).

Авторы настоящего изобретения выявили, что чем выше степень кристалличности содержащей BLG композиции, тем меньшее количество воды связывается с содержащей BLG композицией и тем более высокого содержания общего количества сухих веществ в содержащей BLG композиции можно достигнуть до стадии высушивания.

Таким образом, в некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения содержащая BLG композиция характеризуется степенью кристалличности BLG, составляющей по меньшей мере 10% (вес/вес). Предпочтительно BLG в содержащей BLG композиции характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 20% (вес/вес). Более предпочтительно BLG в содержащей BLG композиции характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 30% (вес/вес). Еще более предпочтительно BLG в содержащей BLG композиции характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 40% (вес/вес).

Зачастую предпочтительны еще более высокие степени кристалличности. Таким образом, в некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения BLG в содержащей BLG композиции характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 50% (вес/вес). Предпочтительно BLG в содержащей BLG композиции характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 60% (вес/вес). Более предпочтительно BLG из пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 70% (вес/вес). Еще более предпочтительно BLG в содержащей BLG композиции характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 80% (вес/вес). Наиболее предпочтительно BLG в содержащей BLG композиции характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 90% (вес/вес), предпочтительно по меньшей мере 95% (вес/вес), более предпочтительно по меньшей мере 97% (вес/вес) и еще более предпочтительно по меньшей мере 99% (вес/вес).

Авторы выявили, что пониженное содержание воды, как правило, повышает степень кристалличности BLG в композиции. Таким образом, композиции с высоким соотношением вода:BLG (например, 4% суспензия кристаллов BLG в воде), как правило, имеют более низкую степень кристалличности BLG, чем композиции, которые характеризуются более низким соотношением вода:BLG (например, фильтровальный осадок или влажные выделенные кристаллы) при таких же условиях.

Способ по настоящему изобретению может осуществляться при использовании умеренных температур, которые не нарушают питательную ценность ни BLG, ни других молочных сывороточных белков раствора молочного сывороточного белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения BLG не подвергают воздействию температуры выше 90 градусов C в ходе проведения данного способа. Предпочтительно BLG не подвергают воздействию температуры выше 80 градусов C в ходе проведения данного способа. Еще более предпочтительно BLG не подвергают воздействию температуры выше 75 градусов C в ходе проведения данного способа. Следует отметить, что хотя при высушивании распылением зачастую используют температуры, превышающие 150 градусов C, но короткое время воздействия и одновременное выпаривание воды означает, что высушенные распылением белков не подвергаются температур выше 50-70 градусов C.

Авторы выявили признаки того, что длительное нагревание на стадии высушивания снижает количество BLG, который присутствует в кристаллической форме. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения воздействие тепла на стадии высушивания поддерживают достаточно низким с обеспечением степени денатурации BLG не более 10%, предпочтительно не более 4%, более предпочтительно не более 1%, еще более предпочтительно не более 0,4% и еще более предпочтительно не более 0,1%. Наиболее предпочтительно стадия высушивания вообще не приводит к поддающейся выявлению денатурации BLG.

Степень денатурации, обусловленная стадией высушивания, рассчитывается путем определения содержания BLG (относительно общего количества твердых веществ) в композиции на основе BLG, предназначенной для высушивания ($c_{\text{до стадии f}}$), на стадии f) и содержания BLG (относительно общего количества твердых веществ) в повторно растворенной высушенной композиции с использованием формулы:

$$\text{Степень денатурации} = ((c_{\text{до стадии f}} - c_{\text{после стадии f}}) / c_{\text{до стадии f}}) * 100\%$$

Некоторые предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения относятся к способу получения пищевой композиции, содержащей бета-лактоглобулин (BLG) в кристаллической форме, при этом способ предусматривает стадии

а) обеспечения раствора молочного сывороточного белка, содержащего BLG и по меньшей мере один дополнительный молочный сывороточный белок, при этом указанный раствор молочного сывороточного белка является перенасыщенным по BLG и характеризуется показателем pH в диапазоне 5-6, при этом указанный раствор молочного сывороточного белка содержит:

- 70-100% (вес/вес) белка относительно общего количества твердых веществ,

- 30-90% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка и предпочтительно 30-70% (вес/вес) BLG,
- 4-50% (вес/вес) ALA относительно общего количества белка и предпочтительно 8-35% (вес/вес) ALA,
- 0-25% (вес/вес) CMP относительно белка,
- по меньшей мере 10% (вес/вес) белка относительно общего веса раствора молочного сывороточного белка,

b) кристаллизации BLG в перенасыщенном растворе молочного сывороточного белка предпочтительно путем добавления затравок для кристаллизации, и

f) высушивания содержащей BLG композиции, которую получают непосредственно на стадии b), при этом указанная содержащая BLG композиция предпочтительно характеризуется степенью кристалличности BLG, составляющей по меньшей мере 30%,

при этом способ не включает стадии c), d) или e).

Раствор молочного сывороточного белка предпочтительно представляет собой деминерализованный раствор молочного сывороточного белка и характеризуется предпочтительным соотношением проводимости и общего количества белка не более 0,3 и/или проводимостью ультрафильтрата не более 7 мСм/см.

В этих вариантах осуществления кристаллы BLG не отделяют от раствора молочного сывороточного белка, а сушат и получают пищевую композицию на основе BLG с высокой плотностью в виде порошка.

Кроме того, настоящее изобретение относится к пищевым композициям, получаемым с помощью этих вариантов осуществления.

Другие предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения относятся к способу получения пищевой композиции, содержащей бета-лактоглобулин (BLG) в кристаллизованной форме, при этом способ предусматривает стадии

a) обеспечения раствора молочного сывороточного белка, содержащего BLG и по меньшей мере один дополнительный молочный сывороточный белок, при этом указанный раствор молочного сывороточного белка является перенасыщенным по BLG и характеризуется показателем pH в диапазоне 5-6, при этом указанный раствор молочного сывороточного белка содержит:

- 70-100% (вес/вес) белка относительно общего количества твердых веществ,
- 30-90% (вес/вес) BLG относительно общего белка и предпочтительно 30-70%,
- 4-50% (вес/вес) ALA относительно общего белка и предпочтительно 8-35%,
- 0-25% (вес/вес) CMP относительно общего белка,
- по меньшей мере 10% (вес/вес) белка относительно общего веса раствора молочного сывороточного белка,

b) кристаллизации BLG в перенасыщенном растворе молочного сывороточного белка предпочтительно путем добавления затравок для кристаллизации,

c) отделения кристаллов BLG от остального раствора молочного сывороточного белка,

d) необязательно промывания отделенных кристаллов BLG, полученных на стадии c),

е) необязательно перекристаллизации кристаллов BLG, полученных на стадии с) или d), и

ф) высушивания содержащей BLG композиции, полученной на и предпочтительно непосредственно полученной на стадиях с), d) или е), при этом содержащая BLG композиция содержит кристаллы BLG и предпочтительно характеризуется степенью кристалличности BLG, составляющей по меньшей мере 30%.

Раствор молочного сывороточного белка предпочтительно представляет собой деминерализованный раствор молочного сывороточного белка и характеризуется предпочтительным соотношением проводимости и общего количества белка не более 0,3 и/или проводимостью ультрафильтрата не более 7 мСм/см.

Эти варианты осуществления особенно применимы для получения пищевых композиций на основе BLG с низким содержанием минеральных веществ и фосфора в виде порошков высокой плотности.

Кроме того, настоящее изобретение относится к пищевым композициям, получаемым с помощью этих вариантов осуществления.

Еще одни предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения относятся к способу получения пищевой композиции, содержащей бета-лактоглобулин в выделенной форме, при этом способ предусматривает стадии

а) обеспечения раствора молочного сывороточного белка, содержащего BLG и по меньшей мере один дополнительный молочный сывороточный белок, при этом указанный раствор молочного сывороточного белка является перенасыщенным по BLG и характеризуется показателем pH в диапазоне 5-6, при этом указанный раствор молочного сывороточного белка содержит:

- 70-100% (вес/вес) белка относительно общего количества твердых веществ,
- 30-90% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка и предпочтительно 30-70% (вес/вес) BLG,
- 5-50% (вес/вес) ALA относительно общего количества белка и предпочтительно 8-35% (вес/вес) ALA,
- 0-25% (вес/вес) CMP относительно общего белка,
- по меньшей мере 10% (вес/вес) белка относительно общего веса раствора молочного сывороточного белка,

б) кристаллизации BLG в перенасыщенном растворе молочного сывороточного белка предпочтительно путем добавления затравок для кристаллизации,

с) отделения кристаллов BLG от остального раствора молочного сывороточного белка,

д) необязательно промывания отделенных кристаллов BLG, полученных на стадии с),

е) необязательно перекристаллизации кристаллов BLG, полученных на стадии с) или d), и

ф) высушивания содержащей BLG композиции, полученной на стадиях с), d) или е), при этом содержащая BLG композиция не содержит кристаллы BLG.

Раствор молочного сывороточного белка предпочтительно представляет собой деминерализованный раствор молочного сывороточного белка и характеризуется предпочтительным соотношением проводимости и общего количества белка не более 0,3 и/или проводимостью ультрафильтрата не более 7 мСм/см.

В этих вариантах осуществления кристаллы BLG растворяют перед высушиванием.

Кроме того, настоящее изобретение относится к пищевым композициям, получаемым с помощью этих вариантов осуществления.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления способ по настоящему изобретению осуществляют как периодический процесс. Альтернативно и иногда предпочтительно способ можно осуществлять как полунепрерывный процесс. В других предпочтительных вариантах осуществления способ осуществляют как непрерывный процесс.

Преимущество настоящего способа состоит в том, что он намного быстрее, чем сравнительные способы кристаллизации BLG из предшествующего уровня техники. Длительность от начальной корректировки сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка до завершения разделения на стадии с может составлять не более 10 часов, предпочтительно не более 4 часов, более предпочтительно не более 2 часов и еще более предпочтительно не более 1 часа.

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к выделенному кристаллу BLG, получаемому с помощью способа, описанного в данном документе.

В контексте настоящего изобретения термин “выделенный кристалл BLG” относится к кристаллу BLG, который был отделен от раствора, в котором он образовался, но который по-прежнему может содержать внутреннюю воду, т. е. воду, гидратирующую молекулы BLG кристалла.

Выделенный кристалл BLG предпочтительно имеет ромбическую пространственную группу $P 2_1 2_1 2_1$.

Предпочтительно выделенный кристалл BLG имеет ромбическую пространственную группу $P 2_1 2_1 2_1$ и параметры элементарной ячейки $a=68,68 (\pm 5\%) \text{ \AA}$, $b = 68,68 (\pm 5\%) \text{ \AA}$ и $c = 156,65 (\pm 5\%) \text{ \AA}$; и имеет интегральные углы элементарной ячейки $\alpha=90^\circ (\pm 2\%)$, $\beta=90^\circ (\pm 2\%)$ и $\gamma=90^\circ (\pm 2\%)$.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения выделенный кристалл BLG имеет ромбическую пространственную группу $P 2_1 2_1 2_1$ и параметры элементарной ячейки $a=68,68 (\pm 2\%) \text{ \AA}$, $b=68,68 (\pm 2\%) \text{ \AA}$ и $c=156,65 (\pm 2\%) \text{ \AA}$; и имеет интегральные углы элементарной ячейки $\alpha=90^\circ (\pm 1\%)$, $\beta=90^\circ (\pm 1\%)$ и $\gamma=90^\circ (\pm 1\%)$.

Еще более предпочтительно выделенный кристалл BLG может иметь ромбическую пространственную группу $P 2_1 2_1 2_1$ и параметры элементарной ячейки $a=68,68 (\pm 1\%) \text{ \AA}$, $b=68,68 (\pm 1\%) \text{ \AA}$ и $c=156,65 (\pm 1\%) \text{ \AA}$; и иметь интегральные углы элементарной ячейки $\alpha=90^\circ (\pm 0,5\%)$, $\beta=90^\circ (\pm 0,5\%)$ и $\gamma=90^\circ (\pm 0,5\%)$.

Наиболее предпочтительно выделенный кристалл BLG имеет ромбическую пространственную группу $P 2_1 2_1 2_1$ и параметры элементарной ячейки $a=68,68 \text{ \AA}$, $b=68,68 \text{ \AA}$ и $c=156,65 \text{ \AA}$; и имеет интегральные углы элементарной ячейки $\alpha=90^\circ$, $\beta=90^\circ$ и $\gamma=90^\circ$.

Выделенный кристалл BLG может, например, содержать по меньшей мере 20% (вес/вес) BLG и не более 80% (вес/вес) воды. Предпочтительно выделенный кристалл BLG может содержать по меньшей мере 40%

(вес/вес) BLG и воду в диапазоне 0-60% (вес/вес). Еще более предпочтительно выделенный кристалл BLG содержит BLG в диапазоне 40-60% (вес/вес) и воду в диапазоне от приблизительно 40 до приблизительно 60% (вес/вес).

Авторы настоящего изобретения выявили, что кристаллы BLG по настоящему изобретению неожиданно обладают способностью к восстановлению своей исходной кристаллической структуры после высушивания и регидратации. Это особенно предпочтительно в вариантах применения, для которых кристаллическая структура дает определенные преимущества BLG.

Еще аспект настоящего изобретения относится к пищевой композиции, содержащей бета-лактоглобулин, например, к пищевой композиции, получаемой с помощью способа, определенного в данном документе.

Другой аспект настоящего изобретения относится к пищевой композиции на основе BLG, содержащей по меньшей мере 90% (вес/вес) BLG относительно общего количества твердых веществ. Такая пищевая композиция на основе BLG может быть получена с помощью способа, определенного в данном документе.

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к пищевой композиции на основе BLG, содержащей высушенные кристаллы BLG, по меньшей мере 20% (вес/вес) BLG относительно общего количества твердых веществ, и предпочтительно характеризующейся кристалличностью по BLG по меньшей мере 20%. Такая пищевая композиция на основе BLG, содержащая высушенные кристаллы BLG, может быть получена с помощью способа, определенного в данном документе.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью лактозилирования не более 1. Предпочтительно BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью лактозилирования не более 0,6. Более предпочтительно BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью лактозилирования не более 0,4. Еще более предпочтительно BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью лактозилирования не более 0,2. Наиболее предпочтительно BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью лактозилирования не более 0,1, как например, предпочтительно не более 0,01.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения BLG в пищевой композиции на основе BLG содержит по меньшей мере 90% (вес/вес) нелактозилированного BLG, предпочтительно по меньшей мере 95% (вес/вес) нелактозилированного BLG и еще более предпочтительно по меньшей мере 98% (вес/вес) нелактозилированного BLG.

Процент нелактозилированного BLG определяют согласно примеру 9.1.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 10% (вес/вес). Предпочтительно BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 20% (вес/вес). Более предпочтительно BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере

30% (вес/вес). Еще более предпочтительно BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 40% (вес/вес).

Зачастую предпочтительны еще более высокие степени кристалличности. Таким образом, в некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 50% (вес/вес). Предпочтительно BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 60% (вес/вес). Более предпочтительно BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 70% (вес/вес). Еще более предпочтительно BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 80% (вес/вес). Наиболее предпочтительно BLG в пищевой композиции на основе BLG характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 90% (вес/вес) и предпочтительно по меньшей мере 95% (вес/вес).

Степень кристалличности BLG в жидкости с показателем pH в диапазоне 5-6 измеряют согласно примеру 9.7. Степень кристалличности BLG в порошкообразном материале измеряют согласно примеру 9.8. Если пищевая композиция представляет собой сухой продукт, но не в виде порошка, его следует превратить в порошок, например, посредством измельчения или размалывания, перед воздействием с помощью способа из примера 9.8.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG представляет собой WPC, WPI, SPC или SPI, в которых по меньшей мере часть BLG присутствует в кристаллической форме. Пищевая композиция на основе BLG может, например, содержать не более 90% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка и характеризуется кристалличностью BLG, составляющей по меньшей мере 10%. Например, пищевая композиция на основе BLG может содержать не более 80% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка и характеризоваться кристалличностью BLG, составляющей по меньшей мере 10%. Например, пищевая композиция на основе BLG может содержать 30-70% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка и характеризоваться степенью кристалличностью BLG, составляющей по меньшей мере 10%.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG содержит не более 90% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка и характеризуется степенью кристалличность BLG, составляющей по меньшей мере 30%. Предпочтительно пищевая композиция на основе BLG может содержать не более 80% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка и характеризоваться кристалличностью BLG, составляющей по меньшей мере 30%. Еще более предпочтительно пищевая композиция на основе BLG может содержать 30-70% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка и характеризоваться степенью кристалличностью BLG, составляющей по меньшей мере 30%.

Авторы настоящего изобретения выявили, что настоящее изобретение делает возможным получение пищевого продукта на основе молочного сывороточного белка с очень низким содержанием фосфора и

других минеральных веществ, что предпочтительно для пациентов, страдающих заболеваниями почек, или у которых в той или иной степени снижена функция почек.

Пищевая композиция на основе BLG предпочтительно представляет собой композицию с низким содержанием фосфора.

В контексте настоящего изобретения термин “с низким содержанием фосфора” относится к композиции, например, к жидкости, порошку или другому продукту питания, которая характеризуется общим содержанием фосфора, составляющим не более 100 мг фосфора на 100 г белка. Предпочтительно композиция с низким содержанием фосфора характеризуется общим содержанием, составляющим не более 80 мг фосфора на 100 г белка. Более предпочтительно композиция с низким содержанием фосфора может характеризоваться общим содержанием, составляющим не более 50 мг фосфора на 100 г белка. Еще более предпочтительно композиция с низким содержанием фосфора может характеризоваться общим содержанием фосфора, составляющим не более 20 мг фосфора на 100 г белка. Еще более предпочтительно композиция с низким содержанием фосфора может характеризоваться общим содержанием фосфора, составляющим не более 5 мг фосфора на 100 г белка. Композиции с низким содержанием фосфора согласно настоящему изобретению можно использовать как пищевой ингредиент для получения продукта питания, предназначенного для групп пациентов, у которых снижена функция почек.

Таким образом, в некоторых особенно предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG содержит не более 80 мг фосфора на 100 г белка. Предпочтительно пищевая композиция на основе BLG содержит не более 30 мг фосфора на 100 г белка. Более предпочтительно пищевая композиция на основе BLG содержит не более 20 мг фосфора на 100 г белка. Еще более предпочтительно пищевая композиция на основе BLG содержит не более 10 мг фосфора на 100 г белка. Наиболее предпочтительно пищевая композиция на основе BLG содержит не более 5 мг фосфора на 100 г белка.

Содержание фосфора относится к общему количеству элементарного фосфора в представляющей интерес композиции и определяется согласно примеру 9.5.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG представляет собой композицию с низким содержанием минеральных веществ.

В контексте настоящего изобретения термин “с низким содержанием минеральных веществ” относится к композиции, например, к жидкости, порошку или другому продукту питания, которая характеризуется по меньшей мере одним, предпочтительно двумя и еще более предпочтительно всеми из следующих:

- содержание зольных веществ не более 1,2% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ,
- общее содержание кальция и магния не более 0,3% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ,
- общее содержание натрия и калия не более 0,10% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ,

- общее содержание фосфора не более 100 мг фосфора на 100 г белка.

Предпочтительно композиция с низким содержанием минеральных веществ характеризуется по меньшей мере одним, предпочтительно двумя или более и еще более предпочтительно всеми из следующих:

- содержание зольных веществ не более 0,7% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ,
- общее содержание кальция и магния не более 0,2% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ,
- общее содержание натрия и калия не более 0,08% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ,
- общее содержание фосфора не более 80 мг фосфора на 100 г белка.

Еще более предпочтительно композиция с низким содержанием минеральных веществ характеризуется по меньшей мере одним, предпочтительно двумя или более и еще более предпочтительно всеми из следующих:

- содержание зольных веществ не более 0,5% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ,
- общее содержание кальция и магния не более 0,15% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ,
- общее содержание натрия и калия не более 0,06% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ,
- общее содержание фосфора не более 50 мг фосфора на 100 г белка.

Особенно предпочтительно, чтобы композиция с низким содержанием минеральных веществ характеризовалась следующим:

- содержание золы не более 0,5% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ,
- общее содержание кальция и магния не более 0,15% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ,
- общее содержание натрия и калия не более 0,06% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ,
- общее содержание фосфора не более 50 мг фосфора на 100 г белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения в пищевой композиции на основе BLG общее количество белков составляет по меньшей мере 25% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ пищевой композиции на основе BLG. Предпочтительно в пищевой композиции на основе BLG общее количество белков составляет по меньшей мере 50% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ пищевой композиции на основе BLG. Более предпочтительно в пищевой композиции на основе BLG общее количество белков составляет по меньшей мере 75% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ пищевой композиции на основе BLG. Еще более предпочтительно в пищевой композиции на основе BLG общее количество белков составляет по меньшей мере 90% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ пищевой композиции на основе BLG.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения общее количество белка в пищевой композиции на основе BLG находится в диапазоне 25-100% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ. Предпочтительно общее количество белка в пищевой композиции на основе BLG находится в диапазоне 50-100% (вес/вес). Более предпочтительно общее количество белка в пищевой композиции на основе BLG находится в диапазоне 75-100% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ. Еще более предпочтительно общее количество белка в пищевой композиции на основе BLG находится в диапазоне 90-100% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG содержит по меньшей мере 75% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка. Предпочтительно пищевая композиция на основе BLG может содержать по меньшей мере 90% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка. Более предпочтительно пищевая композиция на основе BLG может содержать по меньшей мере 95% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка. Еще более предпочтительно пищевая композиция на основе BLG может содержать по меньшей мере 97% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка. Наиболее предпочтительно пищевая композиция на основе BLG может содержать прим. 100% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG содержит не более 10% (вес/вес) углеводов, предпочтительно не более 5% (вес/вес) углеводов, более предпочтительно не более 1% (вес/вес) углеводов и еще более предпочтительно не более 0,1% (вес/вес) углеводов.

Пищевая композиция на основе BLG может также содержать липиды, например, в виде триглицеридов и/или других типов липидов, таких как фосфолипиды.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения в пищевой композиции на основе BLG общее количество липидов составляет не более 1% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ. Предпочтительно в пищевой композиции на основе BLG общее количество липидов составляет не более 0,5% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ. Более предпочтительно в пищевой композиции на основе BLG общее количество липидов составляет не более 0,1% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ. Еще более предпочтительно в пищевой композиции на основе BLG общее количество липидов составляет не более 0,05% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ. Наиболее предпочтительно в пищевой композиции на основе BLG общее количество липидов составляет не более 0,01% (вес/вес) относительно общего количества твердых веществ.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG представляет собой сухую композицию и, например, порошок. Особенно предпочтительно, чтобы пищевая композиция на основе BLG представляла собой высушенный распылением порошок.

Авторы настоящего изобретения отмечали, что пищевые композиции на основе BLG в виде порошка, в которых по меньшей мере некоторая часть BLG была в кристаллической форме после высушивания, характеризовались более высокой плотностью, чем сравнительная композиция на основе BLG без кристаллов BLG (см. пример 7). Данный эффект высокой плотности, что удивительно, также отмечали в

случае пищевых композиций на основе BLG в виде порошка, которые получают из суспензий высушенных распылением кристаллов BLG.

Таким образом, в некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG в виде порошка характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,40 г/мл. Предпочтительно пищевая композиция на основе BLG в виде порошка характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,45 г/мл. Более предпочтительно пищевая композиция на основе BLG в виде порошка характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,50 г/мл. Еще более предпочтительно, чтобы пищевая композиция на основе BLG в виде порошка характеризовалась объемной плотностью по меньшей мере 0,6 г/мл. Например, пищевая композиция на основе BLG в виде порошка может характеризоваться объемной плотностью по меньшей мере 0,7 г/мл.

Преимущество объемной плотности распространяется как на порошки пищевых композиций на основе BLG, в которых BLG является практически единственным присутствующим белком, так и на порошки пищевых композиций на основе BLG, в которых концентрация BLG не была повышена относительно других белков, которые присутствовали в растворе молочного сывороточного белка. Таким образом настоящее изобретение обеспечивает порошки с высокой плотностью как выделенного BLG, так и неочищенного молочного сывороточного белка, который содержит значительные количества ALA и других молочных сывороточных белков помимо BLG.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG в виде порошка, характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,45 г/мл и содержит по меньшей мере 70% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции. Более предпочтительно пищевая композиция на основе BLG в виде порошка, характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,50 г/мл и содержит по меньшей мере 70% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции. Еще более предпочтительно пищевая композиция на основе BLG в виде порошка характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,6 г/мл и содержит по меньшей мере 70% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции. Пищевая композиция на основе BLG в виде порошка, характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,7 г/мл и содержит по меньшей мере 70% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG в виде порошка, характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,45 г/мл и содержит по меньшей мере 80% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции. Более предпочтительно пищевая композиция на основе BLG в виде порошка, характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,50 г/мл и содержит по меньшей мере 80% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции. Еще более предпочтительно пищевая композиция на основе BLG в виде порошка характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,6 г/мл и содержит по меньшей мере 80% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции. Пищевая композиция на основе BLG в виде порошка, характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,7 г/мл и содержит по меньшей мере 80% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции.

Например, пищевая композиция на основе BLG в виде порошка может характеризоваться объемной плотностью в диапазоне 0,40-1,5 г/мл и содержит по меньшей мере 80% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции. Предпочтительно порошкообразная пищевая композиция на основе BLG характеризуется объемной плотностью в диапазоне 0,45-1,0 г/мл и содержит по меньшей мере 80% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции. Более предпочтительно порошкообразная пищевая композиция на основе BLG может характеризоваться объемной плотностью в диапазоне 0,50-0,9 г/мл и содержит по меньшей мере 80% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции. Еще более предпочтительно, чтобы порошкообразная пищевая композиция на основе BLG характеризовалась объемной плотностью в диапазоне 0,6-0,9 г/мл и содержала по меньшей мере 80% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции. Например, порошкообразная пищевая композиция на основе BLG может характеризоваться объемной плотностью в диапазоне 0,6-0,8 г/мл и содержит по меньшей мере 80% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции.

Авторы выявили, что порошки с высокой плотностью по настоящему изобретению предпочтительно обеспечивают возможность использования более экономически рентабельной упаковки и логистики порошка, поскольку необходимо меньше упаковочного материала на кг порошка и большее количество порошка (по весу) можно транспортировать с помощью определенного контейнера или транспортного средства.

Например, пищевая композиция на основе BLG в виде порошка может характеризоваться объемной плотностью в диапазоне 0,40-1,5 г/мл. Предпочтительно порошкообразная пищевая композиция на основе BLG характеризуется объемной плотностью в диапазоне 0,45-1,0 г/мл. Более предпочтительно порошкообразная пищевая композиция на основе BLG может характеризоваться объемной плотностью в диапазоне 0,50-0,9 г/мл. Еще более предпочтительно, чтобы порошкообразная, пищевая композиция на основе BLG характеризовалась объемной плотностью в диапазоне 0,6-0,9 г/мл. Например, порошкообразная пищевая композиция на основе BLG может характеризоваться объемной плотностью в диапазоне 0,6-0,8 г/мл.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG в виде порошка характеризуется объемной плотностью в диапазоне 0,50-1,5 г/мл. Предпочтительно порошкообразная пищевая композиция на основе BLG характеризуется объемной плотностью в диапазоне 0,55-1,0 г/мл. Более предпочтительно порошкообразная пищевая композиция на основе BLG может характеризоваться объемной плотностью в диапазоне 0,60-1,0 г/мл. Еще более предпочтительно, чтобы порошкообразная, пищевая композиция на основе BLG характеризовалась объемной плотностью в диапазоне 0,65-1,0 г/мл. Порошкообразная пищевая композиция на основе BLG может предпочтительно характеризоваться объемной плотностью в диапазоне 0,70-1,0 г/мл.

Например, пищевая композиция на основе BLG в виде порошка может характеризоваться объемной плотностью в диапазоне 0,40-1,5 г/мл и содержит по меньшей мере 70% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции. Предпочтительно порошкообразная пищевая композиция на основе BLG характеризуется объемной плотностью в диапазоне 0,45-1,0 г/мл и содержит по меньшей мере 70% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции. Более предпочтительно порошкообразная пищевая

основе BLG характеризовалась объемной плотностью в диапазоне 0,65-1,0 г/мл и содержала по меньшей мере 80% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции. Порошкообразная пищевая композиция на основе BLG может предпочтительно характеризоваться объемной плотностью в диапазоне 0,70-1,0 г/мл и содержит по меньшей мере 80% (вес/вес) белка относительно общего веса композиции.

Объемная плотность порошка измеряется согласно примеру 9.3.

Авторы настоящего изобретения выявили признаки того, что композиции на основе BLG согласно настоящему изобретению обладают лучшей долговременной стабильностью, чем аналогичные композиции на основе BLG. Это, в частности, тот случай, когда по меньшей мере некоторая часть BLG присутствует в виде кристаллов BLG, которые, видимо, обеспечивают лучшую стабильность молекул BLG при хранении.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения сухая композиция на основе BLG характеризуется значением содержания фурузина, составляющим не более 80 мг/100 г белка через 60 дней при 30 градусах С, предпочтительно не более 60 мг/100 г белка, более предпочтительно не более 40 мг/100 г белка и еще более предпочтительно не более 20 мг/100 г белка. Наиболее предпочтительно сухая композиция на основе BLG характеризуется значением содержания фурузина, составляющим не более 10 мг/100 г белка через 60 дней при 30 градусах С.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения сухая композиция на основе BLG характеризуется значением содержания фурузина, составляющим не более 80 мг/100 г белка, предпочтительно не более 60 мг/100 г белка, более предпочтительно не более 40 мг/100 г белка и еще более предпочтительно не более 20 мг/100 г белка. Наиболее предпочтительно сухая композиция на основе BLG характеризуется значением содержания фурузина, составляющим не более 10 мг/100 г белка. Предпочтительно сухая композиция на основе BLG характеризуется значением содержания фурузина, составляющим 0 мг/100 г белка.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения BLG в сухой композиции на основе BLG характеризуется степенью лактозилирования, составляющей не более 1 через 60 дней при 30 градусах С, предпочтительно не более 0,6, более предпочтительно 0,2, еще более предпочтительно не более 0,1 и наиболее предпочтительно не более 0,01.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG представляет собой жидкую композицию. Жидкая пищевая композиция на основе BLG предпочтительно содержит по меньшей мере 20% (вес/вес) воды, более предпочтительно по меньшей мере 30% (вес/вес) воды, еще более предпочтительно по меньшей мере 40% (вес/вес).

Например, жидкая пищевая композиция на основе BLG может содержать воду в диапазоне 20-90% (вес/вес), более предпочтительно воду в диапазоне 30-80% (вес/вес), еще более предпочтительно по меньшей мере 40% (вес/вес).

Авторы настоящего изобретения выявили, что пищевые композиции на основе BLG согласно настоящему изобретению характеризуются неожиданно низкой степенью денатурации белка, хотя высушивание

распылением использовали для получения пищевой порошкообразной композиции на основе BLG (см. пример 11).

Таким образом, в некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG характеризуется степенью денатурации белка не более 2%. Предпочтительно пищевая композиция на основе BLG характеризуется степенью денатурации белка не более 1,5%. Более предпочтительно пищевая композиция на основе BLG характеризуется степенью денатурации белка не более 1,0%. Еще более предпочтительно пищевая композиция на основе BLG характеризуется степенью денатурации белка не более 0,8%. Еще более предпочтительно пищевая композиция на основе BLG характеризуется степенью денатурации белка не более 0,5%.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG представляет собой сухой порошок, а предпочтительно высушенный распылением порошок, и характеризуется степенью денатурации белка не более 2%, а предпочтительно не более 1,5%. Более предпочтительно сухая пищевая композиция на основе BLG, например, в виде высушенного распылением порошка, характеризуется степенью денатурации белка не более 1,0%. Еще более предпочтительно сухая пищевая композиция на основе BLG, например, в виде высушенного распылением порошка, характеризуется степенью денатурации белка не более 0,8%. Еще более предпочтительно сухая пищевая композиция на основе BLG, например, в виде высушенного распылением порошка, характеризуется степенью денатурации белка не более 0,5%.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG содержит:

- не более 6% (вес/вес) воды,
- по меньшей мере 80% общего белка относительно общего количества твердых веществ,
- по меньшей мере 95% BLG относительно общего белка, и

при этом указанная пищевая композиция на основе BLG:

- представляет собой сухой порошок и
- характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,50 г/мл и предпочтительно по меньшей мере 0,60 г/мл.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG содержит:

- не более 6% (вес/вес) воды,
- по меньшей мере 80% общего белка относительно общего количества твердых веществ,
- по меньшей мере 95% BLG относительно общего белка, и

при этом указанная пищевая композиция на основе BLG:

- представляет собой сухой порошок,

- характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,50 г/мл и предпочтительно по меньшей мере 0,60 г/мл, и
- характеризуется степенью кристалличности BLG по меньшей мере 20% и предпочтительно по меньшей мере 40%.

В дополнительных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG содержит:

- не более 6% (вес/вес) воды,
- по меньшей мере 80% общего белка относительно общего количества твердых веществ,
- по меньшей мере 95% BLG относительно общего белка, и

при этом указанная пищевая композиция на основе BLG:

- представляет собой сухой порошок,
- характеризуется объемной плотностью по меньшей мере 0,50 г/мл и предпочтительно по меньшей мере 0,60 г/мл, и
- характеризуется степенью денатурации белка не более 2% и предпочтительно не более 1,0%.

В дополнительных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG содержит:

- не более 6% (вес/вес) воды,
- по меньшей мере 80% общего белка относительно общего количества твердых веществ,
- по меньшей мере 95% BLG относительно общего белка,
- не более 80 мг фосфора на 100 г белка, при этом

указанная пищевая композиция на основе BLG:

- представляет собой сухой порошок.

В еще одних предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG содержит:

- не более 6% (вес/вес) воды,
- по меньшей мере 90% общего белка относительно общего количества твердых веществ,
- по меньшей мере 97% BLG относительно общего белка,
- не более 50 мг фосфора на 100 г белка, при этом

указанная пищевая композиция на основе BLG:

- представляет собой сухой порошок.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG содержит:

- не более 6% (вес/вес) воды,
- по меньшей мере 80% общего белка относительно общего количества твердых веществ и предпочтительно по меньшей мере 90% общего белка относительно общего количества твердых веществ,
- 30-70% BLG относительно общего белка,
- 8-25% (вес/вес) ALA относительно общего белка, при этом

указанная пищевая композиция на основе BLG:

- представляет собой сухой порошок и
- характеризуется степенью кристалличности BLG по меньшей мере 20% и предпочтительно по меньшей мере 40%.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG содержит:

- 20-80% (вес/вес) воды и предпочтительно 20-60% (вес/вес) воды,
- по меньшей мере 80% общего белка относительно общего количества твердых веществ и предпочтительно по меньшей мере 90% общего белка,
- по меньшей мере 95% BLG относительно общего белка,
- не более 80 мг фосфора на 100 г белка, при этом

указанная пищевая композиция на основе BLG:

- характеризуется степенью кристалличности BLG по меньшей мере 20% и предпочтительно по меньшей мере 40%, и
- необязательно характеризуется степенью денатурации белка не более 2% и предпочтительно не более 1,0%.

Пищевые композиции согласно этим вариантам осуществления особенно применимы в получении пищевых композиций на основе BLG в высушенном виде и особенно применимы для высушивания распылением и получения порошка молочного сывороточного белка высокой плотности с оптимальным профилем концентрации разных видов молочного сывороточного белка, но содержащие по меньшей мере часть BLG в виде высушенных кристаллов BLG.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG содержит:

- 20-80% (вес/вес) воды и предпочтительно 20-60% (вес/вес) воды,
- по меньшей мере 80% общего белка относительно общего количества твердых веществ и предпочтительно по меньшей мере 90% общего белка относительно общего количества твердых веществ,
- 30-70% BLG относительно общего белка,
- 8-25% (вес/вес) ALA относительно общего белка, при этом

указанная пищевая композиция на основе BLG:

- характеризуется степенью кристалличности BLG по меньшей мере 20% и предпочтительно по меньшей мере 40%.

Пищевые композиции согласно этим вариантам осуществления особенно применимы в получении пищевых композиций на основе BLG в высушенном виде и особенно применимы для высушивания распылением и получения порошка молочного сывороточного белка высокой плотности с оптимальным профилем концентрации разных видов молочного сывороточного белка, но содержащие по меньшей мере часть BLG в виде высушенных кристаллов BLG.

Еще один аспект настоящего изобретения относится к применению пищевой композиции на основе BLG, определенной в данном документе, в качестве пищевого ингредиента.

Например, может быть предпочтительным использование пищевой композиции с низким содержанием фосфора на основе BLG, определенной в данном документе, в качестве пищевого ингредиента в получении продукта питания с низким содержанием фосфора.

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к продукту питания, содержащему пищевую композицию на основе BLG, определенную в данном документе, и по меньшей мере дополнительный ингредиент, такой как, например, источник жиров и/или углеводов.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения продукт питания представляет собой сухой продукт питания, например, батончик, содержащий углеводы и белки, причем указанный сухой пищевой продукт содержит по меньшей мере 1% (вес/вес) BLG, предпочтительно по меньшей мере 5%, где:

- i) степень кристалличности BLG составляет по меньшей мере 20%, предпочтительно по меньшей мере 40% и/или
- ii) по меньшей мере 90% (вес/вес) от общего количества белка приходится на BLG.

В некоторых особенно предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения продукт питания представляет продукт питания с низким содержанием фосфора, содержащий не более 100 мг фосфора на 100 г белка, предпочтительно не более 80 мг фосфора на 100 г белка, более предпочтительно не более 40 мг фосфора на 100 г белка и еще более предпочтительно не более 20 мг фосфора на 100 г белка.

BLG характеризуется благоприятным профилем аминокислот и предпочтительно обеспечивает значительную долю в содержание белков в продукте питания. Это особенно интересно в том случае, если продукт питания представляет собой пищевой продукт с низким содержанием минеральных веществ или фосфора. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция на основе BLG обеспечивает по меньшей мере 25% (вес/вес) от общего количества белка в продукте питания или по меньшей мере 50% (вес/вес), более предпочтительно по меньшей мере 80% (вес/вес) и еще более предпочтительно по меньшей мере 90% (вес/вес). Может быть еще более предпочтительным, чтобы пищевая композиция на основе BLG обеспечивала весь белок в продукте питания.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения пищевая композиция с низким содержанием фосфора на основе BLG обеспечивает по меньшей мере 25% (вес/вес) от общего количества белка в продукте питания с низким содержанием фосфора или по меньшей мере 50% (вес/вес), более предпочтительно по меньшей мере 80% (вес/вес) и еще более предпочтительно по меньшей мере 90% (вес/вес). Может быть еще более предпочтительным, чтобы пищевая композиция с низким содержанием фосфора на основе BLG обеспечивала весь белок в продукте питания с низким содержанием фосфора.

Неограничивающие примеры продукта питания представляют, например, молочный продукт, конфету, напиток, протеиновый батончик, питательную композицию для энтерального введения, хлебобулочное изделие.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления по настоящему изобретению продукт питания представляет собой напиток. Напиток предпочтительно содержит:

- пищевую композицию на основе BLG, определенную в данном документе, обеспечивающую общее количество BLG, составляющее по меньшей мере 1% (вес/вес), предпочтительно по меньшей мере 5% (вес/вес), более предпочтительно по меньшей мере 8% (вес/вес) и еще более предпочтительно по меньшей мере 12% (вес/вес),
- подсластитель, например, сахаросодержащий подсластитель и/или подсластитель, не содержащий сахара,
- по меньшей мере одну пищевую кислоту, например лимонную кислоту, или другие подходящие пищевые кислоты,
- необязательно ароматизатор и
- не более 80 мг фосфора/100 г белка,

при этом он характеризуется показателем pH в диапазоне 2,5-4,0.

Авторы настоящего изобретения поняли, что получение кислых, с высоким содержанием белка, с низким содержанием минеральных веществ напитков или жидкости из сухой пищевой композиции на основе BLG, содержащей кристаллы BLG, является сложной задачей. Сухая пищевая композиция на основе BLG, содержащая кристаллы BLG, обычно создает среду с показателем pH в диапазоне 5-6 при повторном суспендировании в воде, при этом добавление кислот или солей для изменения показателя pH или повышения проводимости также повышает нагрузку минеральными веществами в полученных жидкости/напитке.

Однако авторы настоящего изобретения выявили, что если карбоновая кислота, лактон, ангидрид карбоновой кислоты или их комбинация используются для снижения показателя pH, тогда отсутствует необходимость в добавлении минеральных веществ, и за счет этого достигается лучший контроль состава минеральных веществ в напитке/жидкости.

Таким образом, один аспект настоящего изобретения относится к способу получения подкисленной, с низким содержанием минеральных веществ жидкости с применением пищевой композиции на основе BLG, содержащей кристаллы BLG, в качестве ингредиента, при этом способ включает стадии:

- обеспечения одного или более подкисляющих средств, выбранных из группы, состоящей из карбоновой кислоты, лактона, ангидрида карбоновой кислоты или их комбинации,

- приведения в контакт пищевой композиции на основе BLG, содержащей кристаллы BLG, с одним или более подкисляющими средствами и необязательно дополнительными ингредиентами, такими как, например, вода, источник жиров и/или источник углеводов, причем указанные одно или несколько подкисляющих средств используют в количестве, достаточном для доведения показателя pH до 2-4,5 и предпочтительно до 2,5-4,0 и обеспечения растворения кристаллов BLG, за счет чего образуется жидкость.

Например, жидкость может быть использована в качестве напитка, или ее можно использовать в качестве ингредиента для получения другого продукта питания.

Если пищевая композиция на основе BLG, используемая в данном способе, предоставляется в сухом виде, например, в виде порошка, то зачастую предпочтительно обеспечивать ее регидратацию в воде перед добавлением подкисляющего средства.

Пищевая композиция на основе BLG, используемая в данном способе, предпочтительно присутствует в жидкости в количестве, достаточном для обеспечения 1-30% (вес/вес) белка, предпочтительно 2-25% (вес/вес) белка, более предпочтительно 4-20% (вес/вес) белка и еще более предпочтительно 5-16% (вес/вес) белка.

Пищевая композиция на основе BLG, используемая в данном способе, предпочтительно характеризуется степенью кристалличности BLG, составляющей по меньшей мере 30%, предпочтительно по меньшей мере 50% и еще более предпочтительно по меньшей мере 70%.

Примеры подходящего подкисляющего средства (подходящих подкисляющих средств):

- карбоновые кислоты, такие как, например, уксусная кислота, малеиновая кислота, виннокаменная кислота, молочная кислота, лимонная кислота, глюконовая кислота или их смеси,
- лактоны, такие как, например, D-глюконо-дельта-лактон,
- ангидриды карбоновых кислот.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления пищевая композиция на основе BLG, содержащая кристаллы BLG, используемая в данном способе, предпочтительно представляет собой композицию с низким содержанием фосфора, при этом любые другие ингредиенты, используемые в данном способе, предпочтительно выбраны так, чтобы готовая жидкость также представляла собой композицию с низким содержанием фосфора.

В других предпочтительных вариантах осуществления пищевая композиция на основе BLG, содержащая кристаллы BLG, используемая в данном способе, предпочтительно представляет собой композицию с низким содержанием минеральных веществ, при этом любые другие ингредиенты, используемые в данном способе, предпочтительно выбраны так, чтобы готовая жидкость также представляла собой композицию с низким содержанием минеральных веществ.

Способ предпочтительно осуществляют при температуре в диапазоне 1-65 градусов C, предпочтительно 2-50 градусов C, более предпочтительно в диапазоне 3-20 градусов C, еще более предпочтительно в диапазоне 4-15 градусов C.

Настоящее изобретение описано выше со ссылкой на конкретные варианты осуществления. Однако в пределах объема настоящего изобретения варианты осуществления, отличные от вышеописанных, являются в равной степени возможными. Различные признаки и стадии различных вариантов осуществления и аспектов настоящего изобретения можно комбинировать посредством способов, отличных от описанных в данном документе, если не указано иное.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Кристаллизация бета-лактоглобулина из неочищенного концентрата молочного сывороточного белка

Протокол:

обедненный по лактозе UF-ретентат, полученный из сладкой молочной сыворотки в ходе стандартного способа производства сыра и отфильтрованный через фильтр с размером пор 1,2 микрона, использовали в качестве сырьевого материала для способа кристаллизации BLG. Сырьевой материал, представляющий собой сладкую молочную сыворотку, обрабатывали на установке для ультрафильтрации с использованием мембраны типа HFK-328 Koch с разделителем толщиной 46 мил, давлением подачи 1,5-3,0 бар, с использованием сырьевого материала в концентрации 21% TS (общее количество твердых веществ) ± 5 и глубоко деминерализованной воды (воды, отфильтрованной с помощью обратного осмоса с достижением проводимости не более 0,05 мСм/см) в качестве среды для диафильтрации. Температура сырьевого материала и ретентата в ходе ультрафильтрации составляла прим. 12 градусов С. Затем показатель pH доводили за счет добавления HCl с достижением показателя pH, составляющего прим. 5,40. Диафильтрацию продолжали до тех пор, пока падение проводимости ретентата не достигло уровня ниже 0,03 мСм/см в течение периода времени 20 мин. Затем ретентат концентрировали до прим. 30% TS (прим. 23,1% общего белка относительно всего веса концентрированного ретентата). Образец концентрированного ретентата центрифугировали при 3000 г в течение 5 минут, но при этом визуально различимые пеллеты не образовывались. Супернатант подвергали анализу с помощью ВЭЖХ. Состав сырьевого материала показан в таблице 1.

В концентрированный ретентат в количестве 0,5 г/л вводили затравку, представляющую собой чистый кристаллический материал на основе BLG, полученный в результате самопроизвольной кристаллизации BLG (как описано в примере 3 в контексте сырьевого материала 2). Материал для затравки получали промыванием суспензии кристаллов BLG 5 раз в воде milliQ, собирая кристаллы BLG после каждого промывания. После промывания кристаллы BLG высушивали лиофилизацией, измельчали при помощи пестика и ступки, а затем пропускали через сито с размером пор 200 микрон. Таким образом, затравка для кристаллизации характеризовалась размером частиц менее 200 микрон.

Концентрированный ретентат переносили в 300 л резервуар для кристаллизации, где его охлаждали до приблизительно 4 градусов С и выдерживали при этой температуре в течение ночи при умеренном перемешивании. На следующее утро образец охлажденного концентрированного ретентата переносили в тестовую пробирку и осматривали визуально и под микроскопом. Быстро оседающие кристаллы отчетливо образовались в течение ночи. Лабораторный образец смеси, содержащей и кристаллы, и маточную

жидкость, дополнительно охлаждали до 0 градусов С на бане с ледяной водой. Маточную жидкость и кристаллы разделяли центрифугированием при 3000 г в течение 5 минут, а образцы супернатанта и пеллет отбирали для анализа в ВЭЖХ. Кристаллы промывали однократно в холодной глубоко деминерализованной воде, а затем снова центрифугировали перед высушиванием лиофилизацией гранул.

Таблица 1. Концентрация определенных компонентов сырьевого материала, стандартизованного до 95% (вес/вес) общего количества твердых веществ.

Сырьевой материал, стандартизованный до 95% TS

Белковый состав (% вес/вес относительно общего белка)

ALA	17,7
BLG	51,6
CMР	19,5

Другие компоненты (% вес/вес относительно общего веса стандартизованного сырьевого материала)

Ca	0,357
K	0,200
Mg	0,058
Na	0,045
P	0,280
Жиры	5,6
Белки	79

Количественное определение относительного выхода BLG с помощью ВЭЖХ:

Все образцы разводили в одинаковой степени путем добавления глубоко деминерализованной воды. Образцы фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 микрона. В случае каждого образца одинаковый объем загружали в систему ВЭЖХ с колонкой для ЖХ Phenomenex Jupiter® 5 мкм C4 300 Å, 250 x 4,6 мм (номер части: 00G-4167-E0) и проводили детекцию при 214 нм.

Образцы анализировали в следующих условиях:

буфер А: вода MilliQ, 0,1%вес/вес TFA,

буфер В: ацетонитрил для ВЭЖХ, 0,085% вес/вес TFA.

Скорость потока: 1 мл/мин.

Градиент: 0-30 минут, 82-55% А и 18-45% В; 30-32 минуты, 55-10% А и 45-90% В; 32,5-37,5 минуты, 10% А и 90% В; 38-48 минуты, 10-82% А и 90-18% В.

Обработка данных:

Поскольку все образцы обрабатывали одинаково, можно непосредственно сравнивать площадь пиков BLG для получения относительно выхода. Поскольку кристаллы содержат только BLG, и все образцы обрабатывали одинаково, концентрация альфа-лактальбумина (ALA) и, следовательно, площадь ALA будет такой же во всех образцах, поэтому площадь ALA до и после кристаллизации используется в качестве поправочного коэффициента (cf_α) при расчете относительного выхода.

$$cf_\alpha = \frac{\text{площадь ALA}_{\text{до кристаллизации}}}{\text{площадь ALA}_{\text{после кристаллизации}}}$$

Относительный выход рассчитывают по следующему уравнению:

$$\text{Выход}_{BLG} = \left(1 - \frac{cf_\alpha \times \text{площадь BLG}_{\text{после кристаллизации}}}{\text{площадь BLG}_{\text{до кристаллизации}}} \right) \times 100$$

Результаты:

На фиг. 1 показывает перекрывающиеся хроматограммы до и после кристаллизации BLG из сладкой молочной сыворотки. Образец “до кристаллизации” представлен сплошной черной линией, а образец “после кристаллизации” - пунктирной линией. Видно, что происходило значительное снижение концентрации BLG, и используя расчет выхода, как описано ранее, определили выход удаленного BLG, который составил 64,5% (вес/вес).

Суспензию кристаллов оценивали с помощью микроскопии; как можно увидеть на фигуре 2, образец содержал гексагональные кристаллы, при этом многие имели размер, значительно превышавший 200 микрон, указывая на то, что наблюдаемые кристаллы являются не только затравочными кристаллами. Кристаллы с легкостью дробились при сдавливании иглой, что подтвердило, что они являлись кристаллами белка.

На фиг. 3 показана хроматограмма промытого кристаллического продукта, и в этом случае на BLG приходится 98,9% от общей площади хроматограммы. Чистоту продукта BLG можно еще больше повысить с помощью дополнительного промывания.

Закключение:

этот пример демонстрирует, что неожиданно можно кристаллизовать BLG селективно из концентрата неочищенного молочного сывороточного белка, который содержит более 48% белка, не являющегося BLG, относительно общего белка, и что полученный изолят кристаллов BLG характеризуется очень высокой чистотой. Этот результат открывает новый подход для промышленного отделения белка молока, в котором

BLG отделяют от других белковых компонентов щадящим способом, при котором предпочтительно избегают длительного воздействия высоких температур и создающих проблемы химических веществ.

Пример 2. Влияние проводимости и температуры на выход BLG

Протокол:

используя тот же сырьевой материал, экспериментальные и аналитические установки как в примере 1, образцы ретентата (прим. 13,9% (вес/вес) общего белка) отбирали в ходе ультра-/диафильтрации при различных уровнях проводимости для изучения влияния проводимости на выход кристаллов BLG. Образцы охлаждали до 4 градусов С и выдерживали при этой температуре в течение ночи (однако авторы установили, что 30 минут или даже меньше может быть достаточным для достижения равновесия), а затем три образца охлаждали до 0 градусов С в ледяной воде и выдерживали при этой температуре в течение по меньшей мере 1 часа, чтобы показать влияние температуры на выход. Результаты для образцов при 4 градусах С можно увидеть на фиг. 4.

После завершения диафильтрации образцы отбирали при содержании сухих веществ в градусах по шкале Брикса 21, 24 и 32,5 в ходе концентрирования. Эти образцы сначала охлаждали до 4 градусов С и выдерживали при этой температуре в течение ночи. Выход кристаллов BLG измеряли так, как описано в примере 1. Образцы затем охлаждали до 0 градусов С в ледяной воде и выдерживали при этой температуре в течение по меньшей мере 1 часа. Затем снова измеряли выход кристаллов BLG.

Результаты:

при нанесении на график относительного выхода BLG в зависимости от проводимости образцов, показанном на фиг. 4, видна отчетливая корреляция между более низкой проводимостью и более высоким относительным выходом BLG.

На фиг. 5, где выход для трех образцов с изменяющейся проводимостью показан при двух температурах (4 и 0 градусов С), можно увидеть, что чем ниже температура, тем выше выход BLG. Снижение температуры еще больше, как ожидается, увеличивает выход.

На фиг. 6 показано влияние концентрации белка на относительный выход BLG как при 4, так и 0 градусах С. Фигура показывает четкую корреляцию между концентрацией белка, показанной в данном случае в градусах по шкале Брикса, и относительным выходом BLG, свидетельствуя о том, что относительный выход продолжает повышаться с увеличением концентрации белка.

Закключение:

авторы выявили, что ряд параметров влияет на эффективность способа кристаллизации. При заданном значении pH выход BLG можно повышать путем снижения проводимости, повышения концентрации BLG и снижения температуры.

Пример 3. Кристаллизация BLG в трех типах растворов молочного сывороточного белка

Протокол:

используя те же экспериментальные и аналитические установки, как в примере 1, три разные типа содержащего сывороточный белок сырьевого материала тестировали в качестве сырьевого материала для кристаллизации. Однако эксперименте, проводимом с сырьевым материалом 2, не использовали затравку. Основой для сырьевого материала 1 и 2 является сладкая молочная сыворотка, при этом содержание жиров в ней снижали посредством мембраны Synder FR до обработки, как описано в примере 1. Сырьевой материал 3 получали из кислой молочной сыворотки.

Состав трех типов сырьевого материала можно увидеть ниже в таблице 2, таблице 3 и таблице 4. Сырьевой материал 3 кристаллизовали при 21% TS (общий белок 13,3% вес/вес относительно общего веса сырьевого материала), то есть при значительно более низкой концентрации, чем два других (общий белок 26,3% (вес/вес) в сырьевом материале 1 и 25,0% (вес/вес) в сырьевом материале 2).

Суспензию кристаллизованного сырьевого материала 1 центрифугировали на фильтре Maxi-Spin с мембраной CA с размером пор 0,45 микрон при 1500 g в течение 5 минут, затем 2 объема воды MilliQ добавляли в фильтровальный осадок перед его последующим центрифугированием. Полученный фильтровальный осадок анализировали при помощи ВЭЖХ. Фотография фильтра Maxi-Spin с пеллетами (фильтровальным осадком) кристаллизованного сырьевого материала 1 показана на фиг. 24. Пеллеты из сырьевого материала 2 промывали 2 объемами воды MilliQ и снова центрифугировали при стандартных условиях перед анализом пеллет с помощью ВЭЖХ. Пеллеты из сырьевого материала 3 анализировали без промывания.

Кристаллы, полученные из сырьевого материала 2, разбавляли до 10%TS и показатель pH доводили до pH 7 с помощью 1M NaOH для обращения кристаллизации. NaCl добавляли в суспензию кристаллов из сырьевого материала 2, 36%TS, для обращения кристаллизации.

Таблица 2. Концентрация определенных компонентов сырьевого материала 1 (концентрат молочного сывороточного белка на основе сладкой молочной сыворотки) BDL= ниже уровня выявления во влажном образце

Сырьевой материал 1 (стандартизован до 95% TS)	
Белковый состав (% вес/вес относительно общего белка)	
ALA	23,0
BLG	55,1
CMF	20,5
Другие компоненты (% вес/вес относительно общего веса стандартизованного сырьевого материала)	

Ca	0,387
K	0,290
Mg	0,066
Na	0,068
P	0,207
Жиры	BDL
Концентрация белка	90

Таблица 3. Концентрация определенных компонентов сырьевого материала 2 (концентрат молочного сывороточного белка со сниженным количеством ALA на основе сладкой молочной сыворотки) BDL= ниже уровня выявления во влажном нестандартизованном образце.

Сырьевой материал 2, стандартизованный до 95% TS	
Белковый состав (% вес/вес относительно общего белка)	
ALA	12,2
BLG	70,0
CMF	17,1
Другие компоненты (% вес/вес относительно общего веса стандартизованного сырьевого материала)	
Ca	0,387
K	0,204
Mg	0,066
Na	0,051
P	0,174

Жиры	BDL
Концентрация белка	89

Таблица 4. Концентрация определенных компонентов сырьевого материала 3 (концентрат молочного сывороточного белка на основе кислой молочной сыворотки)

Сырьевой материал 3, стандартизованный до 95% TS	
Белковый состав (% вес/вес относительно общего белка)	
ALA	24,0
BLG	63,6
Другие молочные сывороточные белки	12,4
Другие компоненты (% вес/вес относительно общего веса стандартизованного сырьевого материала)	
Ca	0,205
K	0,051
Mg	0,013
Na	0,108
P	0,240
Жиры	5,1
Концентрация белка	79

Результаты:

Сырьевой материал 1:

на фиг. 7 можно увидеть хроматограммы белкового состава сырьевого материала (сплошная линия) и молочной жидкости (пунктирная линия). Очевидно, что в ходе данного способа большая часть BLG

извлекалась в виде кристаллов. Выход (рассчитанный, как описано в примере 1) выделенного BLG составлял прим. 65% относительно общего количества BLG в сырьевом материале.

На фиг. 8 представлена полученная в ходе микроскопии фотография образца, отобранного на ранних стадиях периода кристаллизации. На фиг. 9 представлена полученная в ходе микроскопии фотография образца, отобранного по завершению кристаллизации. На этих двух изображениях четко видно, что кристаллы BLG относительно хрупкие. Некоторые кристаллы, очевидно, разрушаются в ходе перемешивания и превращаются из гексагональной или ромбической формы в фрагменты кристаллов, которые по-прежнему кажутся очень компактными и отчетливо структурированными, но имеют более неправильные формы.

На фиг. 10 показана хроматограмма кристаллов BLG, которые были отделены и промыты на центробежном фильтре. На данной фигуре видно, что чистота является очень высокой, и что удаление других молочных сывороточных белков было особенно эффективным.

Сырьевой материал 2:

на фиг. 11 можно увидеть белковый состав сырьевого материала 2 (сплошная линия) и полученной маточной жидкости (пунктирная линия). Очевидно, что большая часть BLG была удалена, и рассчитанный выход составлял 82% относительно общего количества BLG в сырьевом материале 2.

На фиг. 12 показан сырьевой материал 2 до (изображение слева) и после (изображение справа) кристаллизации. В ходе кристаллизации сырьевой материал превращался из прозрачной жидкости (в которой видна магнитная мешалка) в молочно-белую непрозрачную жидкость.

На фиг. 13 показана полученная в ходе микроскопии фотография кристаллов BLG. Можно отметить присутствие гексагональных форм, поскольку большинство кристаллов раздроблены.

На фиг. 16 представлена хроматограмма выделенных пеллетов кристаллов BLG после промывания 2 объемами воды MilliQ. Хроматограмма отчетливо демонстрирует, что кристаллы содержат BLG очень высокой чистоты.

На фиг. 14 и 15 показаны результаты или повышения проводимости (путем добавления NaCl), или изменения показателя pH (путем доведения показателя pH до 7 за счет добавления NaOH), поэтому среда более не способствует кристаллической структуре. В обоих случаях молочно-белая суспензия превращается в прозрачную жидкость, поскольку кристаллы BLG растворяются.

Минеральный состав кристаллического препарата, полученного из сырьевого материала 2, представлен в таблице 5. Отметим, что соотношение фосфора и белка было очень низким, что делает кристаллический препарат подходящим в качестве источника белков для пациентов с заболеванием почек.

Таблица 5. Концентрация определенных компонентов в кристаллическом препарате, полученном из сырьевого материала 2

Состав кристаллического препарата, полученного из сырьевого материала 2	% вес/вес относительно композиции, стандартизованной до 95% TS
Ca	0,119
K	0,047
Mg	0,019
Na	BDL
P	BDL (менее 0,026)
Общий белок	93,4

Сырьевой материал 3:

на фиг. 17 показаны хроматограммы белкового состава сырьевого материала 3 (сплошная линия) и полученной маточной жидкости (пунктирная линия) показаны. Очевидно, что большая часть BLG была выделена (рассчитанный выход составил 70,3% относительно общего количества BLG в сырьевом материале). Если бы содержание белка было выше до кристаллизации, то полученный выход был бы еще выше.

На фиг. 18 представлена полученная в ходе микроскопии фотография кристаллов BLG, выделенных из сырьевого материала 3 (по сути не содержащего CMP). Кристаллы имели прямоугольную форму, а не гексагональную. Прямоугольные кристаллы выглядели более прочными, чем гексагональные. На фиг. 19 показана хроматограмма выделенных гранул кристаллов без промывания; хроматограмма отчетливо показывает, что кристаллы являлись кристаллами BLG, несмотря на наличие прямоугольной формы, а не гексагональной формы (сравните, например, кристаллы прямоугольной формы на фиг. 18 с кристаллами гексагональной формы на фиг. 2).

Таблица 6. Концентрация определенных компонентов в кристаллическом препарате, полученном из сырьевого материала 3

Состав кристаллического препарата, полученного из сырьевого материала 3	% вес/вес относительно кристаллического препарата, стандартизованного до 95% TS

Ca	0,103
K	BDL
Mg	0,006
Na	0,035
P	0,041
Общий белок	90

Кристаллический препарат, полученный из сырьевого материала 3, содержал 45 мг P/100 г белка. Отметим, что соотношение фосфора и белка было очень низким, что делает кристаллический препарат подходящим в качестве источника белков для пациентов с заболеванием почек.

Заключение:

все три вида сырьевого материала были подходящими для способа кристаллизации BLG. Кристаллы BLG легко растворялись за счет добавления соли или повышения показателя pH или температуры. Новый способ дает возможность получать препараты на основе BLG с очень низкими содержаниями фосфора, что делает препараты подходящими в качестве источников белка для пациентов с заболеваниями почек.

Пример 4. Влияние показателя pH на выход кристаллов BLG

Протокол:

использовали такой же протокол и экспериментальную установку как в примере 1 (используя концентраты сладкого молочного сывороточного белка со сниженным содержанием жиров) за исключением того, что показатель pH доводили до уровней, описанных в таблице 8, для каждого из экспериментов. Концентрация белка в начале стадии кристаллизации составляла прим. 24% (вес/вес).

Показатель pH корректировали или с помощью слабого раствора NaOH (>4%), или слабого раствора HCl (>3,6%) для оценки влияния показателя pH на способ кристаллизации и достигнутый выход. После кристаллизации кристаллы BLG отделяли центрифугированием, как описано в примере 1.

Таблица 7. Диапазоны концентрации определенных компонентов сырьевого материала, используемого для примера 4

Используемый сырьевой материал
стандартизовали до 95% TS
Белковый состав, % общего белка (%)

ALA	10-15
BLG	60-70
CMP	12-17
Другие компоненты (% вес/вес относительно общего веса стандартизованного сырьевого материала)	
Ca	0,36-0,45
K	0,18-0,22
Mg	0,04-0,08
Na	0,02-0,06
P	0,17-0,20
Жиры	BDL
Концентрация белка	89-91

Таблица 8. Целевой показатель pH образцов

Образец	Целевой показатель pH
1	4,80
2	5,20
3	5,50
4	5,80
5	6,00
6	6,20

Результаты:

выходы рассчитывали так, как описано в примере 1. Следует отметить, что исходные образцы отбирали перед добавлением затравочного материала. Таким образом, если образцы не были перенасыщены относительно BLG, то затравочный материал растворится и обеспечит достижение общей концентрации BLG, в случае чего выход BLG окажется отрицательным.

Таблица 9. Рассчитанные выходы образцов на основе измерений ВЭЖХ

Образец	Показатель pH	Выход общего BLG (%)
1	4,84	-2,7
2	5,20	50,0
3	5,44	82,0
4	5,73	62,1
5	5,93	40,9
6	6,12	-1,6

Закключение:

данный эксперимент показал, что кристаллизация BLG в режиме всаливания возможна в диапазоне pH 5-6.

Пример 5. Исследование влияния повышения уровней проводимости

Протокол:

использовали такой же протокол и экспериментальную установку как в примере 1 за исключением того, что образцы отбирали при различных показателях проводимости. Неочищенный материал, показанный в таблице 10, обрабатывали и использовали как сырьевой материал для способа кристаллизации. Перед ультрафильтрацией отбирали образцы неочищенного материала, и NaCl добавляли для повышения проводимости и чтобы оценить, при каких уровнях проводимости кристаллы BLG способны расти. Содержание белка в ходе кристаллизации составляло прим. 16,7% (вес/вес).

Таблица 10. Диапазоны состава сырьевого материала, используемого в примере 5

Используемый сырьевой материал
стандартизовали до 95% TS
Белковый состав (% вес/вес относительно

общего белка)	
ALA	12,4
BLG	64,5
СМР	19,8
Другие компоненты (% вес/вес относительно общего веса стандартизованного сырьевого материала)	
Са	0,523
К	0,534
Mg	0,085
Na	0,160
Р	0,235
Жиры	BDL
Концентрация белка	86

Результаты:

образцы обрабатывали так, как описано в примере 1. На фиг. 20 показаны рассчитанные выходы при различных показателях проводимости в ретентате. Точка при 3,53 мСм/см представляла собой неочищенный материал после корректировки показателя pH. Все точки выше 3,53 являлись результатом добавления NaCl для повышения проводимости. Точки ниже 3,53 были результатом диафильтрации в системе ультрафильтрации. Выход при 4,93 мСм/см был близок к нулю и не считался значимым.

Образец ретентата, который характеризовался проводимостью 4,93 мСм/см, характеризовался проводимостью ультрафильтрата, составляющей прим. 5,7 мСм/см. Образец ретентата с проводимостью 3,53 мСм/см характеризовался проводимостью ультрафильтрата, составляющей прим. 4,35 мСм/см.

На фиг. 20 можно увидеть, что кристаллы BLG образовались в сырьевом материале при показателях проводимости ниже 4,93 мСм/см (при 4 градусах С и содержании общего белка прим. 16,7% (вес/вес)). При проводимости ретентата, составляющей прим. 2 мСм/см, и проводимости ультрафильтрата, составляющей прим. 1,6 мСм/см, был достигнут выход BLG, составивший прим. 75% получали.

На фиг. 21 показана полученная в ходе микроскопии фотография кристаллов, образовавшихся при 4,20 мСм/см в ретентате, что демонстрирует ожидаемые характеристики кристаллов BLG.

Заключение:

конкретный сырьевой материал из примера 5 обеспечивает возможность образования кристаллов BLG ниже 4,93 мСм/см (что соответствует проводимости ультрафильтрата 5,75 мСм/см и соотношению проводимости и общего количества белка 0,057). Ожидается, что верхний предел проводимости зависит от концентрации белка и белкового состава. Например, более высокая концентрация белка и/или повышенное содержание высокозаряженных белков или других макромолекул (например, СМР), как ожидается, повышает верхний предел проводимости, при котором возможна кристаллизация BLG.

Пример 6. Кристаллизация BLG в концентрате белков сыворотки

Концентрат белков сыворотки (SPC) получали путем обработки обезжиренного молока посредством микрофильтрации с помощью мембраны Synder FR и рабочей температурой прим. 50 градусов С. Полученный ретентат содержал по сути весь казеин и остаточный жир, и, кроме того, содержал некоторые белки сыворотки, лактозу и минеральные вещества. Фильтрат содержал молекулы, которые способны проникать через мембрану, включая белок сыворотки, лактозу и минеральные вещества, но по сути не содержал казеина или жиров. Затем получали фильтрат для кристаллизации, как описано в примере 1 (см. таблицу 11 относительно состава сырьевого материала), и полученные кристаллы BLG характеризовали так, как описано в примере 1. Однако вместо проведения всех технологических операций ультрафильтрации при 12 градусах С температуру ретентата повышали с 12 до 25 градусов С при достижении проводимости ретентата 1 мСм/см. Температуру повышали для того, чтобы избежать самопроизвольной кристаллизации BLG при концентрировании ультрафильтрацией.

Таблица 11. Концентрация определенных компонентов сырьевого материала (концентрат белков сыворотки) BDL= ниже уровня выявления во влажном нестандартизованном образце.

Сырьевой материал, стандартизованный до 95% TS	
Белковый состав (% вес/вес относительно общего белка)	
ALA	23,5
BLG	66,7
Другие молочные сывороточные белки	9,8
Другие компоненты (% вес/вес относительно общего веса стандартизованного сырьевого	

материала)	
Ca	0,292
K	BDL
Mg	0,042
Na	BDL
P	0,149
Жиры	BDL
Концентрация белка	91

Подобно кристаллизациям в примерах 1-5, BLG из сырьевого материала, представляющего собой SPC, образовывал кристаллы высокой степени чистоты, которые можно отделить (подтверждено хроматографией, как и в предыдущих примерах), при этом обеспечивается выход BLG, составляющий 70% относительно общего количества BLG из сырьевого материала, представляющего собой SPC. На фиг. 22 показаны кристаллы BLG, полученные на ранних стадиях кристаллизации. Как было показано выше, кристаллы характеризуются прямоугольной или квадратной формой, но не гексагональной формой, наблюдаемой, например, в примере 2.

Пример 7. Получение высушенных распылением кристаллов BLG и определение объемной плотности

Часть кристаллов BLG, полученных в примере 3 (с применением сырьевого материала 2), отделяли на декантирующей центрифуге при 1200 g, 5180 об/мин, 110 об/мин отклон. с разделителем размером 64 мил (мил означает 1/1000 дюйма) и скоростью потока 25-30 л/ч. Затем фазу кристаллов BLG смешивали 1:1 с глубоко деминерализованной водой, а затем снова разделяли на декантирующей центрифуге при таких же установках. Затем фазу кристаллов BLG смешивали с глубоко деминерализованной водой для получения ее суспензии, содержащей прим. 25% сухого вещества, и с кристалличностью BLG прим. 80, а затем сушили на опытной-промышленной распылительной сушилке с температурой на входе 180 градусов С и температурой на выходе 85 градусов С без какого-либо предварительного нагревания. Температура жидких потоков до высушивания распылением составляла 10-12 градусов С. Полученный порошок, отобранный на выходе, характеризовался содержанием воды 4,37% (вес/вес).

Кристалличность BLG в суспензии составляла приблизительно 90%.

Авторы также успешно разделяли суспензию кристаллов BLG и маточную жидкость на декантирующей центрифуге при 350 g, 2750 об/мин, 150 об/мин Diff. с разделителем толщиной 64 мил и расходом 75 л/ч. Затем фазу кристаллов BLG смешивали 1:2 с глубоко деминерализованной водой. Затем фазу кристаллов BLG смешивали с глубоко деминерализованной водой с тем, чтобы получить из нее густую суспензию, а

потом сушили на опытно-промышленной распылительной сушилке при таких же параметрах, которые описаны выше.

Затем измеряли объемную плотность высушенного распылением порошка согласно примеру 9.3 и сравнивали с объемной плотностью стандартного WPI, высушенного с использованием такого же оборудования. Стандартный WPI, как было выявлено, имел объемную плотность (на основе 625 уплотнений) 0,39 г/мл, значение, которое находится на верхней границе нормального диапазона для порошка WPI. Однако высушенный распылением препарат на основе кристаллического BLG имел объемную плотность 0,68 г/мл, что на 75% превышает объемную плотность стандартного WPI (см., например, фиг. 23). Это действительно было неожиданным и предоставило ряд преимуществ как в плане логистики, так и разных вариантов применения.

Таблица 12. Концентрация определенных компонентов высушенного распылением препарата на основе кристаллов BLG из примера 7 BDL = ниже предела выявления

Высушенный распылением порошок кристаллов BLG	
Белковый состав (% вес/вес относительно общего белка)	
ALA	0,7
BLG	97,4
СМР	BDL
Другие компоненты (% вес/вес относительно общего веса порошка кристаллов BLG)	
Ca	0,118
K	0,026
Mg	0,017
Na	BDL
P	BDL
Вода	3,8
Концентрация белка	94

Затем образец высушенного распылением препарата на основе кристаллов BLG повторно суспендировали в холодной деминерализованной воде и кристаллы BLG были по-прежнему визуально различимы в микроскоп. Добавление лимонной кислоты или NaCl вызывало растворение кристаллов BLG и превращало непрозрачную суспензию кристаллов в прозрачную жидкость.

Авторы выявили признаки того, что длительное нагревание на стадии высушивания снижает количество BLG, который присутствует в кристаллической форме. Таким образом, предпочтительно, чтобы воздействие тепла на препарат на основе кристаллов BLG было как можно более низким.

Заключение:

данный пример показал, что суспензии, содержащие кристаллы BLG, можно высушить распылением, и что кристаллы BLG по-прежнему присутствуют в повторно суспендированном высушенном распылением порошке, если нагревание на стадии высушивания контролируется.

Кроме того, авторы выявили, что объемная плотность порошка молочного сывороточного белка, который содержит кристаллы BLG, значительно выше, чем у полученного с помощью стандартного высушивания распылением потоков растворенных белков. Порошки с высокой плотностью обеспечивают возможность использования более экономически рентабельной упаковки и логистики порошка, поскольку необходимо меньше упаковочного материала на кг порошка и большее количество порошка (по весу) можно транспортировать с помощью определенного контейнера или транспортного средства.

Порошок с высокой плотностью также оказался более легким в манипуляции с ним и менее рыхлым и пылящим в ходе изготовления и применения.

Пример 8. Белковый напиток с низким содержанием фосфора

Шесть образцов напитков с низким содержанием фосфора получали с применением очищенного продукта на основе BLG из примера 3 (кристаллический препарат, полученный из сырьевого материала 3). Все сухие ингредиенты смешивали с деминерализованной водой с получением 10 кг каждого образца и позволяли им гидратироваться в течение 1 часа при 10 градусах C.

Таблица 13. Состав шести образцов напитков

Ингредиент вес/вес)	Образец напитка					
	A	B	C	D	E	F
Высушенный очищенный BLG из пр. 3, сырьевого материала 3	5,0	10,0	5,0	10,0	5,0	10,0

Лимонная кислота	До показателя pH 3,5	До показателя pH 3,5	До показателя pH 3,0	До показателя pH 3,0	До показателя pH 4,0	До показателя pH 4,0
Сахароза	10,0	10,0	10,0	10,0	10	10
Деминерализованная вода	До 100%	До 100%	До 100%	До 100%	До 100%	До 100%

Аликвоты шести образцов отбирали для измерения мутности на турбидиметре Turbiquant® 3000 IR и вязкости на визкозиметре Gilson. Результаты показаны в таблице ниже.

Таблица 14. Измеренная вязкость и мутность шести образцов напитков

Образец	Вязкость (сП)	NTU
A	1,42	36,2
B	2,37	46,3
C	2,69	4,9
D	2,70	5,0
E	1,45	63,1
F	2,25	82,1

Фотография тестовых пробирок, содержащих аликвоты шести образцов напитков с низким содержанием фосфора, показана на фиг. 25. Слева направо аликвоты представляли собой образцы A, B, C, D, E и F. Визуальный осмотр тестовых пробирок подтвердил измерения мутности и зафиксировал, что все образцы напитков были прозрачными и что, в частности, образцы C и D (показатель pH 3,0) были особенно прозрачными. Низкие показатели вязкости продемонстрировали, что образцы напитков с легкостью пьются.

Все ингредиенты, используемые для получения напитка, характеризовались низким содержанием фосфора и не содержали нежелательные минеральные вещества. Таким образом, полученные напитки характеризовались содержанием фосфора, составляющим прим. 45 мг P/100 г белка и обычно они имели очень низкое содержание минеральных веществ. Таким образом, шесть напитков являются подходящими для применения в качестве белковых напитков для пациентов с заболеваниями почек.

Пример 9. Методики анализа

Пример 9.1 Определение лактозилированного BLG относительно нелактозилированного BLG

Количественное определение лактозилированного BLG и нативного BLG выполняли с помощью LC-MS.

Анализы проводили на 6410 Triple Quad MS от Agilent Technologies, сопряженного с установкой для ВЭЖХ серии HP1200 также от Agilent Technologies. Для разделения перед ионизацией использовали колонку Symmetry300™ C18 (WAT106172: частицы твердой фазы 5 мкм, размеры колонки 2,1х150 мм) и выявление белков проводили при 214 нм. Перед анализом образцы фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 микрона. Все образцы обрабатывали двукратно.

Анализы проводили в следующих условиях:

ВЭЖХ

Буфер А: 99,9% MilliQ-vand с 0,1% TFA,

буфер В: 9,9% MilliQ-vand, 90% ацетонитрила, 0,1% TFA.

Скорость потока: 0,3 мл/мин.

Градиент:

0-20 мин: 85-60% А и 15-40% В,

20-45 мин: 60-50% А и 40-50% В,

45-55 мин: 0% А и 100% В,

55-70 мин 85% А и 15% В.

Объем загрузки: 40 мкл.

Температуру колонки устанавливали на 60 градусов С.

Масс-спектрометрия:

Выявляли ионы с показателем масса/заряд 100-2000 и полученные данные анализировали с помощью программного обеспечения MassHunter Workstation, верс. В.04.00. С использованием обращения свертки всех форм группировали одинаковые частицы (массы). Массы от 18 кДа до 20 кДа подвергали дополнительному изучению. Исходная не измененная масса BLG-A составила 18,361 кДа, а BLG-B составила 18,276, при этом лактозилирование добавляло 324 Да к массе белка, путем оценки этой массы на единицу площади можно выявить до 5 лактозилирований на белок. Относительное количественное определение проводили путем сравнения интенсивности сигнала для каждого показателя массы, игнорируя неодинаковую ионизацию различных частиц.

Пример 9.2. Определение общего белка

Общее содержание белков (собственно белка) в образце определяли так, как описано ниже.

- 1) Определяли общий азот в образце согласно ISO 8968-1/2IDF 020-1/2. Молоко. Определение содержания азота. Часть 1/2. Определение содержания азота с использованием методики Кьельдаля.
- 2) Определяли небелковый азот в образце согласно ISO 8968-4IDF 020-4. Молоко. Определение содержания азота. Часть 4. Определение содержания небелкового азота.
- 3) Рассчитывали общее количество белка следующим образом: $(m_{\text{общий азот}} - m_{\text{небелковый азот}}) \cdot 6,38$.

Пример 9.3. Определение плотности неуплотненного вещества и объемной плотности

Плотность сухого порошка определяли как соотношение массы и объема порошка, которое анализировали при помощи специального волюметра Stampf (т. е. мерного цилиндра) в определенных условиях. Плотность обычно выражают в г/мл или кг/л.

В этом способе образец сухого порошка уплотняют в мерном цилиндре. После определенного количества уплотнений считают объем продукта и рассчитывают плотность.

Три типа плотности можно определить с помощью этой методики:

- наливную плотность, которая представляет вес, разделенный на объем порошка, после его переноса в специальный мерный цилиндр;
- плотность неуплотненного вещества которая представляет собой вес, разделенный на объем порошка после 100 уплотнений согласно специальным условиям в этом стандарте;
- объемную плотность, которая представляет собой вес, разделенный на объем порошка после 625 уплотнений согласно специальным условиям в этом стандарте.

В данном способе используют специальный мерный цилиндр объемом 250 мл, градуированный от 0 до 250 мл, весом 190 ± 15 г (J. Engelsmann A. G. 67059 Ludwigshafen/Rh) и волюметр Stampf, например J. Engelsmann A. G.

Плотность неуплотненного вещества и объемную плотность высушенного продукта определяют согласно следующей процедуре.

Предварительная обработка:

образец, который предназначен для измерения, хранят при комнатной температуре.

Затем образец тщательно перемешивают путем повторного вращения и переворачивания контейнера (избегая разрушения частиц). Контейнер заполнен не более чем на 2/3.

Процедура:

отвешивают $100,0 \pm 0,1$ г порошка и переносят его в мерный цилиндр. Объем V_0 определяют в мл.

Если 100 г порошка не соответствуют цилиндру, тогда количество следует снизить до 50 или 25 г.

Устанавливают мерный цилиндр на волюметре Stampf и проводят 100 уплотнений. Выравнивают поверхность шпателем и считывают объем V_{100} в мл.

Переключают количество уплотнений на 625 (вкл. 100 уплотнений). После уплотнения выравнивают поверхность и считывают объем V_{625} в мл.

Расчет показателей плотности:

рассчитывают плотность неуплотненного вещества и объемную плотность, выражаемые в г/мл, согласно следующей формуле:

$$\text{объемная плотность} = M/V,$$

где M обозначает отвешенный образец в граммах, а V обозначает объем после 625 уплотнений в мл.

Пример 9.4. Определение содержания воды в порошке

Содержание воды в продукте питания определяют согласно ISO 5537:2004 (Молоко сухое. Определение содержания влаги (контрольный метод)). NMKL представляет собой сокращение для “Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler” (Скандинавский комитет по анализу пищевых продуктов).

Пример 9.5. Определение общих количеств кальция, магния, натрия, калия, фосфора

Общее количество кальция, магния, натрия, калия и фосфора определяют с помощью процедуры, в которой образцы сначала разрушают с использованием микроволновой энергии, а затем определяют общее количество минерального вещества (минеральных веществ) с использованием устройства ICP.

Устройство:

Система для микроволновой пробоподготовки от Anton Paar, а ICP представляет собой Optima 2000DV от PerkinElmer Inc.

Материалы:

1 М HNO_3 ,

иттрий в 2% HNO_3 .

Подходящие стандарты для кальция, магния, натрия, калия и фосфора в 5% HNO_3 .

Предварительная обработка:

отвесьте определенное количество порошка и перенесите порошок в пробирку для микроволнового расщепления. Добавьте 5 мл 1М HNO_3 . Проведите расщепление образцов в системе для микроволновой пробоподготовки в соответствии с инструкциями для микроволновой пробоподготовки. Поместите пробирки с расщепленными образцами в вытяжной шкаф, снимите крышку и выпарьте летучие вещества.

Процедура измерения:

перенесите предварительно обработанный образец в пробирку для расщепления Digitube с использованием заданного количества воды Milli-Q. Добавьте раствор иттрия в 2% HNO_3 в пробирку для расщепления (приблизительно 0,25 мл на 50 мл разведенного образца) и разбавьте до заданного объема с использованием воды Milli-Q. Анализируйте образцы на ICP с помощью процедуры, описанной производителем.

Холостую пробу получают путем разведения смеси 10 мл 1М HNO_3 и 0,5 мл раствора иттрия в 2% HNO_3 до конечного объема, равного 100 мл, с использованием воды Milli-Q.

Готовили по меньшей мере 3 стандартных образца с концентрациями, которые охватывают предполагаемые значения концентрации образцов.

Пример 9.6. Определение значения содержания фуросина:

значение содержания фуросина определяют так, как описано в “Maillard Reaction Evaluation by Furosine Determination During Infant Cereal Processing”, Guerra-Hernandez et al, Journal of Cereal Science 29 (1999) 171–176, а общее количество белка определяют согласно примеру 9.2. Значение содержания фуросина выражают в единицах мг фуросина на 100 г белка.

Пример 9.7. Определение степени кристалличности BLG в жидкости

Следующий способ используют для определения степени кристалличности BLG в жидкости с показателем pH в диапазоне 5-6.

- a) Перенесите 10 мл образца представляющей интерес жидкости в фильтр Maxi-Spin с размером пор мембраны CA 0,45 микрона.
- b) Сразу же центрифугируйте фильтр при 1500 g в течение 5 мин при температуре в центрифуге 2 градуса C.
- c) Добавьте 2 мл холодной воды milliQ (2 градуса C) со стороны ретентата центробежного фильтра и сразу же центрифугируйте фильтр при 1500 g в течение 5 мин, поддерживая температуру в центрифуге около 2 градусов C, соберите фильтрат (фильтрат А), измерьте объем и определите концентрацию BLG с помощью ВЭЖХ, используя способ, указанный в примере 9.9.
- d) Добавьте 4 мл 2М NaCl со стороны ретентата фильтра, быстро встряхните и отстаивайте смесь в течение 15 минут при 25 градусах C.
- e) Сразу же центрифугируйте фильтр при 1500 g в течение 5 мин и соберите фильтрат (фильтрат В)
- f) Определите общий вес BLG в фильтрате А и фильтрате В, используя способ, указанный в примере 9.9, и конвертируйте результаты в общий вес BLG вместо процентов по весу. Вес BLG в фильтрате А обозначается как $m_{\text{фильтрата А}}$, а вес BLG в фильтрате В обозначается как $m_{\text{фильтрата В}}$.
- g) Степень кристалличности жидкости относительно BLG определяют как:

$$\text{кристалличность} = m_{\text{фильтрата В}} / (m_{\text{фильтрата А}} + m_{\text{фильтрата В}}) * 100\%$$

Пример 9.8. Определение степени кристалличности BLG в сухом порошке

Этот способ используют для определения степени кристалличности BLG в сухом порошке.

- a) 5,0 г образца порошка смешайте с 20,0 г холодной воды milliQ (2 градуса C) и дайте смеси отстояться в течение 5 минут при 2 градусах C.
- b) Перенесите образец представляющей интерес жидкости в фильтр Maxi-Spin с размером пор мембраны CA 0,45 микрона.
- c) Сразу же центрифугируйте фильтр при 1500 g в течение 5 мин при температуре в центрифуге 2 градуса C.
- d) Добавьте 2 мл холодной воды milli-Q (2 градуса C) со стороны концентрата центробежного фильтра и сразу же центрифугируйте фильтр при 1500 g в течение 5 мин, соберите фильтрат (фильтрат А), измерьте объем и определите концентрацию BLG с помощью ВЭЖХ, используя способ, указанный в примере 9.9., и конвертируйте результаты в общий вес BLG вместо процентов по весу. Вес BLG в фильтрате А обозначается как $m_{\text{фильтрата А}}$
- f) Затем рассчитывают степень кристалличности BLG в порошке с помощью следующей формулы:

$$\text{кристалличность} = \frac{m_{\text{BLG общего}} - m_{\text{фильтрата А}}}{m_{\text{BLG общего}}} * 100\%$$

где $m_{\text{общего BLG}}$ представляет общее количество BLG в образце порошка из стадии a).

Если общее количество BLG в образце порошка неизвестно, то его можно определить путем суспендирования дополнительных 5 г образца порошка (из того же источника порошка) в 20,0 г воды milliQ, довести показатель pH до 7,0 путем добавления водного раствора NaOH, дать смеси отстояться в течение 1 часа при 25 градусах C с перемешиванием, и наконец, определить общее количество BLG в образце порошка, используя пример 9.9.

Пример 9.9. Определение общего количества BLG, ALA и CMP в водной жидкости

Содержание альфа-лактальбумина, бета-лактоглобулина и CMP анализировали с помощью ВЭЖХ-анализа при 0,4 мл/мин. 25 мкл отфильтрованного образца вводили в 2 колонки TSKgel3000PWxl (7,8 мм x 30 см, Tosohass, Япония), соединенные последовательно с присоединенной предколонкой PWxl (6 мм x 4 см, Tosohass, Япония), уравновешенные по элюенту (состоящему из 465 г воды MilliQ, 417,3 г ацетонитрила и 1 мл трифторуксусной кислоты) и с использованием УФ-детектора при 210 нм.

Количественное определение значений содержания нативных альфа-лактальбумина ($C_{\text{альфа}}$), бета-лактоглобулина ($C_{\text{бета}}$) и макропептида казеина (C_{CMP}) проводили путем сравнения значений площади пиков, полученных для соответствующих стандартных белков, с такими значениями, полученными для образцов.

Общее количество дополнительного белка (белка, не являющегося BLG) определяли путем вычитания количества BLG из количества общего белка (определенного согласно примеру 9.2)

Пример 9.10. Определение проводимости ультрафильтрата

15 мл образца переносят в центрифужный фильтр Amicon Ultra-15 с порогом отсечения по молекулярной массе 3 кДа (3000 NMWL) и центрифугируют при 4000 g в течение 20-30 минут или до тех пор, пока достаточный для измерения проводимости объем ультрафильтрата не накопится в нижней части центрифужных фильтров. Проводимость измеряют сразу же после центрифугирования. Обработку и центрифугирование образцов проводят при температуре источника образца.

Пример 9.11. Определение степени денатурации белка в композиции на основе молочного сывороточного белка

Денатурированный молочный сывороточный белок, как известно, характеризуется более низкой растворимостью при показателе pH 4,6, чем при показателе pH 7,0, и степень денатурации композиции на основе молочного сывороточного белка определяют путем измерения количества растворимого белка при показателе pH 4,6 относительно общего количества белка при показателе pH 7,0.

Более конкретно композицию на основе молочного сывороточного белка, которая предназначена для анализа (например, порошок или водный раствор), превращают в:

- первый водный раствор, содержащий 5,0% (вес/вес) общего белка и характеризующийся показателем pH 7,0, и
- второй водный раствор, содержащий 5,0% (вес/вес) общего белка и характеризующийся показателем pH 4,6.

Корректировку показателя pH проводят с помощью 3% (вес/вес) NaOH (водн.) или 5% (вес/вес) HCl (водн.).

Содержание общего белка ($P_{pH\ 7,0}$) в первом водном растворе определяют согласно примеру 9.2.

Второй водный раствор выдерживают в течение 2 ч при комнатной температуре, а затем центрифугируют при 3000 g в течение 5 минут. Образец супернатанта извлекают и анализируют согласно примеру 9.2 для определения общего белка ($S_{pH\ 4,6}$).

Степень денатурации белка, D, композиции на основе молочного сывороточного белка рассчитывают следующим образом:

$$D = ((P_{pH\ 7,0} - S_{pH\ 4,6}) / P_{pH\ 7,0}) * 100\%$$

Пример 9.12. Определение высушенных кристаллов BLG в порошке

Присутствие высушенных кристаллов BLG в порошке можно определить следующим образом:

образец порошка, предназначенный для анализа, повторно суспендируют и аккуратно перемешивают в деминерализованной воде с температурой 4 градуса C при соотношении по весу 2 части воды и 1 часть порошка, и позволяют регидратироваться в течение 1 часа при 4 градусах C.

Регидратированный образец визуально анализировали под микроскопом для определения присутствия кристаллов, предпочтительно с помощью плоско поляризованного света для выявления двулучепреломления.

Кристаллоподобное вещество отделяли и анализировали с помощью рентгеновской кристаллографии для оценки присутствия кристаллической структуры, и также предпочтительно оценки того, соответствует ли кристаллическая решетка (пространственная группа и параметры элементарной ячейки) кристаллу BLG.

Химический состав отделенного кристаллоподобного вещества анализировали для того, чтобы удостовериться в том, что его твердые вещества главным образом состоят из BLG.

Пример 10. Кристаллизация с помощью динамической фильтрации в тангенциальном потоке на основе ультрафильтрации

Сырье для резервуара для кристаллизации готовили так, как описано в примере 1, за исключением того, что диафильтрацию проводили при показателе pH 5,92 и конечное содержание TS составило 20%.

После обработки сырьевого материала (состав сырьевого материала можно увидеть в таблице 15) его переносили в 300 л резервуар для кристаллизации и показатель pH исходно доводили до pH 5,80, а температуру поддерживали на уровне 10-12 градусов С. После доведения показателя pH добавляли затравочный материал, который получали таким же образом, как описано в примере 1, но не в результате самопроизвольной кристаллизации. В сырьевой материал добавляли затравочный материал в концентрации 0,5 г затравочного материала на литр сырьевого материала. После введения затравки температуру охлаждающей рубашки устанавливали на 5 градусов С, показатель pH медленно доводили до 5,50, и смесь оставляли кристаллизоваться в течение приблизительно часа, после чего установку для DCF (динамической фильтрации в тангенциальном потоке) подключали к резервуару для кристаллизации, как показано на фиг. 26. Установка для DCF оснащена керамическими мембранами Kerafol с размером пор 500 нм, TMP (трансмембранное давление) устанавливали на 0,4 бар, а скорость вращения мембраны составляла 32 Гц.

Ретентат из DCF возвращали в резервуар для кристаллизации, тогда как фильтрат использовали как сырьевой материал в установке для UF (ультрафильтрации), оснащенной мембраной типа HFK-328 Koch с разделителем толщиной 46 мил. В установке для UF температурам позволяли повыситься, но до не более 12 градусов С. Количество добавленной воды для диафильтрации регулировали так, чтобы выходящий из UF ретентат, который поступает обратно в резервуар для кристаллизации, содержал приблизительно 21% TS, тогда как минеральные вещества удалялись из маточной жидкости (ML).

Диафильтрация ML продолжалась до тех пор, пока разница проводимости между фильтратом и водой для диафильтрации не становилась ниже 50 мСм/см. В этот момент количество воды для диафильтрации регулировали так, чтобы ретентат содержал приблизительно 30% TS. Количество TS в ML снижалось, когда BLG удаляли в виде кристаллов; это непрерывное удаление избытка воды и минеральных веществ обеспечивает возможность увеличения общего выхода, поскольку предполагается, что концентрация других белков при кристаллизации BLG имеет ограниченный эффект, если имеет, в отношении растворимости BLG в диапазонах, которые были исследованы.

Состав фильтрата ML из DCF можно увидеть в таблице 16. Исходные 300 л сырьевого материала уменьшались до около 100 л ML. Исходя из сохранения массы, рассчитанный относительный выход BLG составил 92%.

Таблица 15. Определенные компоненты сырьевого материала, используемого в примере 10

Сырьевой материал, стандартизованный до
95% TS

Белковый состав (% вес/вес относительно
общего белка)

ALA	22,9
-----	------

BLG	50,2
-----	------

СМР и другие белки	26,5
--------------------	------

Другие компоненты (% вес/вес относительно
общего веса стандартизованного сырьевого
материала)

Ca	0,387
----	-------

K	0,350
---	-------

Mg	0,058
----	-------

Na	0,245
----	-------

P	0,210
---	-------

Жиры	BDL
------	-----

Белки	90
-------	----

Таблица 16. Белковый состав конечной маточной жидкости, полученной в примере 10

Конечная ML, стандартизованная до 95% TS

Белковый состав (% вес/вес относительно
общего белка)

ALA	42,9
BLG	6,8
СМР и другие белки	50,3

Закключение:

путем непрерывного удаления избытка минеральных веществ и воды из матрицы, где происходит кристаллизация BLG, выход BLG можно значительно повысить, и при этом способ можно проводить при низких температурах.

Пример 11. Степень денатурации белков из различных продуктов на основе молочных сывороточных белков

Сравнивали степень денатурации белка из коммерческого продукта и из четырех пищевых композиций на основе BLG по настоящему изобретению. Образцы описаны ниже.

Образцы
A: BiPro (коммерчески доступный WPI; Davisco, США)
B: суспензия кристаллов BLG в том виде, в котором они есть - без высушивания (настоящее изобретение)
C: суспензия кристаллов BLG высушенная лиофилизацией (настоящее изобретение)
D: кристаллы BLG, повторно растворенные (pH 7) и высушенные лиофилизацией
E: суспензия кристаллов BLG, высушенная распылением (настоящее изобретение)

Образцы B-E получали готовили образом:

суспензию кристаллов готовили так, как описано в примере 12, и отделяли так, как описано в примере 7. Некоторую часть отделенной суспензии BLG отбирали и разделяли на четыре части.

Образец B: первую часть отделенной суспензии кристаллов BLG повторно растворяли без высушивания путем доведения показателя pH суспензии кристаллов BLG до 7,01, используя 3% NaOH; и затем образец разводили до Bx 6 для получения примерно 5% раствора белка.

Образец C: вторую часть отделенной суспензии кристаллов BLG высушивали лиофилизацией. Затем порошок повторно суспендировали в глубоко деминерализованной воде, показатель pH довели до 7,09, используя 3% NaOH, и затем образец разводили до 6 по шкале Брикса для получения примерно 5% раствора белка.

Образец D: третью часть отделенной суспензии кристаллов BLG повторно растворяли путем доведения показателя pH до 7,0, используя 3% NaOH, затем высушивали лиофилизацией. Высушенный лиофилизацией порошок затем повторно суспендировали в глубоко деминерализованной воде, и при измерении показатель pH составил 7,07. Затем образец разбавляли до 6 по шкале Брикса для получения приблизительно 5% раствора белка.

Образец E: четвертую часть отделенной суспензии кристаллов BLG обрабатывали и высушивали распылением, как описано в примере 7. Затем порошок повторно суспендировали в глубоко деминерализованной воде, и показатель pH доводили до 7,04, используя 3% NaOH. Затем образец разбавляли до 6 по шкале Брикса для получения приблизительно 5% раствора белка.

Степень денатурации белка в каждом образце определяли согласно примеру 9.11, и результаты представлены в таблице 17.

Таблица 17. Сравнение степени денатурации белка коммерчески доступного продукта на основе WPI (Bipro) с 4 продуктами на основе BLG по настоящему изобретению

Образец	Общий белок, концентрация при показателе pH 7	Общая концентрация растворимого белка при показателе pH 4,6	Степень белка денатурации (%)
A: BiPro (коммерчески доступный WPI)	5,11	4,54	11,15
B: суспензия кристаллов BLG в том виде, в котором они есть (без высушивания)	4,62	4,56	1,30
C: суспензия кристаллов BLG, высушенная лиофилизацией	4,74	4,69	1,05
D: кристаллы BLG, повторно растворенные (pH 7) и высушенные лиофилизацией	4,74	4,69	1,05
E: суспензия кристаллов BLG, высушенная лиофилизацией	4,75	4,71	0,84

Заключение:

независимо от способа высушивания, пищевые композиции на основе BLG по настоящему изобретению характеризуются неожиданно низкой степенью содержания денатурированного белка, которая составляет лишь десятую часть показателя, который определяют в коммерчески доступном WPI, используемом для сравнения. Особенно неожиданно то, что высушенные распылением суспензии кристаллов BLG по-прежнему характеризуются наиболее низкой степенью денатурации среди всех продуктов.

Пример 12. Отделение кристаллов с помощью динамической фильтрации в тангенциальном потоке

Обедненный по лактозе UF-ретентат, полученный из сладкой молочной сыворотки в ходе стандартного способа производства сыра, отфильтрованный через фильтр с размером пор 1,2 микрона, использовали в качестве сырьевого материала для способа кристаллизации. Сырьевой материал, представляющий собой сладкую молочную сыворотку, обрабатывали на установке для ультрафильтрации с использованием мембраны типа HFK-328 Koch с разделителем толщиной 46 мил, давлением подачи 1,5-3,0 бар, с использованием сырьевого материала в концентрации 10% TS (общее количество твердых веществ) ± 5 и глубоко деминерализованной воды (воды, отфильтрованной с помощью обратного осмоса с достижением проводимости не более 0,05 мСм/см) в качестве среды для диафильтрации. Температура сырьевого материала и ретентата в ходе ультрафильтрации составляла прим. 12 градусов С. Затем показатель pH доводили за счет добавления HCl с достижением показателя pH, составляющего прим. 5,60. Диафильтрацию продолжали до тех пор, пока проводимость ретентата не стала ниже 1,30 мСм/см. Сырьевой материал затем нагревали до 25 градусов С перед концентрированием ретентата до прим. 27% TS (прибл. 21% общего белка относительно общего веса концентрированного ретентата). Проводимость фильтрата составляла 0,33 мСм/см в завершении концентрирования. Образец концентрированного ретентата центрифугировали при 3000 g в течение 5 минут, но при этом визуально различимые пеллеты не образовывались.

Концентрированный ретентат переносили в 300 л резервуар для кристаллизации, где его охлаждали до приблизительно 6 градусов С и выдерживали при этой температуре в течение ночи при умеренном перемешивании. К утру следующего дня ретентат кристаллизовался. Маточную жидкость и кристаллы разделяли центрифугированием при 3000 g в течение 5 минут, а образцы супернатанта и пеллет отбирали для анализа в ВЭЖХ. Выход BLG в этом способе составил 67%.

Суспензию кристаллов из 300 л резервуара использовали для сырьевого материала в системе Andritz DCF 152S, используя одного мембранного диска с размером пор 500 нм. Фильтрацию проводили при 8 градусах С, скорость вращения составляла 32 Гц, а трансмембранное давление составляло 0,4 бар. Система работает как "тупиковая" фильтрация, где ретентат накапливается в фильтровальной камере в отличие от больших установок, где ретентат будет постоянно отводиться. Фильтрацию проводят в устойчивом режиме только в течение 40 минут, в этот момент твердые вещества, которые накопились в фильтровальной камере, начинают оказывать влияние на фильтрацию.

Количество массы кристаллов значительно повышалось при проведении технологического процесса DFC.

Вывод.

DCF обеспечивает стабильное и эффективное средство для отделения кристаллов от ML. При необходимости промывающую жидкость можно добавить в DCF.

Пример 13. Отделение кристаллов с помощью фильтрационной центрифуги

Используя тот же сырьевой материал и тот же способ кристаллизации, как и в примере 12, разделение испытывали на фильтрационной центрифуге HZ 25/0.1, оснащенной фильтровальной тканью с размером пор около 20 микрон.

Тест 1: 4 л сырьевого материала подавали в фильтрационную центрифугу, которая работала при 60 g. После добавления всего сырьевого материала центрифугу ускоряли до 250 g для высушивания фильтровального осадка. Осадок содержал 47,6% TS; состав осадка показан в таблице 18.

После очистки в центрифугу подавали 7 л того же сырьевого материала, который описан выше, при 60 g. Затем центрифугу ускоряли до 250 g для удаления воды в течение приблизительно 5 минут перед повторным снижением скорости до 60 g, и 0,25 л глубоко деминерализованной воды добавляли для промывания. После добавления промывочной воды центрифугу снова ускоряли до 250 g для удаления воды. TS в осадке составило 47%. Осадок показан на фиг. 27.A. Состав осадка, фракция ML и промывающая жидкость после промывания показаны в таблице 18. После обезвоживания осадка, предприняли попытку снять его со стенок центрифуги; верхний слой истлевал и выпадал через специальную трубку, как видно на фиг. 27.C, а нижний слой был слишком влажным и липким, чтобы соответствующим образом отслоиться, что видно на фиг. 27.B.

Таблица 18. Концентрация определенных компонентов композиций, представленных в примере 13

	Сырьевой материал для кристаллизации	ML после центрифугирования (тест 1)	Фильтровальный осадок, без промывания (тест 1)	ML после центрифугирования (тест 2)	Фильтровальный осадок, с промыванием (тест 2)	Промывочная вода после промывания (тест 2)
Белки ¹⁾ :						
ALA	1,50	1,67	BDL	1,52	BDL	1,07
BLG	12,4	4,10	46,9	5,80	47,9	3,80
CMF	3,56	3,84	BDL	3,3	BDL	BDL
Другие компоненты ²⁾ :						
Ca	0,410	0,410	0,161	0,529	0,149	0,558
K	0,315	0,315	0,073	0,424	0,068	0,445
Mg	0,075	0,075	0,025	0,098	0,024	0,103
Na	0,078	0,078	BDL	0,109	BDL	0,139
P	0,181	0,181	BDL	0,275	BDL	0,289
Общий белок	90	90	91	86	93	88

¹⁾ Белковый состав % (вес/вес) относительно веса раствора

²⁾ Концентрация других выбранных компонентов (% вес/вес относительно общего веса композиции, стандартизованной до 95% общего количества сухих веществ)

Заключение:

фильтрационные центрифуги обеспечивали перспективный вариант получения осадка, содержащего BLG, который является настолько чистым, что содержание ALA и CMP находится ниже уровня, требуемого для количественного определения даже без промывания. За счет использования даже небольшого объема промывочной среды для фильтровального осадка, содержание минеральных веществ в осадке можно снизить в еще большей степени, что видно по белковому составу промывочной воды в таблице 18. Содержание не являющегося BLG белка в осадке также снижалось за счет промывания, как можно увидеть, при использовании промывочной воды. Используемая промывочная вода содержит ALA и BLG в соотношении, которое больше, чем такое соотношение в фильтровальном осадке. Это свидетельствует о том, что стадия промывания проявляет большую тенденцию к удалению ALA (и, очевидно, других не являющихся BLG белков), чем BLG.

Фильтровальные осадки, которые получали в данном случае, были не отслаивающимися, но по-прежнему проницаемыми. Это делает возможным вариант добавления сушильного газа при заданной температуре для снижения содержания влаги в фильтровальном осадке до той степени, при которой он становится отслаивающимся, подобно верхнему слою. Альтернативно фильтровальный осадок можно повторно растворять в центрифуге путем добавления соответствующего количества кислоты, основания или соли в водном растворе в центрифуге с сифонным устройством.

Пример 14. Влияние минерального состава раствора молочного сывороточного белка

В данном примере исследовали влияние молярного соотношения одновалентных и двухвалентных катионов металлов на выход BLG.

Сравнивали два образца:

образец А: с избытком Na^+ (источник: Na_2SO_4),

образец В: с избытком Ca^{2+} (источник: CaSO_4).

Тот же тип неочищенного материала, который использовали в примере 1, корректировали с использованием 2,5% серной кислотой. Показатель pH образцов доводили до показателя pH около 5,4; точный показатель pH указан в таблице 20. Исходный объем каждого образца составлял 250 мл. Два образца подвергали диализу в другом 24 л контейнере относительно примерно 24 л холодной глубоко деминерализованной воды. Для всех процессов диализа использовали диализную пробирку OrDial D-Clean MWCO 3500 (номер изделия 63034405). Контейнеры непрерывно встряхивали в ходе проведения процессов диализа, и диализ проходил в охлаждающем устройстве при 4 градусах С. Первый диализ происходил в течение ночи.

Для удаления избытка ионов после первого диализа диализные мешки переносили в контейнер, содержащий 2 л солевого раствора. Концентрации были следующими:

образец А: Na_2SO_4 (сульфат натрия) 0,059 М,

образец В: CaSO_4 (сульфат кальция) 0,059 М.

Первый диализ солей происходил в течение ночи. Проводимость, показатель pH и содержание сухих веществ по шкале Брикса после первого диализа солей указаны в таблице 20. Солевые растворы заменяли на свежие, и диализ продолжали в течение недели.

После второго диализа солей пробирки переносили в 24 л контейнер, заполненный примерно 24 л холодной глубоко деминерализованной воды, и подвергали диализу в течение ночи для удаления избытка ионов перед кристаллизацией.

После последней стадии диализа концентрация белков была несколько ниже предпочтительной. Таким образом, образцы концентрировали на лабораторной установке Pellicon XL UF с использованием мембраны с порогом отсечения по молекулярной массе 10 кДа и перистальтического насоса, работающего в режиме 75 мл/ч. Содержание минеральных веществ в образцах вместе с неочищенным материалом показаны в таблице 19.

Затем в образцы добавляли затравку – 0,5 г/л затравочного материала, описанного ранее, и оставляли для кристаллизации при 4 градусах C на ночь. В результате на следующий день кристаллический осадок был визуально различим во всех образцах. Образцы для ВЭЖХ из каждого образца получали центрифугированием каждого образца при 3000g в течение 5 минут с последующим анализом образца супернатанта. Результаты показаны в таблице 21.

Таблица 19. Концентрации определенных минеральных компонентов в неочищенном материале и образцах A и B из примера 14

Компонент	Неочищенный материал (% вес/вес)	Образец A до крист. (% вес/вес)	Образец A изменение ¹⁾ (%)	Образец B до крист. (% вес/вес)	Образец B изменение ¹⁾ (%)
Кальций	0,45	0,13	-71	0,82	82
Хлорид	0,21	Не тестировали	Не тестировали	Не тестировали	Не тестировали
Калий	0,60	0,04	-93	0,06	-90
Магний	0,08	0,02	-75	0,02	-75
Натрий	0,14	0,59	321	0,08	-43
Фосфор	0,22	0,21	-5	0,24	9
Белки	86,9	87,8	1	86,2	-1

¹⁾ Изменение относительно концентрации указанных компонентов в неочищенном материале

Таблица 20. Показатель pH, проводимость и градусы по шкале Брикса на разных стадиях в ходе получения образцов A и B

Образец	Стадия	Показатель pH	Провод. (мСм/см)	по шкале Брикса (°)
A	Коррекция показателя pH	5,41	3,52	21,9
A	После первого диализа солей	5,45	6,48	15,4
A	После второго диализа солей	5,51	5,76	12,3

A	После удаления избытка ионов	5,48	0,883	9,5
	посредством диализа			
A	После концентрирования белков	5,48	1,622	16,4
	посредством лабораторной ультрафильтрации			
A	Конечная коррекция показателя pH	5,42		
B	Коррекция показателя pH	5,41	3,52	21,9
B	После первого диализа солей	5,37	1,55	14,4
B	После второго диализа солей	5,41	1,251	12,4
B	После удаления избытка ионов	5,32	0,643	11,3
	посредством диализа			
B	После концентрирования белков	5,32	0,891	11,9
	посредством лабораторной ультрафильтрации			
B	Конечная коррекция показателя pH	5,42		

Таблица 21. Концентрация BLG в образцах с различными соотношениями одно- и двухвалентных катионов

Образец	BLG (% вес/вес)
A (высокое содержание Na^+) – раствор молочного сывороточного белка с кристаллами BLG до отделения	6,47
A (высокое содержание Na^+) – маточная жидкость после отделения кристаллов	3,94
B (высокое содержание Ca^{2+}) – раствор молочного сывороточного белка с кристаллами BLG до отделения	3,56
B (высокое содержание Ca^{2+}) – маточная жидкость после отделения кристаллов	2,22

Заключение:

в таблице 21 показано, что меньшее остаточное количество BLG остается в маточной жидкости (и достигается более высокий выход отделенных кристаллов BLG), если не допускают высокого молярного соотношения одновалентных и двухвалентных катионов. Молярное соотношение одновалентных и двухвалентных катионов, а фактически Na^+K^+ и $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$, можно контролировать для увеличения выхода BLG в способе по настоящему изобретению.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения пищевой композиции, содержащей бета-лактоглобулин (BLG) в кристаллизованной и/или выделенной форме, при этом способ предусматривает стадии:

5 а) обеспечения раствора молочного сывороточного белка, содержащего BLG и по меньшей мере один дополнительный молочный сывороточный белок, при этом указанный раствор молочного сывороточного белка:

- является перенасыщенным по BLG и характеризуется показателем pH в диапазоне 5-6,

- содержит BLG в количестве не более 90% (вес/вес),

10 б) кристаллизации BLG в перенасыщенном растворе молочного сывороточного белка предпочтительно в режиме всаливания, и

с) необязательно отделения кристаллов BLG от остального раствора молочного сывороточного белка.

2. Способ по п. 1, дополнительно предусматривающий стадию d) промывания кристаллов BLG, например, отделенных кристаллов, полученных на стадии с).

15 3. Способ по п. 1 или п. 2, дополнительно предусматривающий стадию e) перекристаллизации кристаллов BLG, например, кристаллов BLG, полученных на стадии с) или d).

4. Способ по любому из предыдущих пунктов, дополнительно предусматривающий стадию f) высушивания содержащей BLG композиции, полученной на стадиях b), c), d) или e).

20 5. Способ по любому из предыдущих пунктов, где раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 5% (вес/вес) ALA относительно общего количества белка.

6. Способ по любому из предыдущих пунктов, где раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 15% (вес/вес) дополнительного молочного сывороточного белка относительно общего количества белка.

25 7. Способ по любому из предыдущих пунктов, где раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 1% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка.

8. Способ по любому из предыдущих пунктов, где раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 0,4% (вес/вес) BLG относительно веса раствора молочного сывороточного белка.

30 9. Способ по любому из предыдущих пунктов, где раствор молочного сывороточного белка содержит концентрат белка сыворотки молока, концентрат молочного сывороточного белка, изолят белка сыворотки молока и/или изолят молочного сывороточного белка.

10. Способ по любому из предыдущих пунктов, где соотношение проводимости и общего количества белка в растворе молочного сывороточного белка составляет не более 0,3.
11. Способ по любому из предыдущих пунктов, где проводимость ультрафильтрата раствора молочного сывороточного белка составляет не более 7 мСм/см.
- 5 12. Способ по любому из предыдущих пунктов, где перенасыщенный раствор молочного сывороточного белка получают путем осуществления в отношении сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка одной или нескольких из следующих корректировок:
- 10
- корректировки показателя pH,
 - снижения проводимости,
 - снижения температуры,
 - повышения концентрации белка и
 - добавления средства, которое снижает активность воды.
13. Способ по любому из предыдущих пунктов, где получение раствора молочного сывороточного белка включает корректировку показателя pH сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка.
- 15 14. Способ по любому из предыдущих пунктов, где получение раствора молочного сывороточного белка включает снижение проводимости сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка.
15. Способ по любому из предыдущих пунктов, где получение раствора молочного сывороточного белка включает снижение температуры сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка.
16. Способ по любому из предыдущих пунктов, где получение раствора молочного сывороточного белка
- 20 включает повышение концентрации общего белка в сырьевом материале на основе молочного сывороточного белка.
17. Способ по любому из предыдущих пунктов, где кристаллизация BLG на стадии b) включает одно или несколько из следующего:
- 25
- ожидания прохождения кристаллизации,
 - добавления затравок для кристаллизации,
 - еще большего повышения значений степени перенасыщения по BLG и/или
 - механического воздействия.
18. Способ по любому из пп. 1-17, где стадия c) предусматривает отделение кристаллов BLG с достижением содержания твердых веществ, составляющего по меньшей мере 30% (вес/вес),
- 30 предпочтительно по меньшей мере 40% (вес/вес) и еще более предпочтительно по меньшей мере 50% (вес/вес).

19. Способ по любому из пп. 2-19, где промывание на стадии d) включает приведение отделенных кристаллов BLG в контакт с промывающей жидкостью без полного растворения кристаллов BLG и последующее отделение оставшихся кристаллов BLG от промывающей жидкости.
- 5 20. Способ по п. 19, где в ходе промывания на стадии d) растворяется не более 80% (вес/вес) от исходного количества кристаллов BLG, предпочтительно не более 50% (вес/вес) и еще более предпочтительно не более 20% (вес/вес) от исходного количества кристаллов BLG.
21. Способ по любому из пп. 3-20, где стадия перекристаллизации включает:
- растворение отделенных кристаллов BLG в жидкости для перекристаллизации,
 - корректировку свойств жидкости для перекристаллизации с достижением перенасыщения по BLG,
 - 10 - кристаллизацию BLG в перенасыщенной жидкости для перекристаллизации с откорректированными свойствами и
 - отделение кристаллов BLG от оставшейся жидкости для перекристаллизации с откорректированными свойствами.
- 15 22. Способ по любому из пп. 3-21, где кристаллы BLG из стадии d) подвергают перекристаллизации по меньшей мере 2 раза.
23. Способ по любому из пп. 4-22, где стадия высушивания включает одно или несколько из высушивания распылением, высушивания лиофилизацией, центробежного аэрофонтанного высушивания, высушивания во вращающемся барабане и/или высушивания в псевдоожиженном слое.
- 20 24. Пищевая композиция на основе BLG, при этом указанная композиция получена с помощью одного или нескольких способов по любому из пп. 1-23.
25. Пищевая композиция на основе BLG, содержащая по меньшей мере 90% (вес/вес) BLG относительно общего количества твердых веществ.
26. Пищевая композиция на основе BLG по п. 25, характеризующаяся степенью кристалличности BLG, составляющей по меньшей мере 10%.
- 25 27. Пищевая композиция на основе BLG по любому из пп. 24-26, содержащая не более 90% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка и характеризующаяся степенью кристалличности BLG, составляющей по меньшей мере 10%.
28. Пищевая композиция на основе BLG по любому из пп. 24-27, где композиция представляет собой сухую композицию.

29. Сухая композиция на основе BLG по п. 28 в виде порошка с объемной плотностью, составляющей по меньшей мере 0,4 г/мл, который предпочтительно представляет собой высушенный распылением порошок.
30. Сухая композиция на основе BLG по п. 28 или п. 29, содержащая
- 5 - по меньшей мере 20% (вес/вес) BLG относительно общего количества белка и
- характеризующаяся степенью кристалличности BLG, составляющей по меньшей мере 10%.
31. Пищевая композиция на основе BLG по любому из пп. 24-27, где композиция представляет собой жидкую композицию.
32. Пищевая композиция на основе BLG по любому из пп. 24-31, где композиция представляет собой
- 10 композицию с низким содержанием минеральных веществ.
33. Пищевая композиция на основе BLG по любому из пп. 24-32, где композиция представляет собой композицию с низким содержанием фосфора.
34. Применение пищевой композиции на основе BLG по любому из пп. 24-33 в качестве пищевого ингредиента.
- 15 35. Применение пищевой композиции на основе BLG с низким содержанием фосфора, определенной в любом из пп. 24-33, в качестве пищевого ингредиента в получении продукта питания с низким содержанием фосфора.
36. Продукт питания, содержащий пищевую композицию на основе BLG по любому из пп. 24-33 и по меньшей мере дополнительный ингредиент, такой как, например, источник жиров и/или углеводов.
- 20 37. Продукт питания по п. 36, который представляет собой сухой продукт питания, содержащий углевод и белок, при этом указанный сухой продукт питания содержит по меньшей мере 1% (вес/вес) BLG, где:
- i) BLG характеризуется степенью кристалличности, составляющей по меньшей мере 10%, и/или
- ii) по меньшей мере 90% (вес/вес) от общего количества белка приходится на BLG.
38. Продукт питания по любому из пп. 36-37, который представляет собой продукт питания с низким
- 25 содержанием фосфора, содержащий не более 80 мг фосфора на 100 г белка.
39. Продукт питания по любому из пп. 36-38, который представляет собой молочный продукт, конфету, напиток, протеиновый батончик или питательную композицию для энтерального введения.
40. Продукт питания по любому из пп. 36-39 в виде напитка:

- содержащий пищевой продукт, определенный в любом из пп. 24-33, обеспечивающий общее количество BLG, составляющее по меньшей мере 1% (вес/вес),

- подсластитель,

- по меньшей мере одну пищевую кислоту,

5 - характеризующийся показателем pH в диапазоне 2,5-4,0 и

- содержащий не более 80 мг фосфора на 100 г белка.

41. Выделенный кристалл BLG, имеющий ромбическую пространственную группу $P 2_1 2_1 2_1$ и параметры элементарной ячейки $a=68,68 (\pm 5\%) \text{ \AA}$, $b=68,68 (\pm 5\%) \text{ \AA}$ и $c=156,65 (\pm 5\%) \text{ \AA}$; и имеющий интегральные углы элементарной ячейки $\alpha=90^\circ$, $\beta=90^\circ$ и $\gamma=90^\circ$.

10 42. Выделенный кристалл BLG по п. 41, содержащий по меньшей мере 20% (вес/вес) BLG и не более приблизительно 80% (вес/вес) воды.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

измененная на международной стадии

1. Способ получения пищевой композиции, содержащей бета-лактоглобулин (BLG) в кристаллизованной форме, при этом способ предусматривает стадии

а) обеспечения раствора молочного сывороточного белка, содержащего BLG и по меньшей мере один дополнительный молочный сывороточный белок, при этом указанный раствор молочного сывороточного белка:

- является перенасыщенным по BLG и характеризуется показателем pH в диапазоне 5-6,

- содержит BLG в количестве не более 85% вес/вес относительно общего количества белка,

и где:

- раствор молочного сывороточного белка характеризуется проводимостью не более 5 мСм/см, или

- соотношение проводимости (выраженной в мСм/см) и общего количества белка в растворе молочного сывороточного белка (выраженного в вес. % общего белка относительно общего веса раствора молочного сывороточного белка) составляет не более 0,3,

б) кристаллизации BLG в перенасыщенном растворе молочного сывороточного белка в режиме всаливания, и

с) необязательно отделения кристаллов BLG от остального раствора молочного сывороточного белка.

2. Способ по п. 1, дополнительно предусматривающий стадию d) промывания кристаллов BLG, например, отделенных кристаллов, полученных на стадии с).

3. Способ по любому из предыдущих пунктов, дополнительно предусматривающий стадию e) перекристаллизации кристаллов BLG, например, кристаллов BLG, полученных на стадии с) или d).

4. Способ по любому из предыдущих пунктов, дополнительно предусматривающий стадию f) высушивания содержащей BLG композиции, полученной на стадиях b), c), d) или e).

5. Способ по любому из предыдущих пунктов, где раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 5% вес/вес альфа-лактальбумина (ALA) относительно общего количества белка.

6. Способ по любому из предыдущих пунктов, где раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 15% вес/вес дополнительного молочного сывороточного белка относительно общего количества белка.

7. Способ по любому из предыдущих пунктов, где раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 1% вес/вес BLG относительно общего количества белка.

8. Способ по любому из предыдущих пунктов, где раствор молочного сывороточного белка из стадии а) содержит по меньшей мере 0,4% вес/вес BLG относительно веса раствора молочного сывороточного белка.

9. Способ по любому из предыдущих пунктов, где раствор молочного сывороточного белка содержит концентрат белка сыворотки молока, концентрат молочного сывороточного белка, изолят белка сыворотки молока и/или изолят молочного сывороточного белка.

10. Способ по любому из предыдущих пунктов, где перенасыщенный раствор молочного сывороточного белка получают путем осуществления в отношении сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка одной или нескольких из следующих корректировок:

- корректировки показателя pH,
- снижения проводимости,
- снижения температуры,
- повышения концентрации белка и
- добавления средства, которое снижает активность воды.

11. Способ по п. 10, где получение раствора молочного сывороточного белка включает корректировку показателя pH сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка.

12. Способ по любому из пп. 10-11, где получение раствора молочного сывороточного белка включает снижение проводимости сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка.

13. Способ по любому из пп. 10-12, где получение раствора молочного сывороточного белка включает снижение температуры сырьевого материала на основе молочного сывороточного белка.

14. Способ по любому из пп. 10-13, где получение раствора молочного сывороточного белка включает повышение концентрации общего белка в сырьевом материале на основе молочного сывороточного белка.

15. Способ по любому из предыдущих пунктов, где кристаллизация BLG на стадии b) включает одно или несколько из следующего:

- ожидания прохождения кристаллизации,
- добавления затравок для кристаллизации,
- еще большего повышения значений степени перенасыщения по BLG и/или
- механического воздействия.

16. Способ по любому из пп. 1-15, где стадия с) предусматривает отделение кристаллов BLG с достижением содержания твердых веществ, составляющего по меньшей мере 30% вес/вес, предпочтительно по меньшей мере 40% вес/вес и еще более предпочтительно по меньшей мере 50% вес/вес.

17. Способ по любому из пп. 2-16, где промывание на стадии d) включает приведение отделенных кристаллов BLG в контакт с промывающей жидкостью без полного растворения кристаллов BLG и последующее отделение оставшихся кристаллов BLG от промывающей жидкости.

18. Способ по п. 17, где в ходе промывания на стадии d) растворяется не более 80% вес/вес от исходного количества кристаллов BLG, предпочтительно не более 50% вес/вес и еще более предпочтительно не более 20% вес/вес от исходного количества кристаллов BLG.

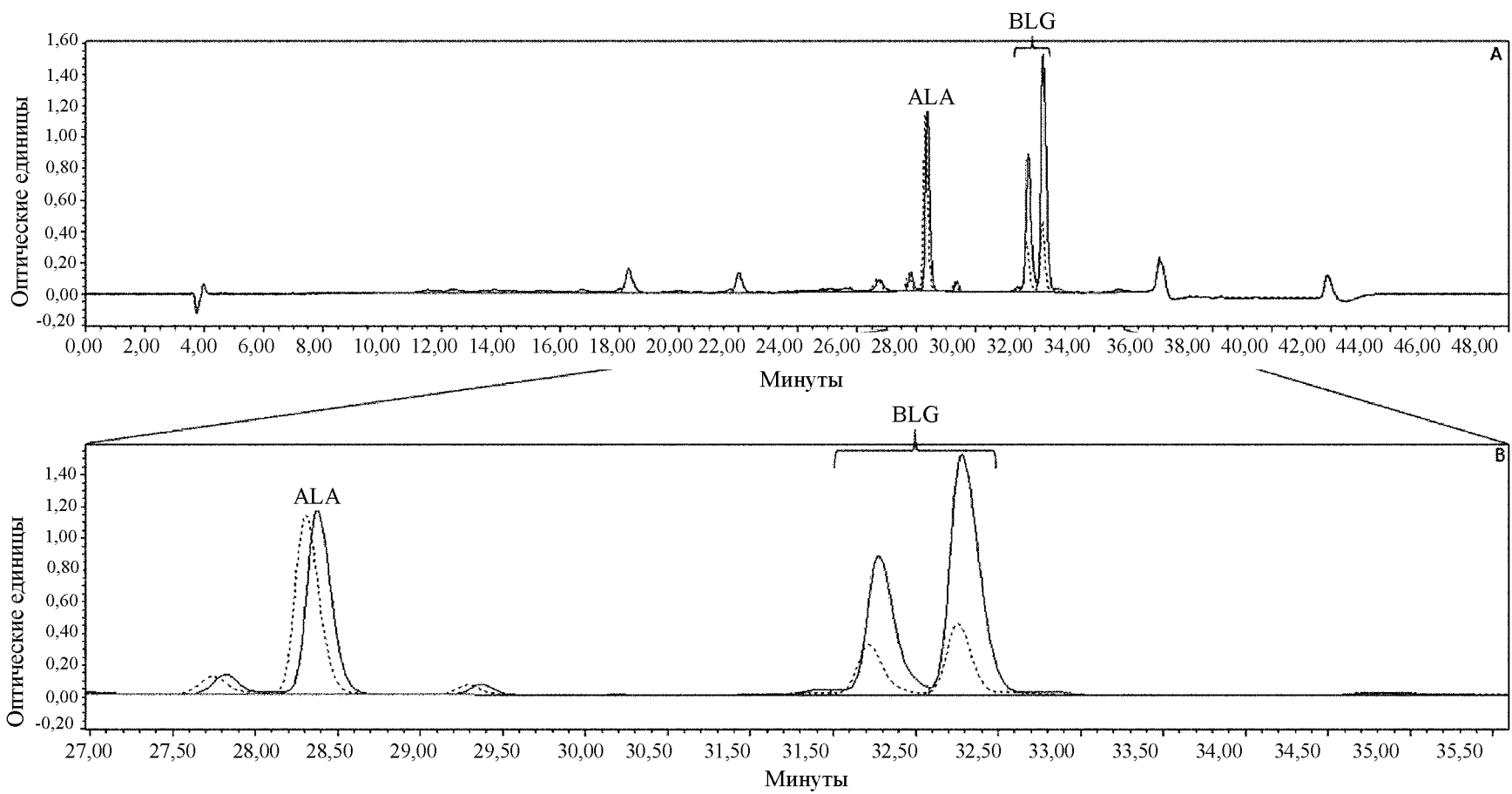
19. Способ по любому из пп. 3-18, где стадия перекристаллизации включает:

- растворение отделенных кристаллов BLG в жидкости для перекристаллизации,
- корректировку свойств жидкости для перекристаллизации с достижением перенасыщения по BLG,
- кристаллизацию BLG в перенасыщенной жидкости для перекристаллизации с откорректированными свойствами и
- отделение кристаллов BLG от оставшейся жидкости для перекристаллизации с откорректированными свойствами.

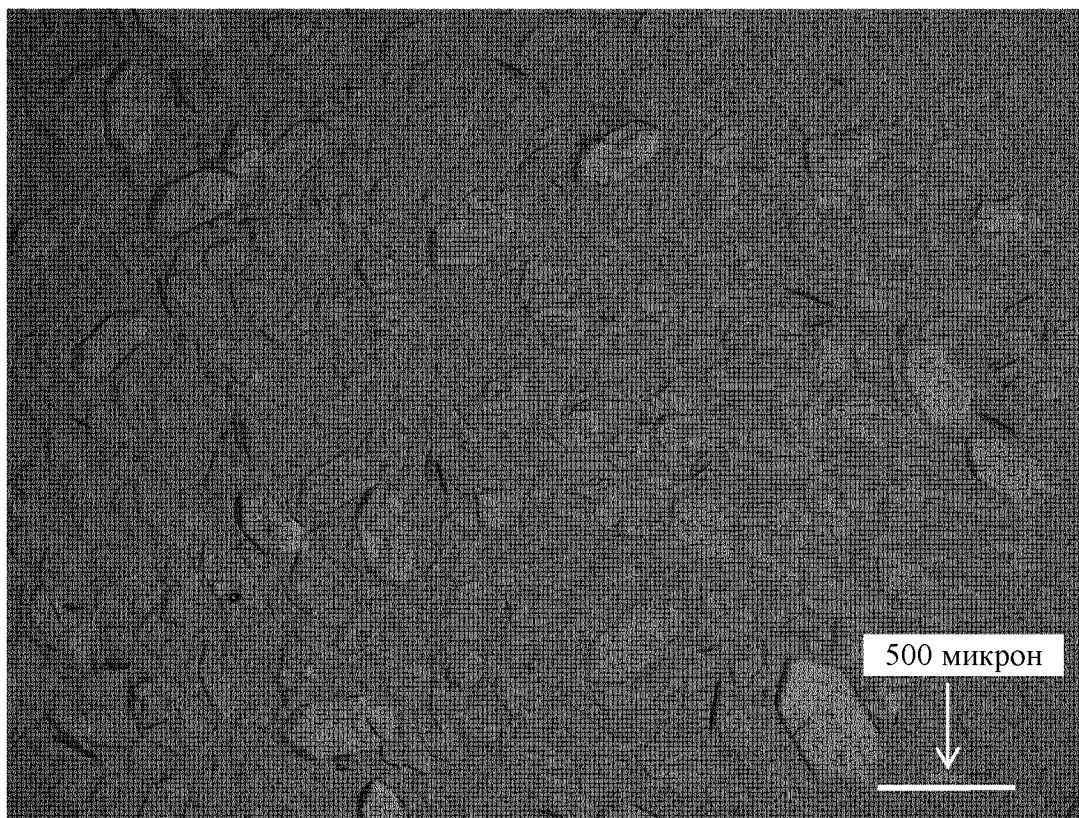
20. Способ по любому из пп. 3-19, где кристаллы BLG из стадии d) подвергают перекристаллизации по меньшей мере 2 раза.

21. Способ по любому из пп. 4-20, где стадия высушивания включает одно или несколько из высушивания распылением, высушивания лиофилизацией, центробежного аэрофонтанного высушивания, высушивания во вращающемся барабане и/или высушивания в псевдоожиженном слое.

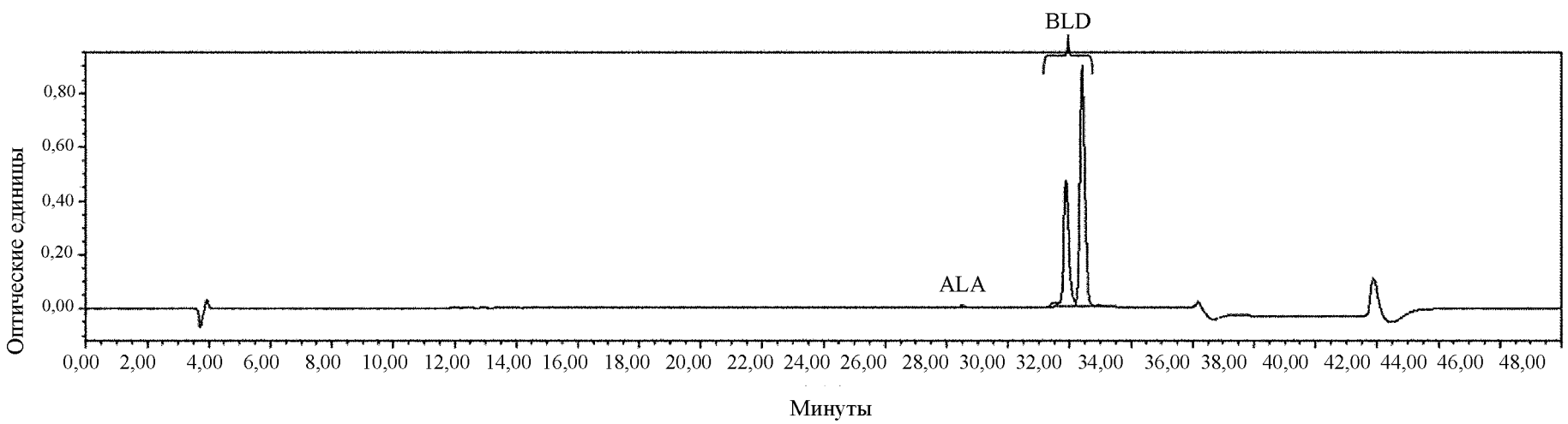
Фиг. 1



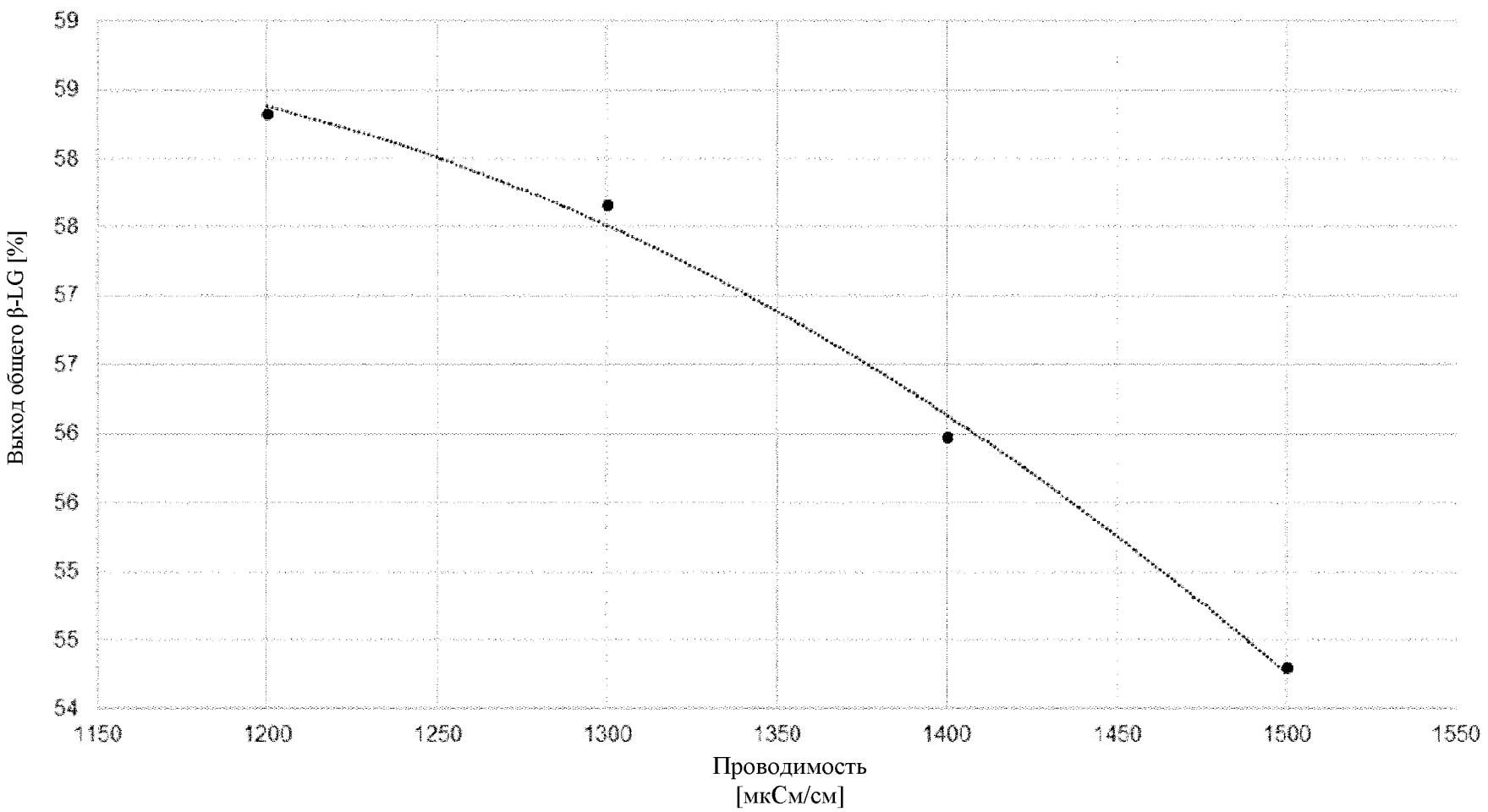
Фиг. 2



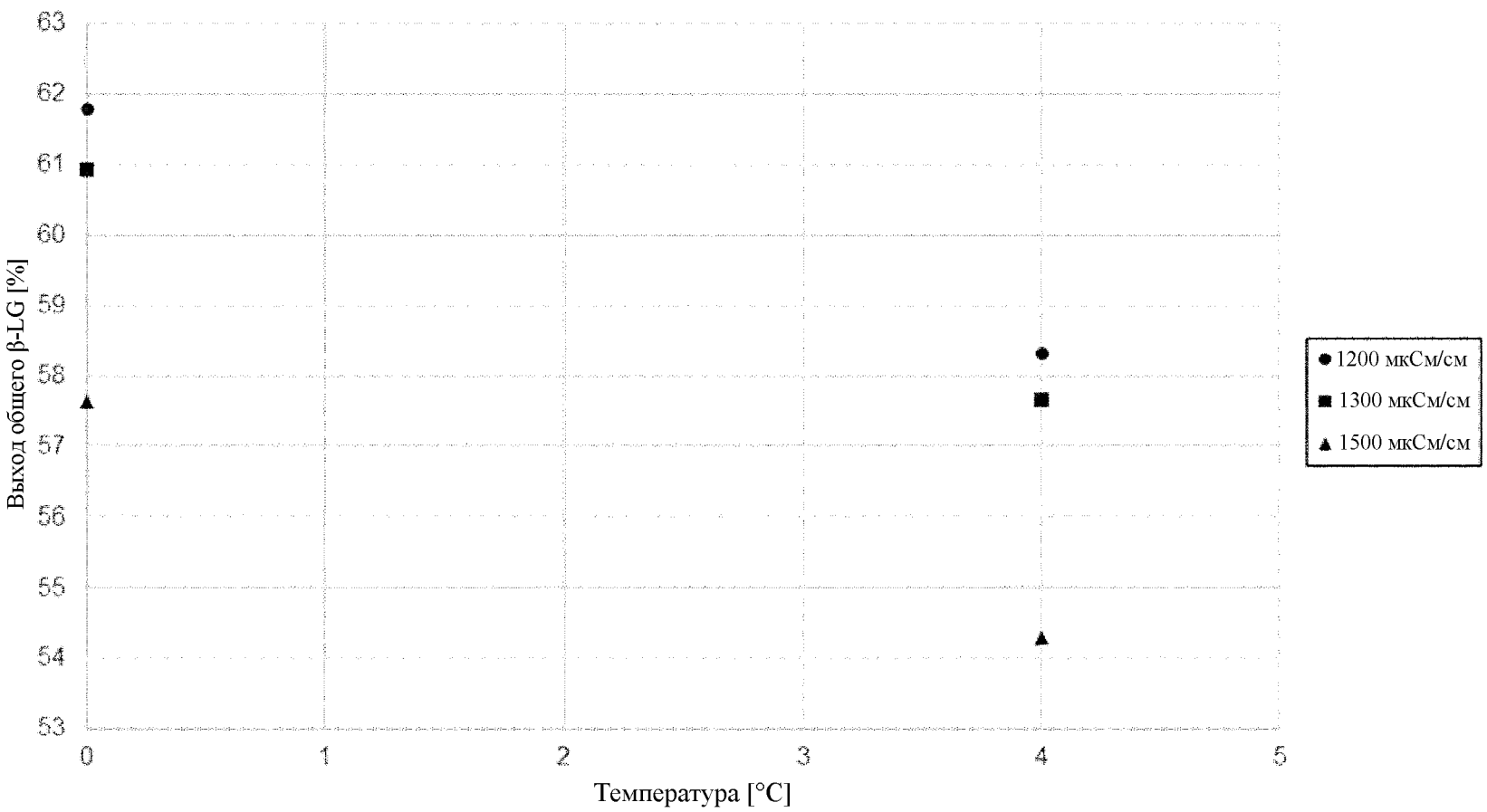
Фиг. 3



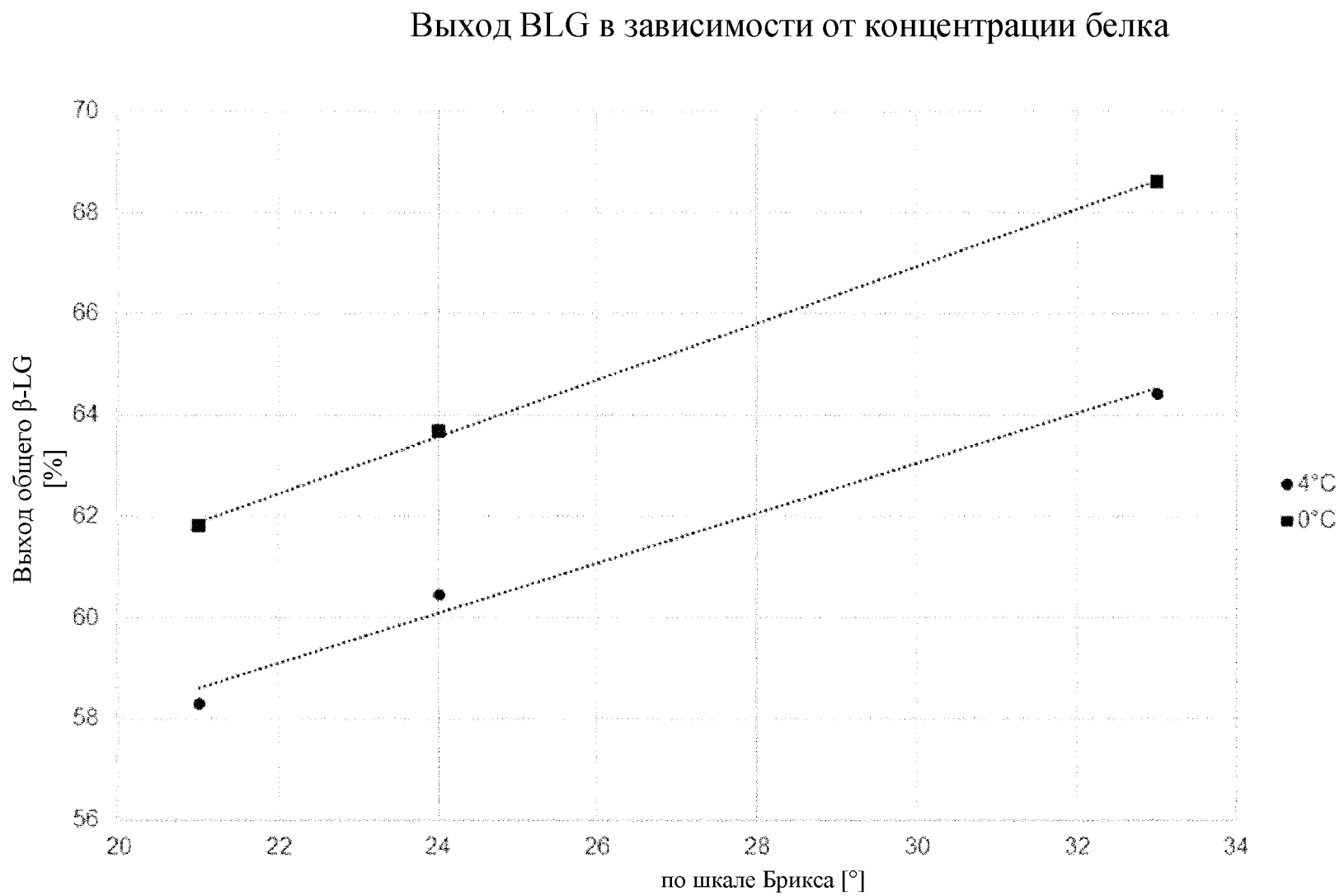
Фиг. 4



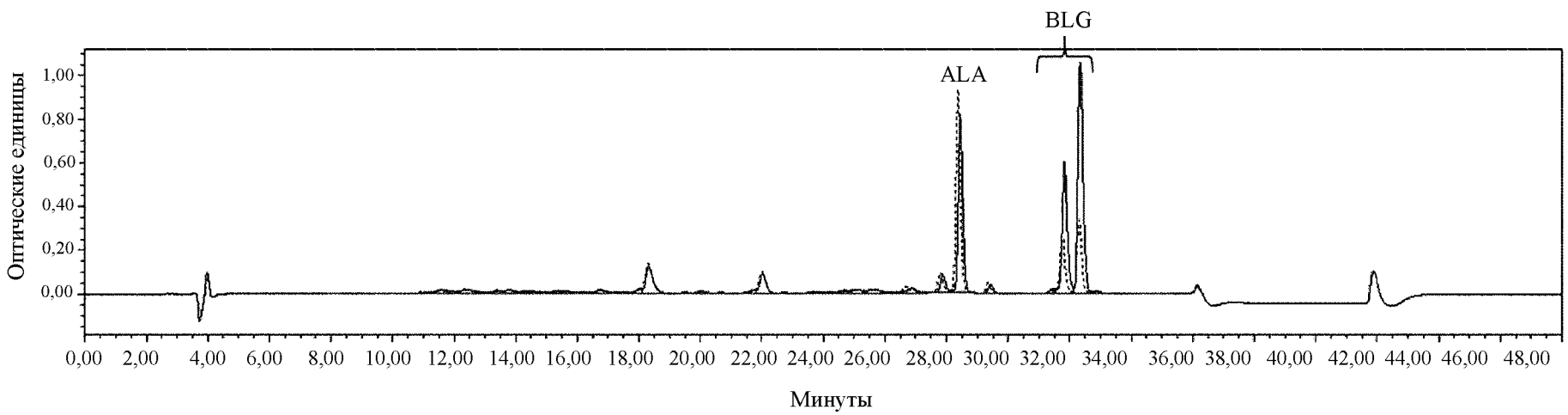
Фиг. 5



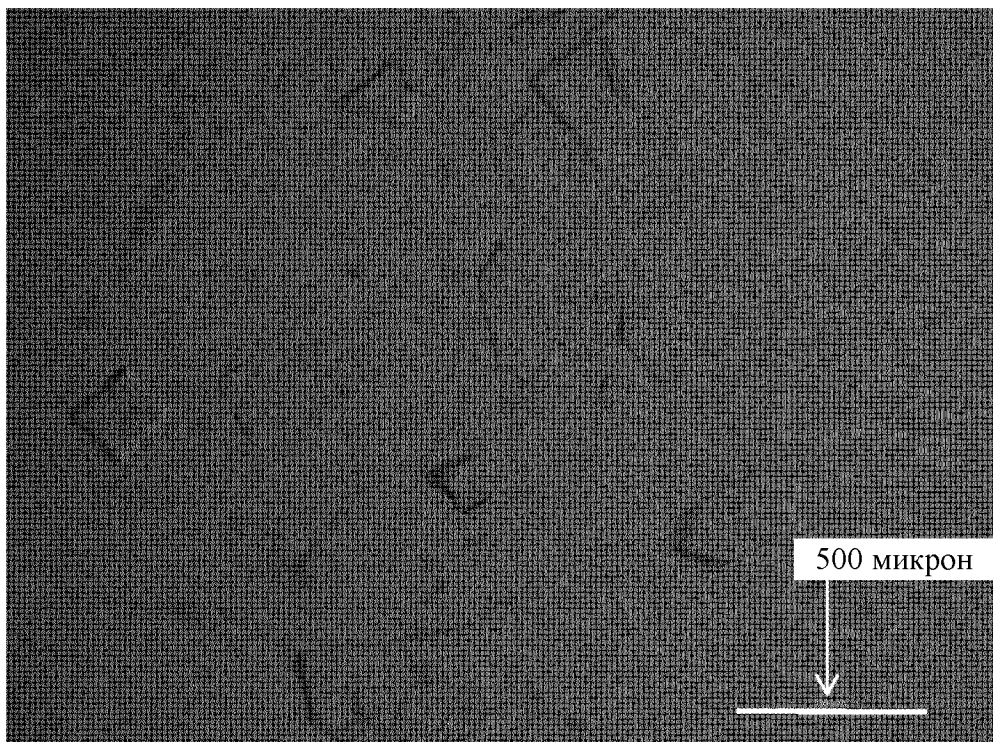
Фиг. 6



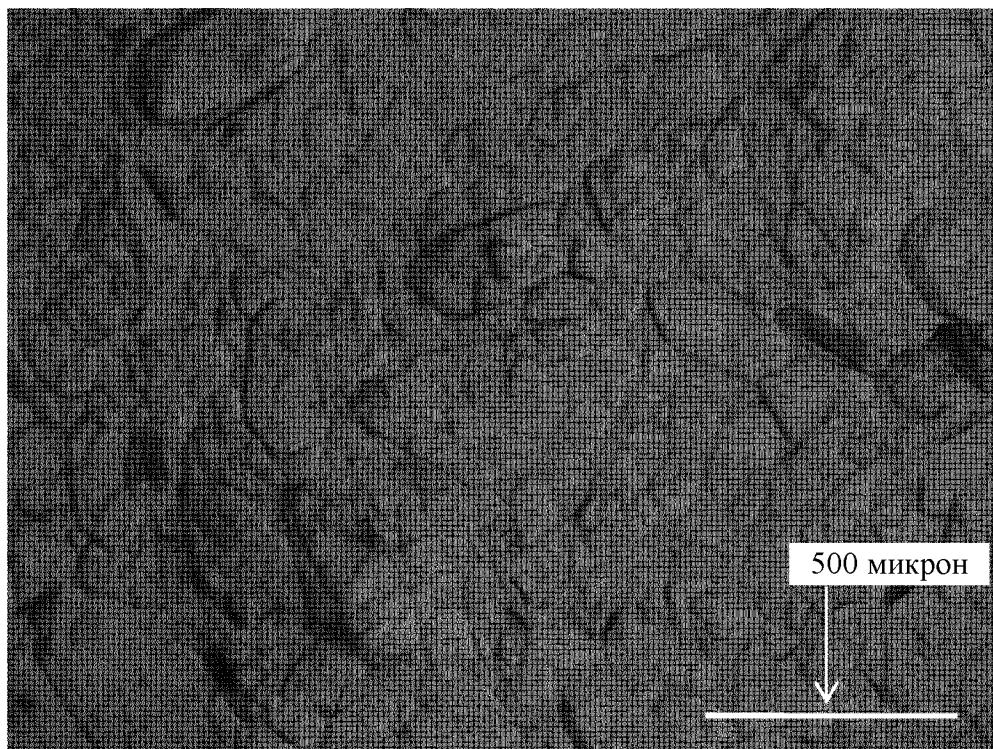
Фиг. 7



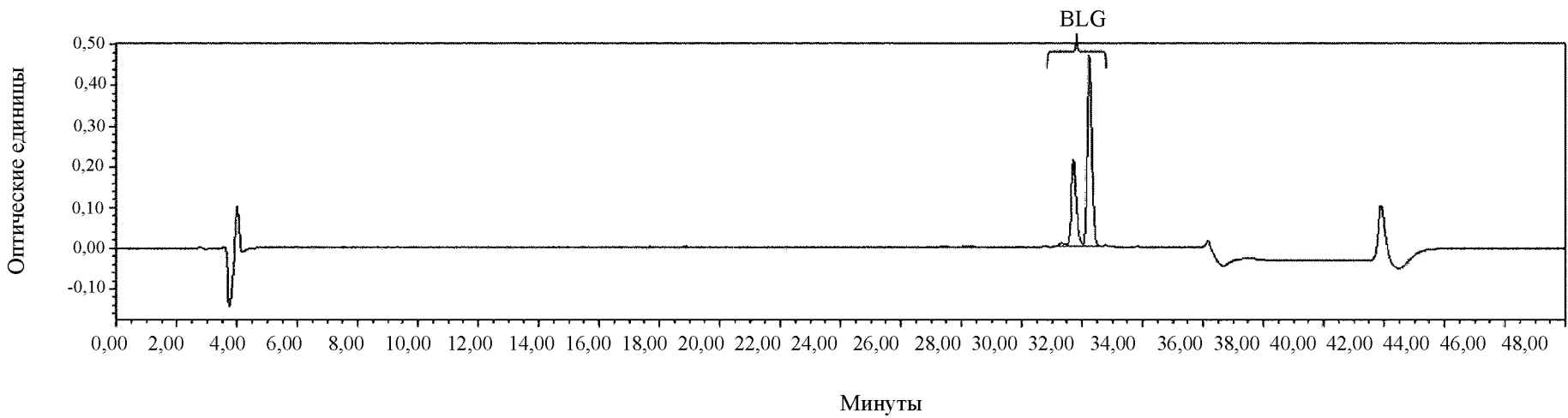
Фиг. 8



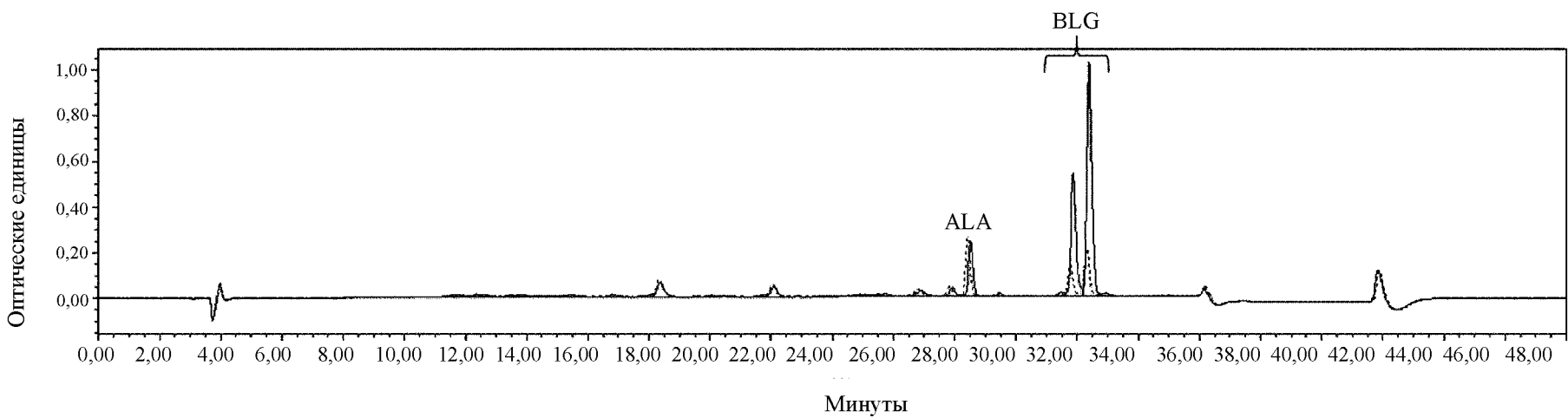
Фиг. 9



Фиг. 10



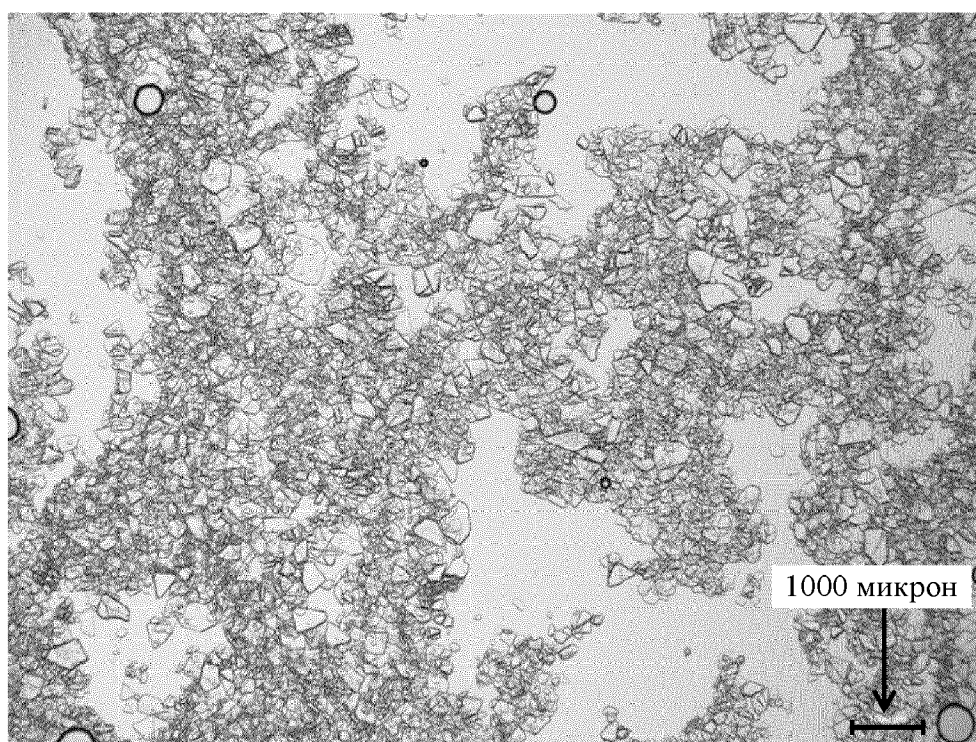
Фиг. 11



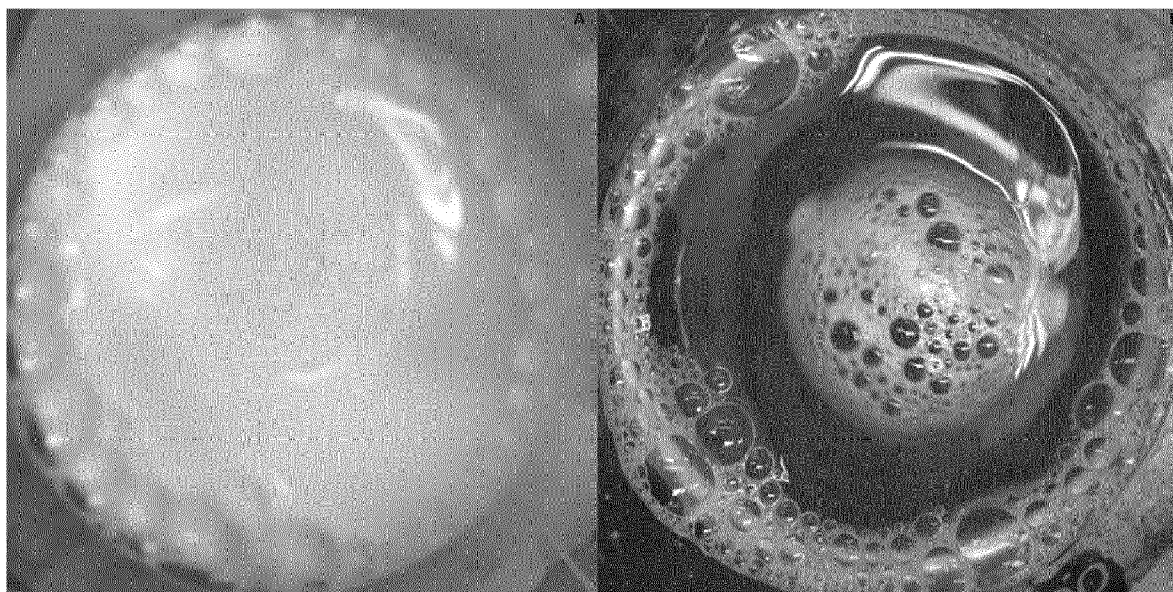
Фиг. 12



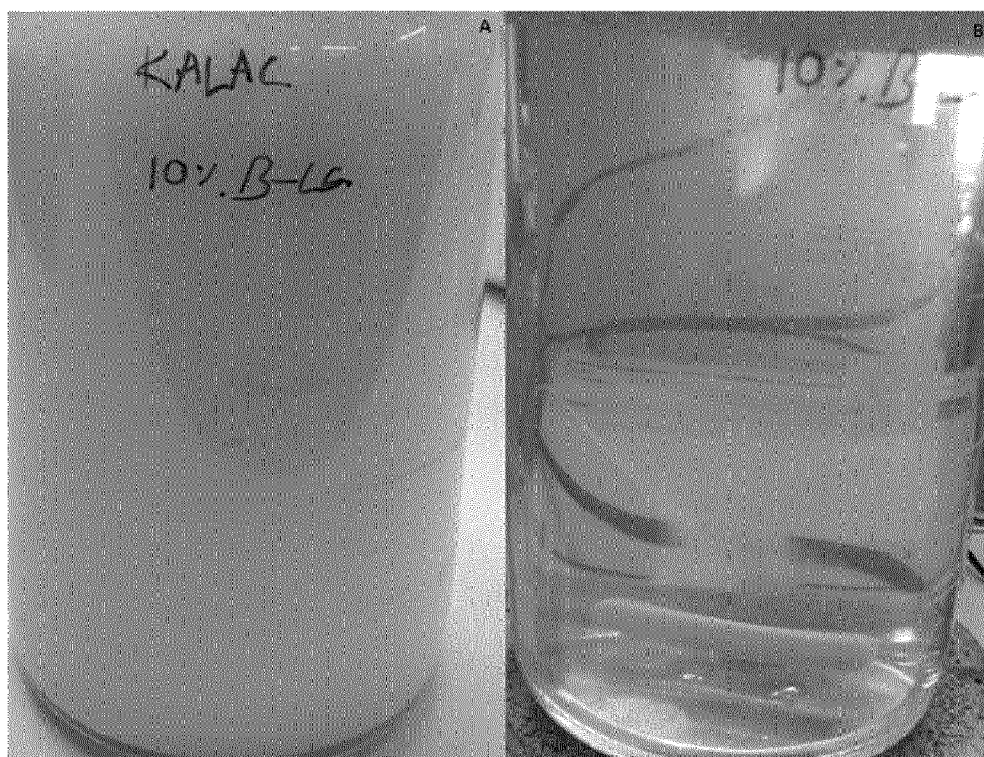
Фиг. 13



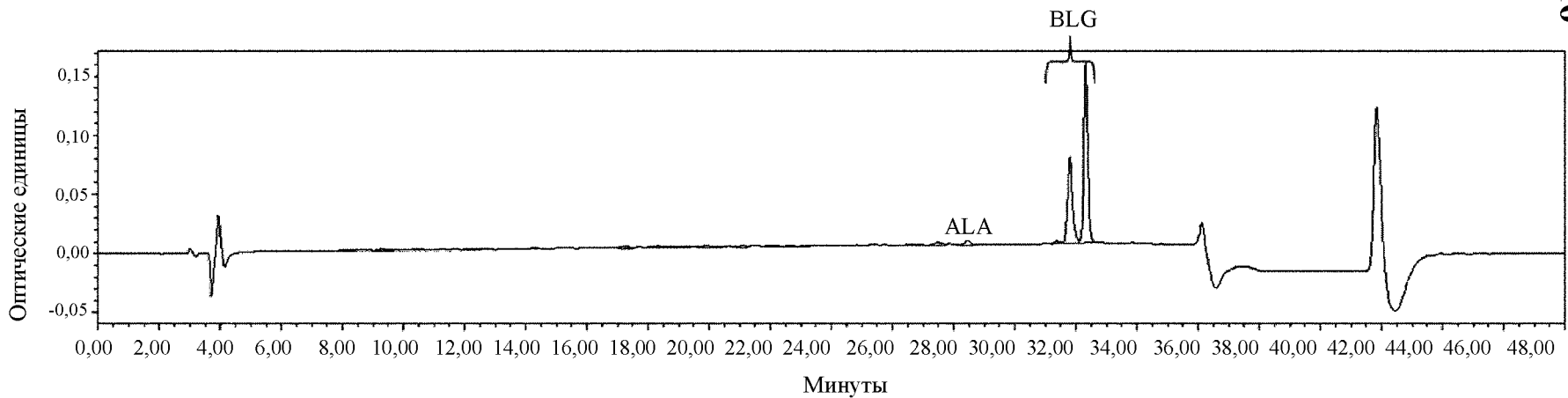
Фиг. 14



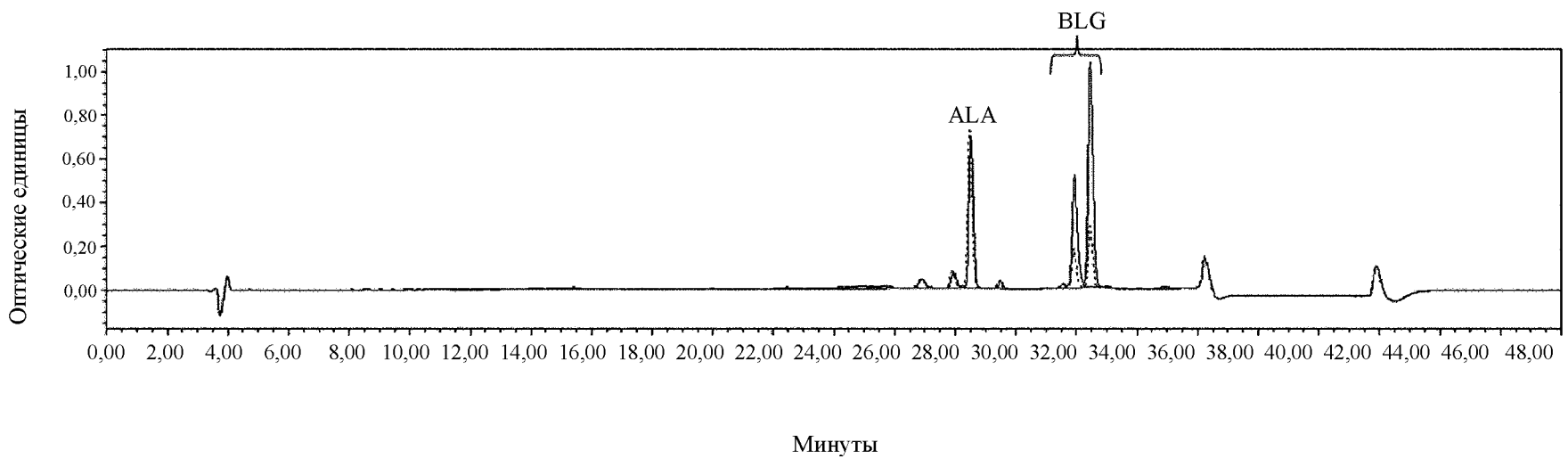
Фиг. 15



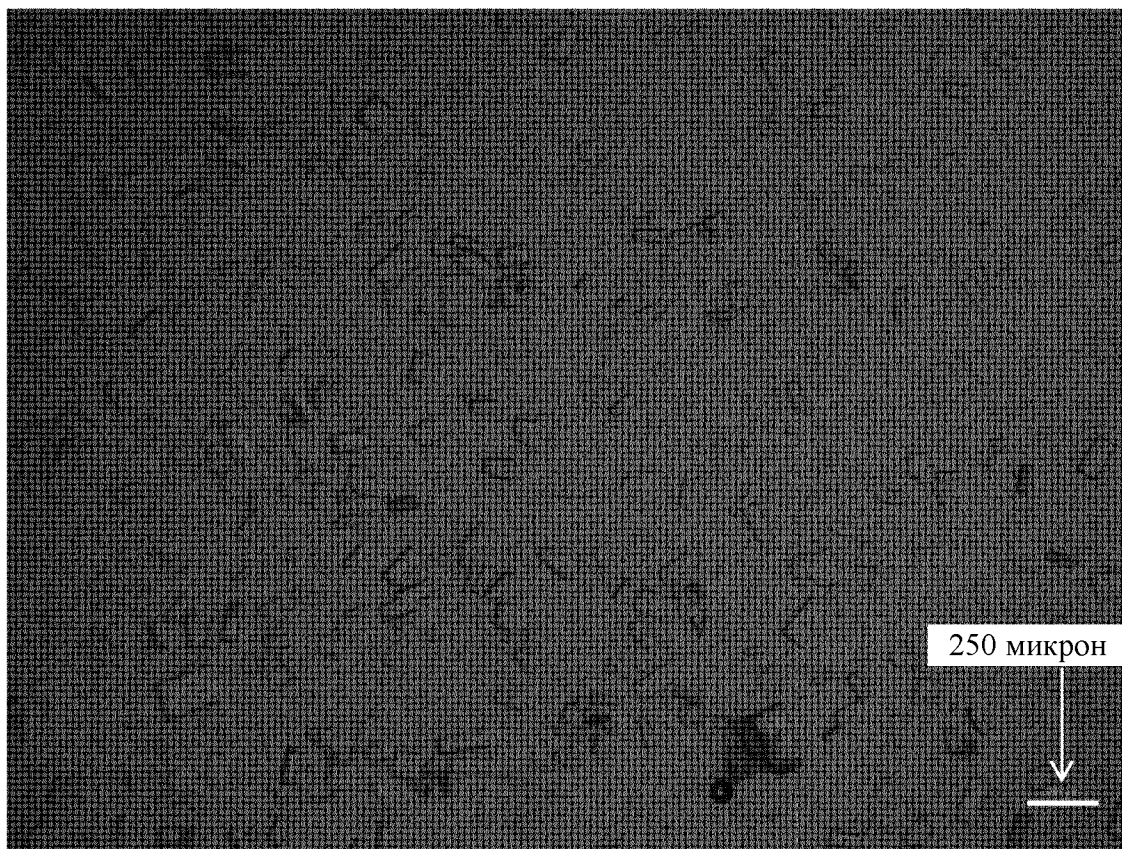
Фиг. 16



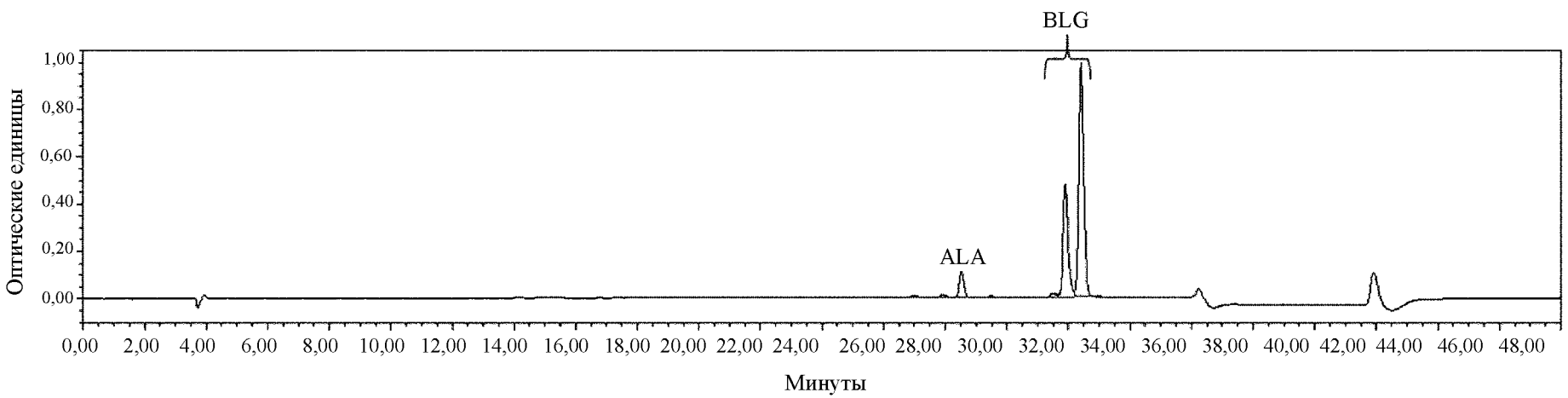
Фиг. 17



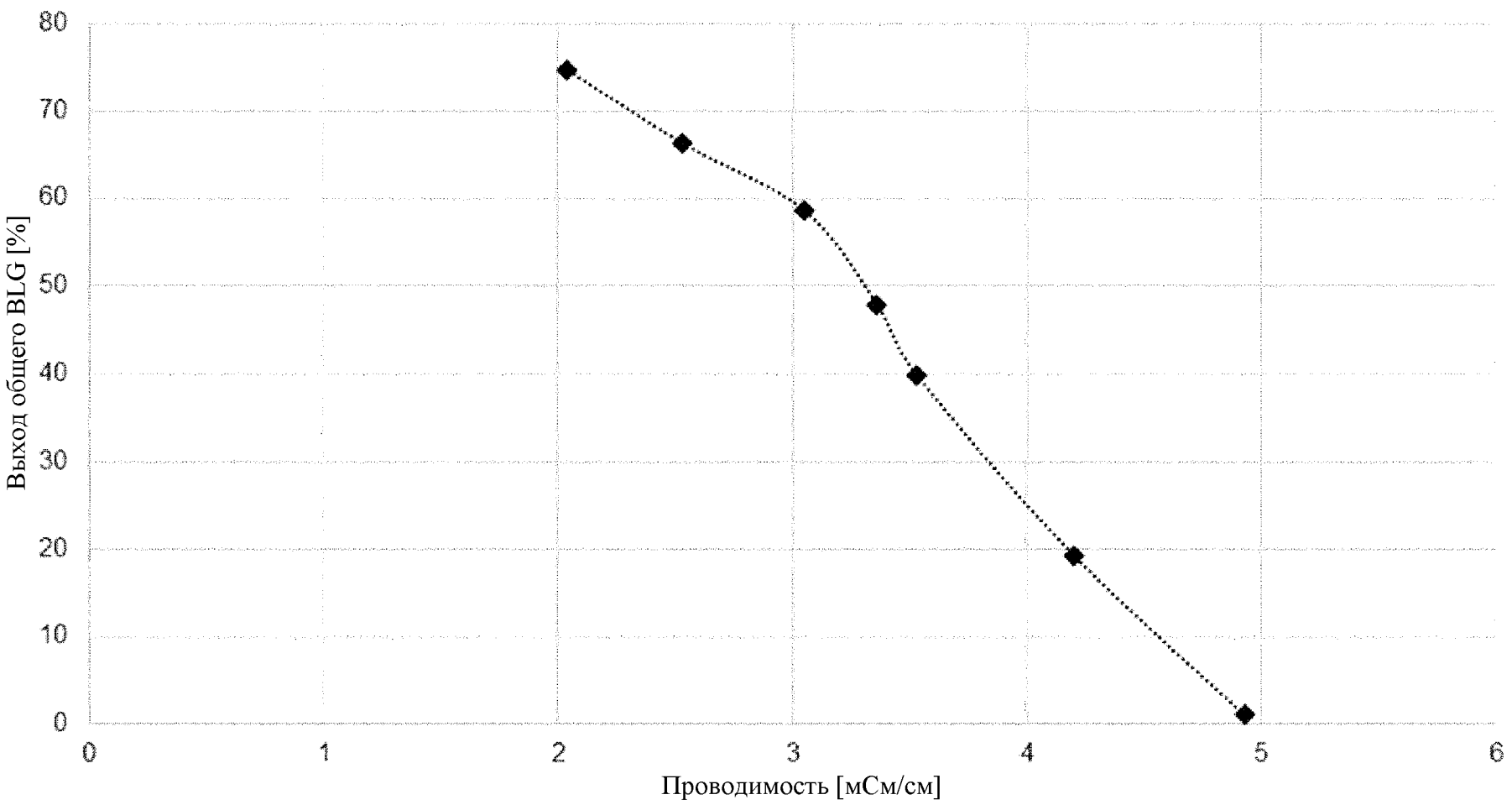
Фиг. 18



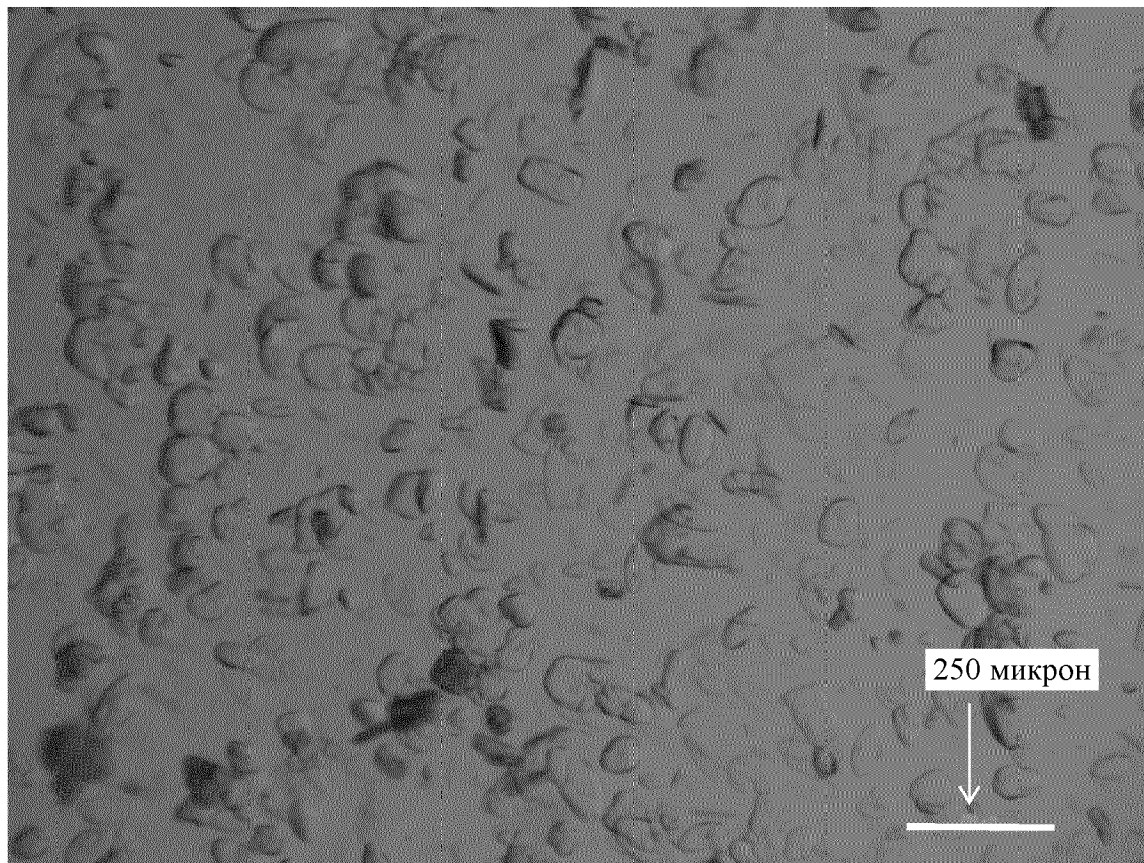
Фиг. 19



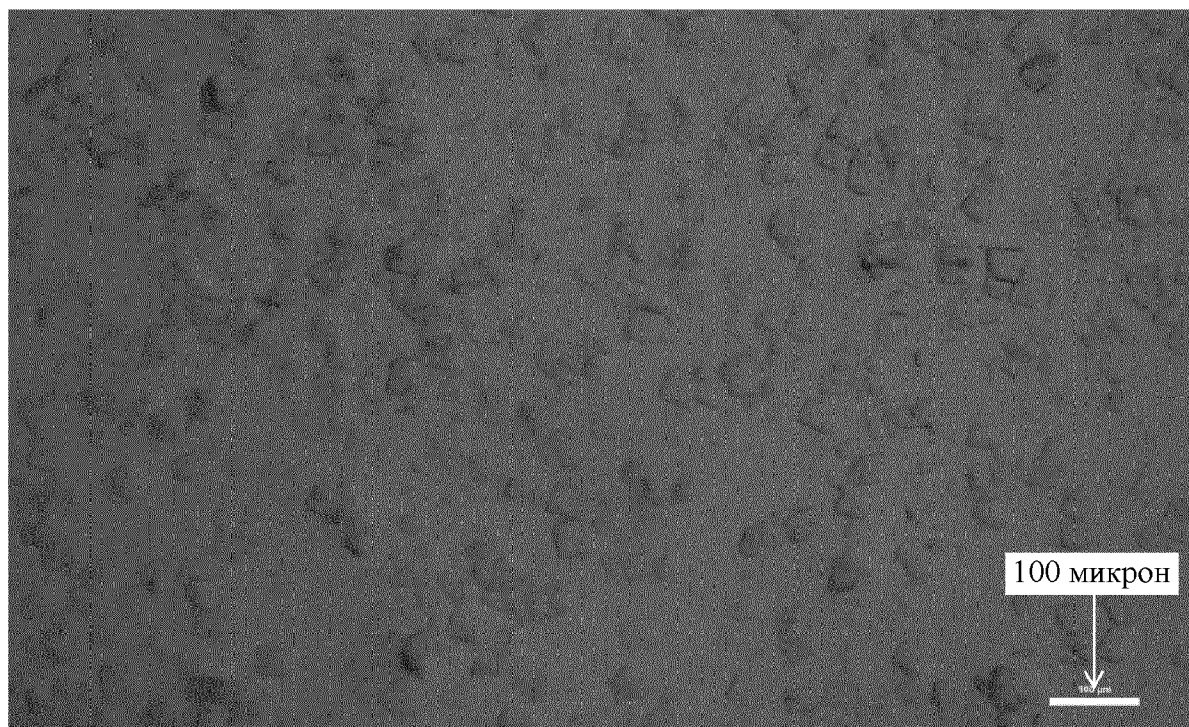
Фиг. 20



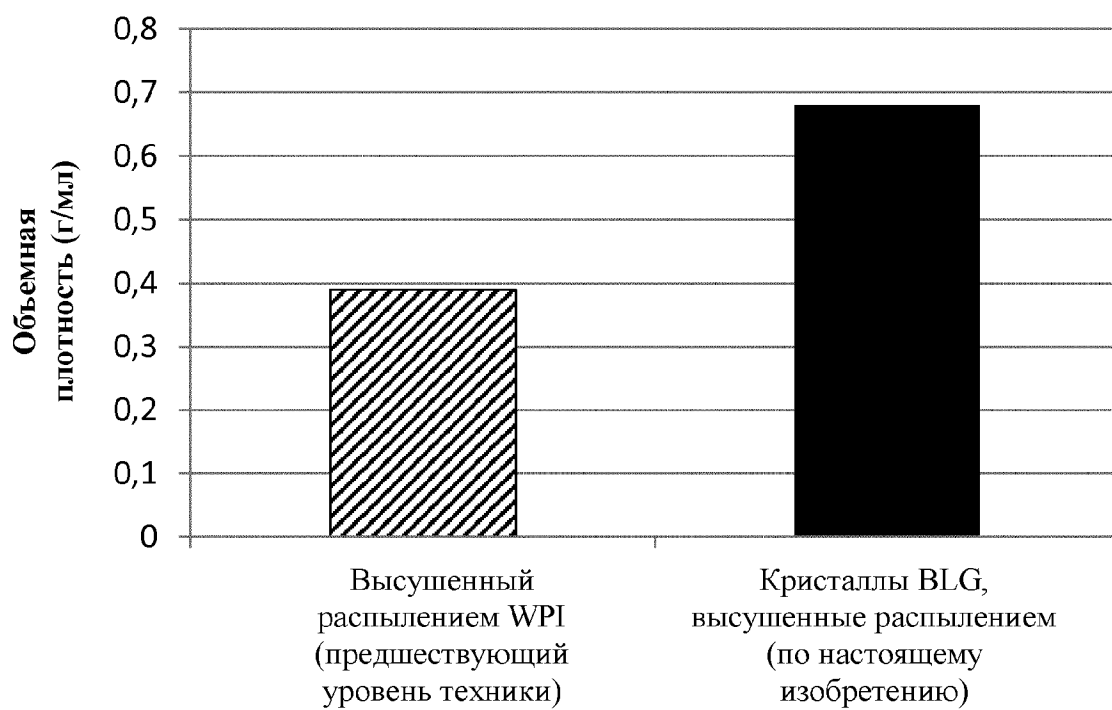
Фиг. 21



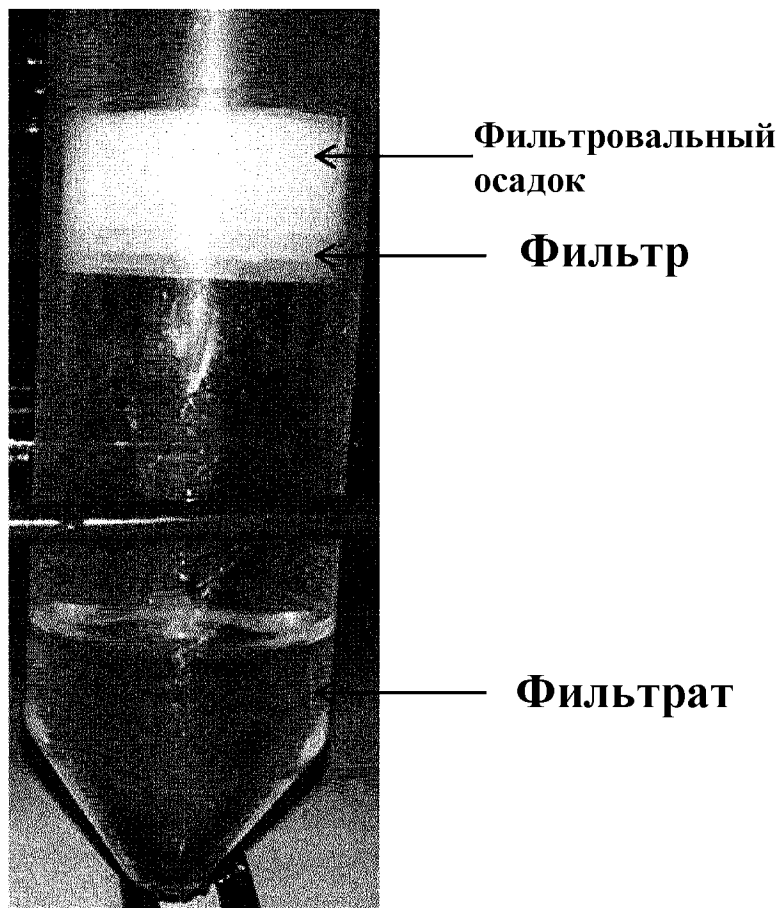
Фиг. 22



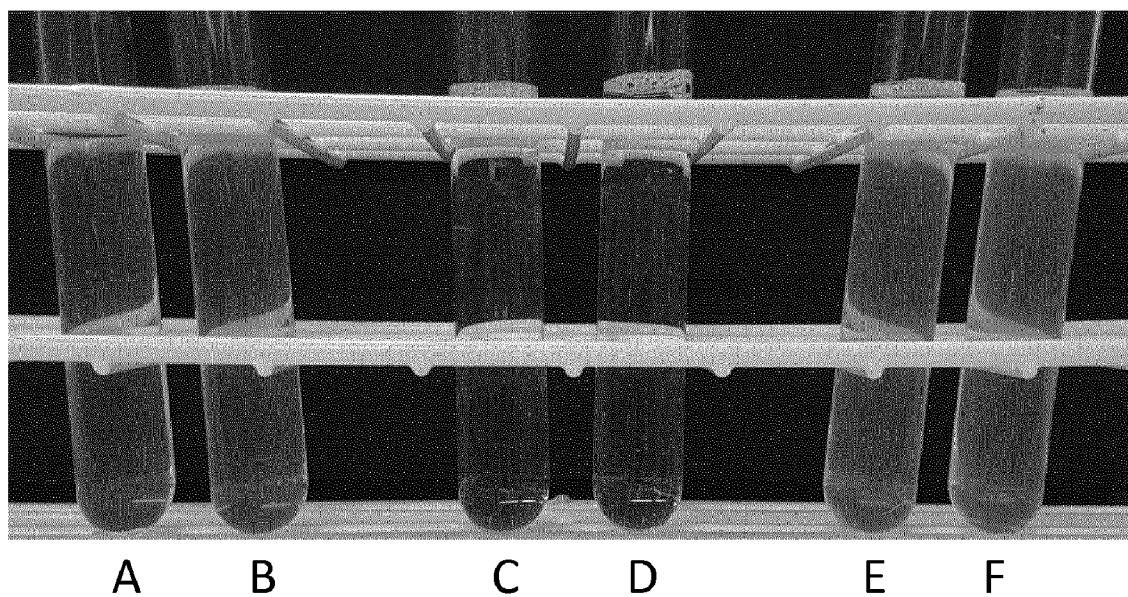
Фиг. 23



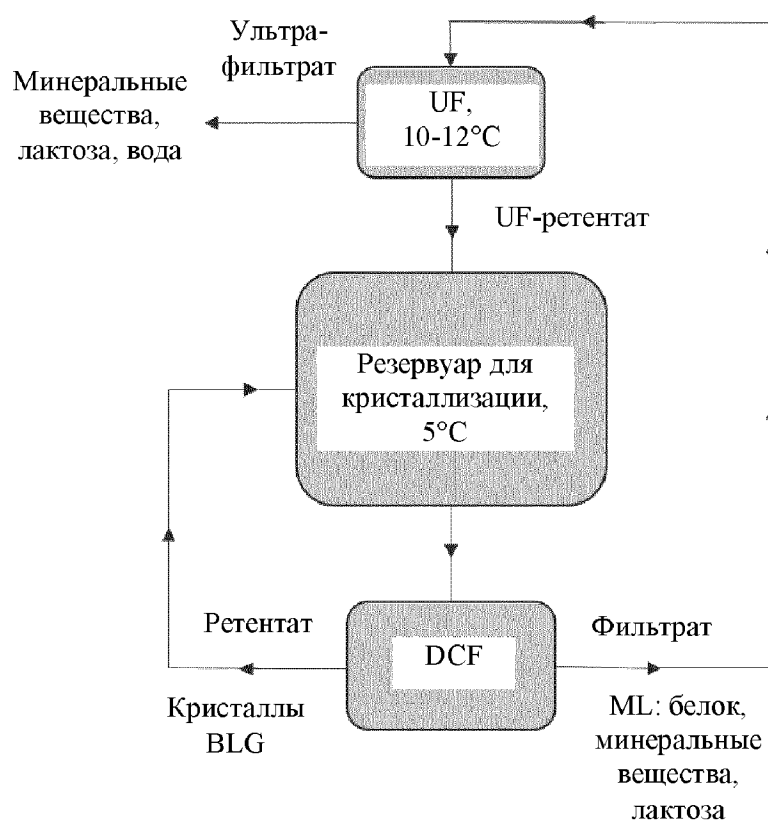
Фиг. 24



Фиг. 25



Фиг. 26



Фиг. 27

