

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 987 919**

51 Int. Cl.:

A23C 3/02 (2006.01)
A23C 9/20 (2006.01)
A23L 2/38 (2011.01)
A23L 2/46 (2006.01)
A23L 3/02 (2006.01)
A23L 3/16 (2006.01)
A23L 3/22 (2006.01)
A23C 3/033 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.10.2017 PCT/US2017/054941**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.04.2018 WO18067566**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.10.2017 E 17859017 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2024 EP 3522732**

54 Título: **Métodos y sistemas para generar un producto de leche humana esterilizada**

30 Prioridad:

04.10.2016 US 201662404097 P
27.12.2016 US 201662439408 P
18.04.2017 US 201762486884 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.11.2024

73 Titular/es:

LACTALOGICS, INC. (100.0%)
8883 S Federal Highway
Port St. Lucie, FL 34952, US

72 Inventor/es:

SNOW, GLENN, W. y
SNOW, RACHELLE, J.

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 987 919 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Métodos y sistemas para generar un producto de leche humana esterilizada

1. Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de Solicitud Provisional de Estados Unidos Número 62/404,097 presentada el 4 de octubre de 2016, Solicitud Provisional U.S. Número 62/439,408 presentada el 27 de diciembre de 2016, y Solicitud Provisional U.S. Número 62/486,884 presentada el 18 de abril de 2017.

2. Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método para la esterilización de flujo continuo de leche humana para generar un producto de leche humana esterilizada. Más particularmente, la presente invención se refiere a un método para la reducción del contenido de *Bacillus Cereus* (*B. Cereus*) y *Clostridium Botulinum* (*C. Botulinum*) en la leche humana mediante esterilización en condiciones elegidas para proporcionar un producto de leche humana esterilizada adecuado para el consumo a distancia por los lactantes, en particular los lactantes prematuros.

3. Antecedentes

El suministro de leche materna humana para el consumo a distancia de un individuo, como un adulto, un adolescente o un lactante, requiere la reducción del contenido de patógenos, tales como bacterias, virus, moho, esporas y levaduras a niveles aceptables, con la retención concomitante de la nutrición y los agentes biológicamente activos dentro de la leche que son beneficiosos para el individuo cuando se ingieren.

Un riesgo importante en el suministro de leche materna humana para el consumo es la presencia de uno o ambos *B. Cereus* y *C. Botulinum* en el suministro. *B. Cereus* se origina en la donante de leche humana. No todas las donantes serán portadoras, pero la mezcla de leche de donante durante la producción de un producto de leche humana puede dar lugar a una contaminación más generalizada. *B. Cereus* es una bacteria gram-positiva resistente al calor, que forma esporas y que, cuando se ingiere, es nociva y provoca infecciones del torrente sanguíneo, pulmones y sistema nervioso central que requieren tratamiento con antibióticos tales como vancomicina, tobramicina, meropenem y clindamicina. *C. Botulinum* causa botulismo. Las toxinas producidas por *C. Botulinum* pueden bloquear las funciones nerviosas, dando lugar a diversas formas de parálisis, por lo que puede ser una enfermedad grave y potencialmente mortal.

Muchos bancos de leche humana utilizan la pasteurización durante el procesamiento de la leche humana. Aplicada a la leche humana, la pasteurización típicamente consiste en calentar la leche a 62.5 °C durante 30 minutos ("pasteurización Holder"). Véase Guidelines of the Establishment and Operation of a Donor Human Milk Bank, Human Milk Banking Association of North America, 2015. Los métodos que eliminan *B. Cereus* y *C. Botulinum* emplean condiciones de procesamiento más extremas. Estas condiciones extremas de procesamiento, así como las condiciones empleadas para la pasteurización Holder, a menudo tienen un efecto perjudicial sobre la calidad de la leche humana esterilizada. Concretamente, el proceso daña de forma irreversible las proteínas nutricionales, los lípidos y los carbohidratos (por ejemplo, los oligosacáridos). Por lo tanto, aunque la leche humana esterilizada está libre de patógenos y es segura para el consumo, el contenido nutricional también se altera sustancialmente, de tal manera que se pierden los beneficios aportados por el consumo de la leche humana esterilizada. Además, algunos procesos utilizados para reducir el contenido de *B. Cereus* y *C. Botulinum* incluyen la inyección directa de vapor caliente en la leche, lo que supone un riesgo de introducción de contaminantes y requiere la separación posterior del agua de la leche.

El documento EP2974603 A1 describe un pasteurizador para el tratamiento continuo de pequeños volúmenes de alimentos líquidos.

El documento US 2011/027441 A1 describe un método para calentar o esterilizar una corriente líquida.

Goldblum et al.: "Rapid high-temperature treatment of human milk", JOURNAL OF PEDIATRICS, MOSBY-YEAR BOOK, ST. LOUIS, MO, US, vol. 104, no. 3, 1 de marzo de 1984, páginas 380 - 385, examinan el efecto del tratamiento rápido a altas temperaturas sobre las bacterias y los virus y sobre la calidad nutricional e inmunológica de la leche humana mezclada.

Sara J. Goldsmith et al.: "IgA, IgG, IgM and Lactoferrin Contents of Human Milk During Early Lactation and the Effect of Processing and Storage", JOURNAL OF FOOD PROTECTION, US, vol. 46, no. 1, 1 de enero de 1983, páginas 4 - 7, estudian las concentraciones totales de IgA, IgG, IgM y lactoferrina en la leche humana de 89 donantes en tres etapas de la lactancia: transición temprana (3 a 8 días postparto), transición (10 a 14 días postparto) y madurez (30 a 47 días postparto).

El documento US 2002/028278 A1 describe un proceso y un aparato para producir un producto de leche estéril a partir de leche cruda.

El documento EP 1656030 A1 describe un método para procesar leche.

El documento GB 1027848 A describe mejoras en o relacionadas con la limpieza de una planta de tratamiento térmico para líquidos.

5 El documento US 4610298 A describe un proceso e instalación para aplicar un intercambio de calor controlable en un intercambiador de calor regenerativo.

El documento WO 2008/027572 A1 describe un método para la esterilización de la leche sin degradación o pérdida de agentes biológicamente activos en la leche y los productos producidos por tales métodos.

10 M. Raptopoulou-Gigi et al.: "Antimicrobial proteins in sterilised human milk", BRITISH MEDICAL JOURNAL, vol. 1, páginas 12 - 14, describen el efecto de un procedimiento de esterilización estándar sobre las proteínas de la leche.

En consecuencia, existe la necesidad de un proceso de esterilización de la leche humana que reduzca o elimine los patógenos nocivos, tales como *B. Cereus* y *C. Botulinum*, manteniendo al mismo tiempo las cualidades nutricionales de la leche humana.

4. Sumario

15 La presente invención se refiere a un método para esterilización de la leche humana y a un sistema cerrado de procesamiento en línea, tal como se define en las reivindicaciones adjuntas. La leche humana cruda procede de al menos un donante. La leche humana cruda puede contener tanto *B. Cereus* como *C. Botulinum*. La leche humana cruda se suministra a un sistema cerrado de esterilización en línea para generar el producto de leche humana esterilizada. La leche humana cruda pasa a través de al menos un clarificador bacteriano, y es
20 separada adicionalmente en una fracción de nata y una fracción desnatada. La fracción desnatada puede concentrarse adicionalmente para generar un retentado. Se elabora un producto de leche estandarizada es manipulado combinando una porción de la fracción de nata y una porción del retentado para obtener las concentraciones deseadas de componentes y/o nutrientes. En algunas realizaciones, el producto de leche estandarizada se fortifica con componentes y/o nutrientes adicionales. El producto de leche estandarizada se
25 esteriliza además mediante un proceso de intercambio de calor en contracorriente. Al elevar rápidamente la temperatura del producto de leche estandarizada hasta una temperatura objetivo y mantenerlo a la temperatura objetivo durante una duración de tiempo, se elimina el contenido de patógenos mientras que también mantiene la calidad nutricional del producto de leche esterilizada. Es importante destacar que el producto de leche estandarizada de la presente divulgación presenta al menos una reducción de 12 Log del contenido de *C. Botulinum* y una reducción superior a 1000 Log de *B. Cereus*. El producto de leche estandarizada se vuelve
30 seguro para el consumo de adultos, adolescentes y, en particular, de niños prematuros.

En consecuencia, la presente invención es un método de esterilización de leche humana para producir un producto de leche humana esterilizada, comprendiendo el método:

35 recibir, mediante un esterilizador situado dentro de un sistema cerrado en línea, como entrada, una muestra de leche humana;

hacer fluir la muestra de leche humana a través de un tubo del esterilizador en una primera dirección a un primer caudal;

40 calentar la muestra de leche humana en el tubo mediante un proceso de intercambio de calor en contracorriente haciendo fluir fluido calentador en una segunda dirección a un segundo caudal, en el que el fluido calentador está en contacto con una superficie exterior del tubo;

enfriar, mediante el esterilizador, la muestra de leche humana calentada para producir el producto de leche humana esterilizada; y

en el que el calentamiento de la muestra de leche humana en el tubo comprende:

elevar la temperatura de la muestra de leche humana hasta un rango comprendido entre 130°C y 150°C; y

45 mantener la temperatura de la muestra de leche humana dentro del rango de temperatura durante un periodo de 3 a 15 segundos.

La presente invención también se refiere a un sistema cerrado de procesamiento en línea que comprende:

un esterilizador que comprende:

50 un tubo configurado para hacer fluir una muestra de leche humana a través del tubo en una primera dirección a un primer caudal; y

un recipiente en cuyo interior se encuentra una porción del tubo, en el que el recipiente está configurado para hacer fluir un fluido calentador en contacto con una superficie exterior de la porción del tubo en una segunda dirección a un segundo caudal, de forma que la muestra de leche humana que fluye a través del tubo se caliente a una temperatura predeterminada mediante intercambio de calor en contracorriente y se mantenga a la temperatura predeterminada durante un tiempo determinado,

en el que la temperatura predeterminada está dentro de un rango de temperatura de 135°C a 145°C y la duración predeterminada de tiempo está entre 6 y 14 segundos.

En algunas realizaciones del método reivindicado, el calentamiento de la muestra de leche humana en el tubo comprende: elevar una temperatura de la muestra de leche humana a un rango de temperatura de 135°C y 145°C; y mantener la temperatura de la muestra de leche humana dentro del rango de temperatura durante un tiempo de 6 a 14 segundos. En algunas realizaciones, el calentamiento de la muestra de leche humana en el tubo comprende: elevar la temperatura de la muestra de leche humana dentro de un rango de temperaturas de 138°C y 142°C; y mantener la temperatura de la muestra de leche humana dentro del rango de temperaturas durante 8 a 13 segundos. En algunas realizaciones, el calentamiento de la muestra de leche humana en el tubo comprende: elevar la temperatura de la muestra de leche humana dentro de un rango de temperaturas de 140°C y 141°C; y mantener la temperatura de la muestra de leche humana dentro del rango de temperaturas durante 12 a 13 segundos.

En diversas realizaciones, una longitud de la porción del tubo y el primer caudal de la muestra de leche humana manipulada se eligen previamente para mantener la temperatura de la leche humana manipulada dentro del rango de temperatura durante el tiempo.

En algunas realizaciones, el primer tubo del esterilizador de grado farmacéutico tiene un diámetro entre 0.64 cm y 25.4 cm (0.25 pulgadas y 10 pulgadas). En algunas realizaciones, el primer caudal de la muestra de leche humana manipulada a través del tubo del esterilizador de grado farmacéutico está entre 0.0158 litros por segundo y 1.58 litros por segundo (entre 0.25 galones por minuto y 25 galones por minuto). En algunas realizaciones, el calentamiento de la muestra de leche humana en el tubo comprende: precalentar la muestra de leche humana a una primera temperatura entre 80°C y 100°C en una primera porción del tubo; y calentar la muestra de leche humana a una segunda temperatura entre 130°C y 150°C en una segunda porción del tubo.

En algunas realizaciones, la muestra de leche humana recibida por el esterilizador de grado farmacéutico no está homogeneizada. En algunas realizaciones, la muestra de leche humana es homogeneizada antes de ser recibida por el esterilizador u homogeneizada después de ser enfriada por el esterilizador.

En diversas realizaciones, el método de esterilización de leche humana para producir un producto de leche humana esterilizada comprende un paso, previo a que el esterilizador reciba la muestra de leche humana, de eliminación de patógenos de una muestra de leche humana cruda mediante uno o más procesos de clarificación. En algunas realizaciones, el método comprende además: separar una muestra de leche humana clarificada en una muestra de nata y una muestra de leche desnatada; generar un retentado realizando un proceso de concentración en la muestra de leche desnatada; y manipular una muestra de leche humana estandarizada para producir un producto de leche humana manipulada combinando una porción de la muestra de nata con una porción del retentado obtenido. En algunas realizaciones, el método de combinar una porción de la muestra de nata con una porción del retentado obtenido comprende: detectar una característica inicial de la muestra de nata; comparar la característica inicial detectada de la muestra de nata con una característica objetivo para el producto de leche humana manipulada; y determinar la porción de la muestra de nata y la porción del retentado obtenido basándose en la comparación.

En diversas realizaciones, el método comprende además un paso posterior al enfriamiento de la leche humana manipulada calentada, que comprende el empackado, mediante un proceso aséptico, del producto de leche humana esterilizada. En diversas realizaciones, el esterilizador es uno de un esterilizador de grado comercial o un esterilizador de grado farmacéutico.

En algunas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada preparado mediante el método reivindicado tiene al menos 263.59 J (63 calorías) por 100 mililitros del producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada tiene un contenido total de grasa de al menos 3.0 g/100 mL (3 % en peso).

En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada preparado utilizando el método reivindicado retiene arriba del 88% de inmunoglobulina A (IgA) en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 77% de inmunoglobulina M (IgM) en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 93% de inmunoglobulina G (IgG) en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 64% de antitripsina en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada

retiene arriba del 81% de lactoferrina en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 78% de lisozima en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 72% de lactoalbúmina en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 92% de Alfa Caseína en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 92% de Beta Caseína en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 92% de Caseína Kappa en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 87% de osteopontina en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada.

En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada preparado utilizando el método reivindicado retiene arriba del 92% del total de oligosacáridos de leche humana en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 90% de oligosacáridos fucosilados de leche humana en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 90% de 2'-fucosilactosa en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 90% de 3'-fucosilactosa en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 90% de oligosacáridos sialilados de leche humana en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada retiene arriba del 90% de oligosacáridos de leche humana no fucosilados en comparación con una muestra de leche materna humana cruda de la que deriva el producto de leche humana esterilizada.

La presente invención también se refiere a un sistema cerrado de procesamiento en línea, tal como se define en las reivindicaciones anexas.

En algunas realizaciones, la temperatura predeterminada está dentro de un rango de temperatura de 138°C y 142°C y la duración predeterminada está entre 8 y 13 segundos. En algunas realizaciones, la temperatura predeterminada está dentro de un rango de temperatura de 140°C y 141°C y la duración predeterminada está entre 12 y 13 segundos. En diversas realizaciones, el tubo del esterilizador es un tubo en espiral, en el que la duración que la muestra de leche humana se mantiene a la temperatura predeterminada depende de un número de espirales del tubo en espiral. En algunas realizaciones, el primer caudal de la muestra de leche humana a través del tubo del esterilizador de grado farmacéutico está comprendido entre 0.0158 litros por segundo y 1.58 litros por segundo (entre 0.25 galones por minuto y 25 galones por minuto).

En diversas realizaciones, el sistema comprende además: uno o más clarificadores bacterianos, cada clarificador bacteriano configurado para eliminar patógenos de una muestra de leche materna humana cruda; un separador de leche en comunicación fluida con el último en serie del al menos un clarificador bacteriano, el separador de leche configurado para separar una muestra de leche humana clarificada en una muestra de nata y una muestra de leche desnatada; un concentrador de leche en comunicación fluida con el separador de leche, el concentrador de leche configurado además para generar un retentado realizando un proceso de ósmosis inversa en la muestra desnatada recibida del separador de leche; y un combinador de leche configurado para combinar una porción de la muestra de nata del separador de leche y una porción del retentado del concentrador de leche.

En algunas realizaciones, el estandarizador de leche está en comunicación fluida con el esterilizador, y no hay un homogeneizador situado en el sistema de procesamiento en línea cerrado antes del esterilizador. En algunas realizaciones, el sistema puede someterse a un método de limpieza in situ (CIP). En algunas realizaciones, el esterilizador es de grado farmacéutico. En algunas realizaciones, el esterilizador es de grado comercial.

También se divulga en el presente documento un producto de leche humana esterilizada preparado mediante el método reivindicado que comprende: un recuento en placa de bacterias aerobias inferior a 10 CFUs por gramo del producto de leche humana esterilizada; y una concentración de lactoferrina comprendida entre 0.81 gramos por litro y 13.28 gramos por litro del producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada comprende además una concentración de lisozima comprendida entre 0.012 gramos por litro y 0.105 gramos por litro del producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada comprende además una concentración de lactoalbúmina comprendida entre 1.87 gramos por litro y 2.68 gramos por litro del producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada comprende además una concentración de antitripsina comprendida entre 0.057 gramos por litro y 0.40 gramos por litro del producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada comprende además una concentración de oligosacáridos de leche humana entre 8.8 gramos por litro y 20.0 gramos por

litro del producto de leche humana esterilizada. El producto de leche humana esterilizada comprende además una concentración de 2'fucosilactosa comprendida entre 0.72 gramos por litro y 4.3 gramos por litro del producto de leche humana esterilizada.

También se divulga en el presente documento un producto de leche humana esterilizada preparado mediante el método reivindicado que tiene, por 100 mililitros: (a) 263.59 a 280.33 J (63 a 67 calorías), (b) 125.52 a 142.26 J (30 a 34 calorías) de grasa, (c) 1.2 a 1.8 gramos de grasa saturada, (d) 10 a 16 mg de colesterol, (e) 10 a 20 mg de sodio, (f) 4 a 10 gramos de carbohidratos totales, (g) 4 a 7 gramos de azúcares, (h) 1.2 a 1.6 gramos de proteínas (i) 160 a 200 Unidades Internacionales de vitamina A, y (j) 27 a 35 mg de calcio. El producto de leche humana esterilizada tiene, por cada 100 mililitros, más de 263.59 J (63 calorías). Por ejemplo, el producto de leche humana esterilizada puede tener 267.78 J (64 calorías), 271.96 J (65 calorías), 276.14 J (66 calorías), 280.33 J (67 calorías), 284.51 J (68 calorías), 288.70 J (69 calorías), 292.88 J (70 calorías), 297.06 J (71 calorías), 301.25 J (72 calorías), 305.43 J (73 calorías), 309.62 J (74 calorías), 313.80 J (75 calorías), 317.98 J (76 calorías), 322.17 J (77 calorías), 326.35 J (78 calorías), 330.54 J (79 calorías), 334.72 J (80 calorías), 338.90 J (81 calorías), 343.09 J (82 calorías), 347.27 J (83 calorías), 351.46 J (84 calorías), 355.64 J (85 calorías), 359.82 J (86 calorías), 364.01 J (87 calorías), 368.19 J (88 calorías), 372.38 J (89 calorías), 376.56 J (90 calorías), 380.74 J (91 calorías), 384.93 J (92 calorías), 389.11 J (93 calorías), 393.30 J (94 calorías), 397.48 J (95 calorías), 401.66 J (96 calorías), 405.85 J (97 calorías), 410.03 J (98 calorías), 414.22 J (99 calorías), o 418.40 J (100 calorías) por 100 mililitros del producto de leche humana esterilizada.

También se divulga en el presente documento un producto de leche humana esterilizada preparado mediante el método reivindicado que tiene una cantidad reducida de *Bacillus Cereus* en comparación con la cantidad de *Bacillus Cereus* en una muestra de leche materna humana cruda a partir de la cual se esterilizó el producto de leche humana esterilizada, en el que la cantidad reducida es de al menos 500 log de reducción de *Bacillus Cereus*. El producto de leche humana esterilizada tiene una cantidad reducida de *Clostridium Botulinum* en comparación con la cantidad de *Clostridium Botulinum* en la muestra de leche materna humana cruda a partir de la cual se esterilizó el producto de leche humana esterilizada, siendo la cantidad reducida de al menos 12 log de *Clostridium Botulinum*.

También divulgado en el presente documento pero que no forma parte de la presente invención, el producto de leche humana esterilizada se incluye en un producto empacado asépticamente. El producto empacado asépticamente se empaca en uno de una botella, un vaso de refuerzo, una caja de cartón, un bloque de papel o una bolsa.

También divulgado en este documento pero no como parte de la presente invención, el producto de leche humana esterilizada se incluye en un producto empacado de vida útil prolongada. El producto empacado de vida útil prolongada se empaca en uno de una botella, un vaso de refuerzo, una caja de cartón, un bloque de papel o una bolsa.

Diversos objetos, características, aspectos y ventajas de la presente invención se harán más evidentes a partir de la siguiente descripción detallada de las realizaciones de la invención, junto con los dibujos adjuntos en los que números similares representan componentes similares.

5. Breve descripción de los dibujos

Los dibujos adjuntos, que se incorporan y forman parte de esta especificación, ilustran varios aspectos descritos a continuación.

La FIG. 1A representa un proceso de flujo dentro de un sistema para procesar leche materna humana cruda para generar un producto de leche humana esterilizada, de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 1B representa dispositivos de un clarificador bacteriano opcional (sinónimamente, clarificador de leche) del sistema, de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 1C representa dispositivos de un estandarizador de leche opcional del sistema, de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 2 representa un diagrama de sistema del esterilizador de leche dentro del sistema cerrado de esterilización en línea, de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 3 representa un gráfico de la temperatura del producto de leche mientras fluye a través del esterilizador de leche, de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 4 representa un diagrama de flujo para generar un producto de leche humana esterilizada, de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 5 representa un diagrama de flujo para esterilizar el producto de leche, de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 6A tabula los parámetros de múltiples ejecuciones a escala piloto del proceso de esterilización descrito adicionalmente en el Ejemplo 7.1, de acuerdo con las realizaciones de la presente invención.

- 5 La FIG. 6B presenta datos nutricionales comparativos de una muestra de leche humana cruda y un producto de leche humana esterilizada preparado de acuerdo con una realización de la presente invención.

- La FIG. 6C presenta las características de composición de un primer lote de una muestra de leche cruda y de los productos de leche humana esterilizada resultantes de la Ejecución 4 y Ejecución 11 de esterilización definidas en la FIG. 6A, con la retención de cada característica de composición calculada en relación con el primer lote de producto de leche cruda.
- 10

La FIG. 6D presenta las características composicionales de un segundo lote de una muestra de leche cruda y de los productos de leche humana esterilizada resultantes de la Ejecución 7 y Ejecución 14 de esterilización definidas en la FIG. 6A, con la retención de cada característica composicional calculada en relación con el segundo lote de producto de leche cruda.

- 15 La FIG. 6E presenta el contenido cuantificado de bacterias, mohos y levaduras en la leche humana cruda y en el producto de leche humana esterilizada.

Las FIGS. 7A y 7B presentan cantidades de varios suplementos añadidos por litro de muestra de leche para obtener muestras de leche fortificada.

- 20 La FIG. 7C representa los parámetros de procesamiento utilizados para esterilizar cada muestra de leche fortificada y la reducción logarítmica de *B. Cereus* de cada muestra de leche fortificada después de la esterilización.

La FIG. 8A representa datos analíticos de la composición del producto de leche humana esterilizada procesado en el Ejemplo 7.3.

- 25 La FIG. 8B representa los recuentos microbianos de las Botellas 158, 1888 y 3151 en comparación con la leche humana cruda.

La FIG. 9A presenta los datos analíticos e identifica el método de referencia utilizado para determinar varios componentes composicionales correspondientes del producto de leche humana a escala comercial, esterilizada y fortificada producido en el Ejemplo 7.4.

- 30 La FIG. 9B representa los recuentos microbianos del producto de leche humana fortificada esterilizada embotellada asépticamente en comparación con la leche humana fortificada cruda.

- Las figuras utilizan números de referencia similares para identificar elementos similares. Una letra después de un número de referencia, tal como "135A", indica que el texto se refiere específicamente al elemento que tiene ese número de referencia en particular. Un número de referencia en el texto sin una letra a continuación, tal como "135", se refiere a cualquiera o a todos los elementos en las figuras que llevan ese número de referencia (por ejemplo, "clarificador bacteriano 135" en el texto se refiere a los números de referencia "clarificador bacteriano 135A" y/o "clarificador bacteriano 135B" en las figuras).
- 35

6. Descripción detallada

La presente invención se define mediante las reivindicaciones. Cualquier asunto objeto que quede fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona únicamente a título informativo.

- 40 6.1. Definiciones

Debe entenderse que esta invención no se limita a las realizaciones particulares descritas, ya que éstas pueden, por supuesto, variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en el presente documento es sólo con el propósito de describir realizaciones particulares, y no pretende ser limitativa, ya que el alcance de esta invención estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

- 45 La descripción detallada de la invención se divide en varias secciones sólo para comodidad del lector, y la divulgación que se encuentra en cualquier sección puede combinarse con la de otra sección. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente entiende una persona con conocimientos normales en la técnica a la que pertenece esta invención.

- 50 A lo largo de esta divulgación, varios aspectos de la invención pueden presentarse en un formato de rango. Los rangos incluyen los puntos finales mencionados. Debe entenderse que la descripción en formato de rango

es meramente por conveniencia y brevedad y no debe interpretarse como una limitación inflexible del alcance de la invención. En consecuencia, debe considerarse que la descripción de un rango ha divulgado específicamente todos los subrangos posibles, así como los valores numéricos individuales dentro de ese rango. Por ejemplo, se debe considerar que la descripción de un rango tal como de 1 a 6 tiene subrangos específicamente divulgados tales como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6 etc., así como números individuales dentro de ese rango, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto se aplica independientemente de la amplitud del rango. Esto se aplica independientemente de la amplitud del rango.

A menos que se indique específicamente o resulte evidente por el contexto, el término "o" se entiende inclusivo.

A menos que se indique específicamente o resulte evidente por el contexto, los términos "un", "uno, una" y "el, la" se entienden en singular o plural. Es decir, los artículos "un" y "uno, una" se utilizan aquí para referirse a uno o a más de uno (*es decir*, a al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.

En esta divulgación, "comprende", "que comprende", "que contiene", "que tiene", "incluye", "que incluye" y sus variantes lingüísticas tienen el significado que se les atribuye en la ley de Patentes de EE.UU., permitiendo la presencia de componentes adicionales más allá de los explícitamente citados.

A menos que se indique específicamente o resulte evidente por el contexto, el término "alrededor de" o "aproximadamente" se entiende dentro de un rango de tolerancia normal en la técnica, por ejemplo dentro de 2 desviaciones estándar de la media, y se entiende que abarca variaciones de $\pm 20\%$ o $\pm 10\%$, más preferiblemente $\pm 5\%$, incluso más preferiblemente $\pm 1\%$, y todavía más preferiblemente $\pm 0.1\%$ del valor indicado.

Por el término composición de "leche humana cruda" o "leche materna humana cruda" se entiende que significa leche humana obtenida de una o más hembras humanas sin que se haya llevado a cabo ninguna forma de pasteurización, esterilización o descontaminación. La composición cruda puede haber sido obtenida de una o múltiples donantes, opcionalmente mezclada y opcionalmente contaminada con *B. Cereus* y otros patógenos bacterianos, virales, mohos, esporas o levaduras.

Por el término composición de "producto de leche humana esterilizada" se entiende que significa la composición láctea obtenida tras la aplicación del método de esterilización de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

6.2. Sistemas y métodos para generar un producto de leche humana esterilizada.

6.2.1. Dispositivos del sistema de esterilización

La FIG. 1A representa un proceso de flujo para procesar leche materna humana cruda para generar un producto de leche humana esterilizada, de acuerdo con una realización de la presente invención.

Como se muestra en la FIG. 1A, la leche materna humana cruda 110 se proporciona a un sistema cerrado de esterilización en línea 100 que produce el producto de leche humana esterilizada 175. En diversas realizaciones, una vez que la leche materna humana cruda 110 ingresa al sistema cerrado de esterilización en línea 100, la leche no se expone al ambiente externo nuevamente hasta que se recupera como un producto de leche humana esterilizada 175.

El sistema comprende un esterilizador de leche 130.

En diversas realizaciones, el sistema cerrado de esterilización en línea 100 incluye además uno o más dispositivos adicionales, tales como los mostrados en la FIG. 1A, tal como el clarificador bacteriano (sinónimo, clarificador de leche) 115, el estandarizador de leche 120, fortificante 125, o dispositivos adicionales no mostrados en la FIG. 1A, tal como un homogeneizador de leche que homogeneiza una muestra de leche o un desaireador que elimina el oxígeno de una muestra de leche.

A modo de ejemplo, en algunas realizaciones, tales como las preferidas para producir un producto de leche manipulada adecuado para el consumo a distancia por bebés prematuros, el sistema 100 incluye un clarificador bacteriano 115 y un estandarizador de leche 120. En algunas de estas realizaciones, el sistema 100 incluye además un fortificante 125 y/o un homogeneizador de leche. En otras realizaciones, como las preferidas para producir un producto de leche manipulada diseñado para el consumo de adultos, el sistema 100 incluye el fortificante 125 pero no incluye el estandarizador de leche 120. En algunas de estas últimas realizaciones, el sistema 100 incluye además el clarificador bacteriano (clarificador de leche) 115. En algunas realizaciones, los dispositivos del sistema cerrado de esterilización en línea 100 pueden ordenarse de manera diferente. Por ejemplo, la posición del clarificador bacteriano (clarificador de leche) 115, el estandarizador de leche 120 y el fortificante 125 dentro del sistema 100 puede intercambiarse.

En diversas realizaciones, los dispositivos del sistema cerrado de esterilización en línea 100 están en comunicación fluida entre sí de tal manera que puede ocurrir un procesamiento de flujo continuo de la leche materna humana cruda 110 a medida que se procesa a través del sistema 100. Como se representa en la FIG. 1A, por ejemplo, el clarificador bacteriano (clarificador de leche) 115 puede estar en comunicación fluida con el estandarizador de leche 120, que está en comunicación fluida adicional con el fortificante 125, que está en comunicación fluida adicional con el esterilizador de leche 130. Los tubos, tuberías o similares pueden conectarse a los respectivos dispositivos del sistema 100 mediante soldaduras, roscas u otras conexiones apropiadas. En diversas realizaciones, el sistema cerrado de esterilización en línea 100 incluye una entrada (por ejemplo, por donde se introduce la leche materna humana cruda 110) y una salida (por ejemplo, por donde sale el producto de leche humana esterilizada 175).

6.2.1.1. Leche materna humana cruda

El sistema 100 recibe un lote de leche materna humana cruda 110.

En realizaciones típicas, el lote de leche materna humana cruda 110 se prepara agrupando una pluralidad de donaciones de leche individuales. En algunas realizaciones, la pluralidad de donaciones de leche procede de un único donante. En realizaciones típicas, la pluralidad de donaciones de leche incluye leche de una pluralidad de donantes.

En las realizaciones típicas, cada donante recoge una pluralidad de muestras de leche humana cruda, congelando cada muestra tan pronto como se expresa completamente. La pluralidad de muestras de leche humana cruda congelada se envía entonces congelada para ser agrupada y suministrada al sistema 100 para su procesamiento.

Tras la recepción, la leche materna humana cruda de cada donante se valida, es decir, se determina que cumple ciertos requisitos. En las realizaciones típicas, se lleva a cabo una o más de las siguientes pruebas: prueba organoléptica, prueba de coágulos al hervir, prueba de alcohol, prueba de acidez, prueba de resazurina, prueba de drogas y prueba de inhibidores de la leche. Normalmente, las donaciones de leche cruda que no superan la prueba de validación se descartan para evitar que la donación contamine o adultere un lote de leche materna humana cruda 110 que se va a suministrar al sistema 100.

En diversas realizaciones, antes de ser suministrada al sistema cerrado en línea 100, la leche materna humana cruda 110 es muestreada para determinar las características o la concentración de los componentes de la leche materna humana cruda 110. En lo sucesivo, las características de la leche materna humana cruda 110 (y otros productos lácteos descritos más adelante) incluyen la densidad de la leche y las calorías totales de la leche. Además, los componentes de la leche materna humana cruda 110 (y otros productos lácteos descritos a continuación) incluyen lípidos/grasas, proteínas (suero, caseína, albúmina, etc.), vitaminas, colesterol, sales iónicas (por ejemplo, sodio, calcio, hierro, etc.) carbohidratos, inmunoglobulinas y oligosacáridos. Estas características iniciales y/o concentración de componentes de la leche materna humana cruda 110 pueden proporcionarse al combinador de leche 150 para diseñar el producto de leche humana estandarizada. El proceso de elaboración del producto de leche humana estandarizada se describe con más detalle a continuación.

En una realización, el volumen total de un lote de leche materna humana cruda 110 es de 1,200 litros. En otras realizaciones, el volumen total de un lote de leche materna humana cruda 110 es superior o inferior a 1,200 litros.

6.2.1.2. Clarificador bacteriano (clarificador de leche)

El clarificador bacteriano (también, sinónimamente, clarificador de la leche) 115 es un dispositivo o aparato capaz de eliminar una fracción o la totalidad del material patógeno y/o patógenos (por ejemplo, contaminantes bacterianos, mohos, esporas y/o levaduras) en la leche materna humana cruda 110. En una realización del presente sistema, el clarificador bacteriano 115 es el primer dispositivo del sistema 100 que recibe la leche materna humana cruda 110 y envía leche clarificada al siguiente dispositivo que, en algunas realizaciones, es el estandarizador de leche 120. En otras realizaciones, el clarificador bacteriano 115 envía la leche clarificada al fortificante 125. En otras realizaciones, el clarificador bacteriano 115 envía la leche clarificada directamente al esterilizador de leche 130.

En algunas realizaciones, el clarificador bacteriano 115 incluye un único dispositivo clarificador bacteriano 135 que da salida a la leche clarificada 122 para su entrada en el siguiente dispositivo del sistema 100. En algunas realizaciones, el clarificador bacteriano único elimina hasta el 90% de los patógenos, como las esporas de *B. Cereus* y/o las esporas de *C. Botulinum*, de la leche.

En algunas realizaciones, el clarificador bacteriano 115 incluye una pluralidad de dispositivos clarificadores bacterianos. Se hace referencia ahora a la FIG. 1B, que representa dos clarificadores bacterianos individuales 135A y 135B conectados en serie de acuerdo con una realización de la presente invención. En esta realización, el primer clarificador bacteriano 135A elimina una primera fracción de patógenos y/o material patógeno. A

continuación, la leche pasa al segundo clarificador bacteriano 135B, que elimina una segunda fracción de patógenos y/o material patogénico. En diversas realizaciones, el flujo de la leche materna humana cruda 110 a través del primer clarificador bacteriano 135A y el segundo clarificador bacteriano 135B efectúa un proceso de doble clarificación bacteriana que elimina hasta el 90% de los patógenos de la leche. En algunas realizaciones, el proceso de doble clarificación bacteriana elimina hasta el 90% de las esporas de *B. Cereus* de la leche. En algunas realizaciones, el proceso de doble clarificación bacteriana elimina hasta el 90% de las esporas de *C. Botulinum* de la leche. El resultado del proceso de doble clarificación bacteriana en estas realizaciones es la leche clarificada 122, que se suministra al siguiente dispositivo del sistema 100.

En otras realizaciones, el clarificador bacteriano 115 emplea más de dos clarificadores bacterianos 135 en serie para aumentar aún más la cantidad de clarificación patogénica.

En diversas realizaciones, cada clarificador bacteriano 135 es un dispositivo de filtración centrífuga. Un ejemplo de un clarificador bacteriano 135 adecuado es el separador bacteriano GEA tal como el GEA Pathfinder. En tales realizaciones, la leche materna humana que se suministra al clarificador bacteriano 135 se centrifuga a una velocidad predeterminada durante un periodo de tiempo. A medida que se centrifuga la leche materna humana 110, se recogen los sólidos por encima de una densidad particular de acuerdo con la velocidad de centrifugación y la duración de la centrifugación. Estos sólidos incluyen microbios patógenos de mayor tamaño (por ejemplo, bacterias, virus), así como células de la donante y otro material celular. A continuación, los sólidos pueden descargarse a intervalos periódicos desde el clarificador bacteriano 135. La leche materna humana clarificada puede entonces suministrarse al siguiente dispositivo del sistema 100.

6.2.1.3. Estandarizador de leche

Volviendo a la FIG. 1A, un estandarizador de leche 120 genera un producto de leche humana estandarizada que posee una cantidad objetivo de componentes (por ejemplo, nutrientes específicos) y/o características objetivo. De este modo, el estandarizador de leche 120 garantiza que la leche suministrada para fortificación opcional y para la esterilización esté estandarizada, de modo que cada lote de producto de leche humana esterilizada 175 que se genere tenga una variabilidad reducida en comparación con otro lote de producto de leche humana esterilizada 175. El uso del estandarizador de leche 120 es preferible para los productos lácteos esterilizados diseñados para el consumo remoto de lactantes y, en particular, de lactantes prematuros.

La FIG. 1C representa dispositivos de un estandarizador de leche 120 del sistema 100, de acuerdo con una realización de la presente invención. Por ejemplo, el estandarizador de leche 120 incluye un separador de leche 140, un concentrador 145, y un combinador de leche 150 que genera el producto de leche estandarizada 170 que se proporciona al siguiente dispositivo del sistema 100. Un separador de leche 140 separa una muestra de leche clarificada en una fracción de nata 155 y una fracción desnatada 160. La fracción de nata 155 se refiere a la porción de la muestra de leche que incluye una mezcla de lípidos (por ejemplo, grasas), mientras que la fracción desnatada 160 incluye componentes tales como sales iónicas, proteínas (por ejemplo, lactosa, suero de leche, micelas de caseína, inmunoglobulinas, albúmina y similares), vitaminas solubles en agua y oligosacáridos de leche humana (HMOs). En diversas realizaciones, el separador de leche 140 es capaz de mantener la temperatura de la leche clarificada, la fracción de nata 155 y la fracción desnatada 160 a una temperatura determinada. Por ejemplo, el separador de leche 140 puede aplicar refrigeración para mantener la temperatura de la leche clarificada y de cada fracción a alrededor de 4°C - 20°C. En otras realizaciones, el separador de leche 140 puede aplicar calefacción para mantener la temperatura de la leche clarificada y de cada fracción a alrededor de 45-65°C. Dependiendo de la temperatura a la que deba separarse la leche, el separador de leche 140 puede diseñarse en consecuencia, dado que la viscosidad de la leche clarificada puede variar sustancialmente a diferentes temperaturas. Por ejemplo, los separadores de leche 125 pueden incluir discos encargados de separar la fracción de nata 155 de la fracción desnatada 160. Como tal, un separador de leche fría puede diseñarse con menos discos (más espacio entre discos) en comparación con un separador de leche caliente para garantizar que la mayor viscosidad de la leche a temperaturas frías no obstruya el separador de leche 140.

En diversas realizaciones, el separador de leche 140 es una centrífuga de alta velocidad (también conocida como ultracentrífuga) que es capaz de aplicar velocidades de centrifugación de 50,000 x g y superiores. Un ejemplo de separador de leche 140 es un separador Tetra Pak®. Dado que la fracción de nata 155 posee una densidad inferior a la de la fracción de leche desnatada 160, la aplicación de una velocidad de centrifugación predeterminada durante un tiempo determinado separa eficazmente la fracción de leche desnatada 160 de la fracción de nata 155. Como tal, cada fracción individual puede ser recogida individualmente y posteriormente procesada. Como se representa en la FIG. 1C, la fracción desnatada 160 se proporciona al concentrador 145, mientras que la fracción de nata 155 se proporciona directamente al combinador de leche 150. En una realización, la fracción de nata 155 se almacena o retiene temporalmente mientras la fracción de desnatada 160 se somete a un procesamiento adicional.

El concentrador 145 concentra además la fracción desnatada 160 en un retentado. En una realización, el concentrador 145 es un dispositivo de filtración de membrana que realiza ósmosis inversa en la fracción

desnatada 160 con el fin de concentrar los componentes (por ejemplo, sales, proteínas, HMOs) que se encuentran en la fracción desnatada 160.

En algunas realizaciones, el concentrador 145 concentra la fracción desnatada 160 para obtener un retentado que tiene una concentración objetivo de un componente. Por ejemplo, el concentrador 145 puede detectar, a través de un sensor o un dispositivo similar, la concentración inicial de un componente en la fracción desnatada 160. Un ejemplo de concentración de un componente puede ser la concentración de proteínas, de aminoácidos individuales o de un componente en particular. Un ejemplo de concentración de un componente puede ser la concentración de proteínas, la concentración de aminoácidos individuales o la concentración de vitaminas. A continuación, el retentado con una concentración objetivo de un componente se suministra al combinador de leche 150.

El combinador de leche 150 elabora un producto de leche humana estandarizada combinando porciones de la fracción de nata 155 y el retentado (por ejemplo, la fracción desnatada concentrada 160). En diversas realizaciones, para lograr las concentraciones deseadas en el producto de leche humana estandarizada, el combinador de leche 150 puede complementar adicionalmente el agua que fue originalmente eliminada por el concentrador 145 al concentrar la muestra de desnatado 160.

En algunas realizaciones, el combinador de leche 150 está configurado con uno o más sensores para detectar características de la fracción de nata 155, el retentado, o ambos. Por ejemplo, una característica detectable puede ser la densidad de la solución o las calorías totales de la fracción de nata 155 o del retentado. Alternativa o adicionalmente, el sensor puede estar configurado para detectar concentraciones de componentes en la fracción de nata 155 o el retentado. Más específicamente, un sensor del combinador de leche 150 puede detectar una concentración de proteína en el retentado y una concentración de lípido (por ejemplo, grasa) en la fracción 155 de nata. Otros componentes detectables por el sensor incluyen aminoácidos específicos, vitaminas, carbohidratos, oligosacáridos e inmunoglobulinas.

En diversas realizaciones, el combinador de leche 150 puede estar configurado además para realizar cálculos, o estar en comunicación con un sistema informático. En algunas realizaciones, el combinador de leche 150 incluye el sistema informático. En lo sucesivo, dicho sistema informático se denominará sistema informático del combinador de leche 150. El sistema informático puede calcular la porción deseada de la fracción de nata 155 y el retentado que deben combinarse de acuerdo con las características detectadas o la concentración de los componentes de la fracción de nata 155 y el retentado detectados por el sensor del combinador de leche 150. Además, el sistema informático puede estar configurado con una memoria que, en algunas realizaciones, almacena una característica o concentración objetivo de un componente del producto de leche humana estandarizada.

Como se ha descrito anteriormente, un ejemplo de característica objetivo almacenada o concentración objetivo de un componente es una característica inicial o concentración inicial de un componente de la leche materna humana cruda 110 que se muestreó previamente. Como otro ejemplo, una característica objetivo almacenada o concentración objetivo de un componente puede ser un número fijo predeterminado. Por lo tanto, el combinador de leche 150 intenta diseñar un producto de leche estandarizada que alcance la característica objetivo o la concentración objetivo de un componente. En diversas realizaciones, lograr una característica o concentración objetivo de un componente se refiere a lograr una característica o concentración de un componente que sea inferior a una diferencia porcentual en comparación con la característica inicial o concentración inicial de un componente de la leche materna humana cruda 110. En otras realizaciones, lograr una característica o concentración objetivo de un componente se refiere a lograr una característica o concentración de un componente que sea inferior a una diferencia porcentual en comparación con el número fijo predeterminado.

Como un ejemplo más específico, lograr una densidad objetivo significa que el producto de leche humana estandarizada posee una densidad que es inferior a una diferencia del 10% en comparación con la densidad objetivo almacenada. Como otro ejemplo, lograr una concentración de proteína objetivo significa que el producto de leche humana estandarizada posee una concentración de proteína que es inferior a una diferencia del 5% en comparación con una concentración de proteína objetivo almacenada. Como tercer ejemplo, lograr una concentración objetivo de lípidos significa que el producto de leche humana estandarizada posee una concentración de lípidos que es inferior a una diferencia del 5% en comparación con una concentración objetivo de lípidos almacenada.

En una realización de ejemplo, el combinador de leche 150 recibe la fracción de nata 155 y el retentado y detecta, utilizando uno o más sensores, las características y/o concentraciones de componentes en la fracción de nata 155 y el retentado. El sistema informático del combinador de leche 150 compara las características y/o concentraciones de componentes detectadas con las características y/o concentraciones de componentes objetivo almacenadas. En una realización, el sistema informático identifica una única característica o componente como estándar y determina la porción de la fracción de nata 155 y el retentado que deben combinarse para que el producto de leche humana estandarizada alcance la característica estándar o la concentración de componentes deseada. Por ejemplo, el producto de leche humana estandarizada puede

diseñarse combinando una porción de la fracción de nata 155 y el retentado para poseer una concentración objetivo de proteína en el producto de leche estandarizada.

- En diversas realizaciones, para diseñar un producto de leche humana estandarizada, el sistema informático prioriza las características y/o componentes del producto de leche humana estandarizada que deben lograrse. En una realización, el orden de prioridad de las características es el siguiente: 1) densidad, 2) concentración de proteínas y 3) concentración de lípidos. En otras realizaciones, se establecen otros órdenes de prioridad. Como ejemplo de este orden de prioridad, el sistema informático puede determinar en primer lugar una primera porción de la fracción de nata 155 y una primera porción del retentado que deben combinarse para alcanzar la densidad deseada (por ejemplo, dentro de una diferencia porcentual preestablecida). A continuación, el sistema informático determina si la combinación de la primera porción de la fracción de nata 155 y la primera porción del retentado también logra la concentración de proteína deseada (por ejemplo, dentro de la diferencia porcentual). Si no es así, el sistema informático puede ajustar los volúmenes de la primera porción de la fracción de nata 155 y la primera porción del retentado para satisfacer la concentración de proteína deseada, manteniendo al mismo tiempo la densidad deseada. Del mismo modo, el sistema informático puede realizar la misma comprobación para la concentración de lípidos. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el sistema informático puede calcular un producto de leche humana estandarizada que alcance todas las características que se incluyen en el orden prioritario de características. En otras realizaciones, el sistema informático puede generar un producto de leche humana normalizado que cumpla un subconjunto de las características según el orden de prioridad de las características.
- El combinador de leche 150 combina las porciones de la fracción de nata 155 y el retentado, según lo calculado por el sistema informático de el combinador de leche 150. En diversas realizaciones, el combinador de leche 150 hidrata además las porciones combinadas de la fracción de nata 155 y el retentado. De este modo, el combinador de leche 150 elabora un producto de leche humana estandarizada 170. El producto de leche humana estandarizada 170 se suministra al siguiente dispositivo del sistema 100.
- En algunas realizaciones, el estandarizador de leche 120 envía el producto de leche humana estandarizada al fortificante 125, como se muestra en la FIG. 1A. El fortificante 125 puede proporcionar nutrientes suplementarios al producto de leche humana estandarizada como se describe a continuación.

- En algunas realizaciones, el estandarizador de leche 120 provee el producto de leche estandarizada a un homogeneizador de leche que está localizado en línea entre el combinador de leche 150 y el esterilizador de leche 130 (no mostrado en la FIG. 1A).

- En otras realizaciones, el combinador de leche 150 proporciona el producto de leche estandarizada directamente al esterilizador de leche 130 para su posterior esterilización. Específicamente, en estas realizaciones, el producto de leche estandarizada suministrado al esterilizador de leche 130 no es previamente homogeneizado por ningún dispositivo previo en el sistema cerrado de esterilización en línea 100. La falta de un paso de homogeneización puede ayudar a preservar la integridad de los componentes (por ejemplo, proteínas, HMOs, lípidos, etc.) en el producto de leche estandarizada, que de otro modo podrían verse alterados o dañados por la homogeneización.

6.2.1.4. Homogeneizador de leche

- Si se incluye en el sistema 100, un homogeneizador de leche homogeneiza el producto de leche humana introducido en el mismo.

- Por ejemplo, el homogeneizador de leche fuerza, mediante un flujo impulsado por presión, el producto de leche humana estandarizada a través de un pequeño pasaje físico a alta velocidad, alterando así los glóbulos de grasa del producto de leche estandarizada. La homogeneización del producto de leche humana estandarizada puede mejorar la estabilidad a largo plazo del producto de leche, mejorar el sabor del producto de leche y/o mejorar el aspecto del producto de leche.

Dependiendo del uso previsto del producto de leche humana esterilizada, estas ventajas pueden verse contrarrestadas por la pérdida de valor nutricional. En el producto de leche humana esterilizada 175 destinado al consumo a distancia de lactantes prematuros, actualmente no se prefiere la homogeneización mediante un homogeneizador de leche.

6.2.1.5. Fortificante

En diversas realizaciones, el fortificante 125 proporciona nutrientes suplementarios para alcanzar una concentración objetivo de los nutrientes suplementarios añadidos.

- En diversas realizaciones, el fortificante 125 proporciona una o más de las grasas, anticuerpos (por ejemplo, IgA, IgG, IgE, y similares), calostro, como el calostro bovino, proteínas (aminoácidos, suero de leche, caseína, albúmina, etc.), vitaminas, colesterol, sales iónicas (por ejemplo, sodio, calcio, hierro, etc.), carbohidratos y oligosacáridos de la leche humana como nutrientes suplementarios del producto de leche humana

estandarizada. En algunas realizaciones, el fortificante 125 añade una composición proteica de alta utilización neta de nitrógeno (NNU), tal como se describe en la solicitud provisional U.S. No. 62/439,408, presentada el 27 de diciembre de 2016.

6.2.1.6. Esterilizador de leche

- 5 El esterilizador de leche 130 erradica los agentes patógenos presentes en la leche que se introduce en él para garantizar que el producto de leche humana esterilizada 175 sea apto para el consumo a distancia por parte de un individuo, como un adulto, un adolescente, lactantes y, en particular, lactantes prematuros.

10 Como se discutió anteriormente, en algunas realizaciones el esterilizador de leche 130 recibe leche materna humana cruda 110 directamente como entrada. En otras realizaciones, el esterilizador de leche 130 recibe leche materna humana clarificada 122 como entrada. En otras realizaciones, el esterilizador de leche 130 recibe como entrada un producto de leche estandarizada 170, ya sea previamente clarificada o no. En algunas realizaciones, la leche que se introduce en el esterilizador de leche 130 ha sido fortificada; en otras realizaciones, la leche que se introduce en el esterilizador de leche 130 no ha sido fortificada. En algunas realizaciones, la leche de entrada no está homogeneizada. En otras, la leche de entrada está homogeneizada.

- 15 En realizaciones preferidas, el esterilizador de leche 130 realiza un proceso de esterilización a temperatura ultra alta para generar el producto de leche humana esterilizada 175.

20 Por ejemplo, el esterilizador de leche 130 calienta rápidamente el producto de leche humana a una temperatura objetivo. Además, el producto de leche humana se mantiene a la temperatura objetivo durante una cantidad particular de tiempo, en lo sucesivo denominado tiempo de mantenimiento. La temperatura objetivo, la velocidad de calentamiento y el tiempo de mantenimiento aplicados al producto de leche humana se seleccionan para lograr la reducción del contenido patógeno al tiempo que se maximiza la integridad de los componentes nutricionales dentro del producto de leche humana.

25 Se hace referencia a la FIG. 2, que representa un diagrama del sistema del esterilizador de leche 130 dentro del sistema cerrado de esterilización en línea 100, de acuerdo con una realización de la presente invención. En la realización representada, la leche que es introducida en el esterilizador 130 es un producto de leche estandarizada que es introducido por el estandarizador de leche 120, opcionalmente fortificado por el fortificante 125.

30 El esterilizador de leche 130 puede incluir un precalentador 205, un calentador final 210, un tubo de retención 215, y un enfriador 220. Adicionalmente, el esterilizador de leche 130 puede incluir un termopar entre cada dispositivo en el esterilizador de leche 130 de tal manera que la temperatura de la leche que fluye a través del esterilizador de leche 130 puede ser determinada y/o monitorizada en cada paso del proceso de esterilización. Como se muestra en la FIG. 2, el esterilizador de leche 130 puede incluir además una bomba de desplazamiento positivo 225 que impulsa el producto de leche de entrada a través de los dispositivos subsiguientes del esterilizador de leche 130. Varias formas de realización del esterilizador de leche 130 pueden incluir menos dispositivos que los mostrados aquí en la FIG. 2. Como ejemplo, el esterilizador de leche 130 puede incluir un solo calentador, en lugar de un precalentador 205 y un calentador final 210, que realiza un solo proceso de calentamiento para calentar el producto de leche de entrada a una temperatura objetivo. Diversas realizaciones del esterilizador de leche 130 también pueden incluir dispositivos adicionales a los divulgados aquí en la FIG. 2. Por ejemplo, el esterilizador de leche 130 puede incluir un homogeneizador ubicado entre cualquiera de los dos dispositivos representados en la FIG. 2.

45 En diversas realizaciones, el esterilizador de leche 130 cumple con las normas de buenas prácticas de fabricación (GMP). Por ejemplo, los tubos y conectores que entran en contacto con el producto de leche de entrada cumplen las normas GMP. En otras realizaciones, el esterilizador de leche 130 es un dispositivo de grado farmacéutico que cumple con las normas de grado farmacéutico, de tal manera que el proceso de esterilización realizado por el esterilizador de leche 130 es un proceso de esterilización de grado farmacéutico.

50 El esterilizador de leche 130 es, en realizaciones preferidas, parte de un proceso cerrado en línea que recibe, como entrada, el producto de leche y proporciona, como salida, el producto de leche humana esterilizada. El proceso de esterilización realizado por el esterilizador de leche 130 puede ser un proceso de flujo continuo. Más específicamente, la leche que fluye a través del esterilizador de leche 130 puede fluir a una velocidad de flujo única y constante. En una serie de realizaciones, la velocidad de flujo de la leche está comprendida entre 0.0158 litros por segundo y 1.58 litros por segundo (entre 0.25 galones y 25 galones por minuto). En diversas realizaciones, la velocidad de flujo de la leche está comprendida entre 0.0158 litros por segundo y 0.95 litros por segundo (entre 0.25 galones y 15 galones por minuto). En diversas realizaciones, la velocidad de flujo de la leche está comprendida entre 0.0158 litros por segundo y 0.32 litros por segundo (entre 0.25 galones y 5 galones por minuto). En algunas realizaciones, la velocidad de flujo de la leche está entre 0.32 litros por segundo y 6.31 litros por segundo (entre 5-100 galones por minuto).

El precalentador 205 precalienta el producto de leche de entrada a una primera temperatura objetivo. Refiriéndose ahora a la FIG. 3, se muestra un gráfico de la temperatura del producto de leche mientras fluye a

través del esterilizador de leche 130, de acuerdo con una realización de la presente invención. Específicamente, el precalentador 205 puede precalentar el producto de leche de entrada desde una temperatura inicial (por ejemplo, entre 0-25°C) a una primera temperatura objetivo de 90°C. En otros ejemplos, la temperatura objetivo puede estar entre 80°C y 100°C.

5 El precalentador 205 puede ser un recipiente, como una cuba, que está configurado para recibir el producto de leche de entrada a través de una entrada de leche. El precalentador 205 da salida al producto de leche precalentado a través de una salida de leche. Además, el precalentador 205 puede estar configurado para recibir un medio de precalentamiento 230 a través de una entrada de calentamiento y da salida al medio de precalentamiento 230 a través de una salida de calentamiento. En diversas realizaciones, cada una de la
10 entrada de leche, la salida de leche, la entrada de calentamiento y la salida de calentamiento están situadas en el precalentador 205 de tal manera que puede producirse un intercambio de calor en contracorriente entre un producto de leche de entrada que fluye a través de la entrada de leche y la salida de leche y un medio de precalentamiento que fluye a través de la entrada de calentamiento y la salida de calentamiento. Por ejemplo, la entrada de leche y la salida de calentamiento se encuentran en un lado del precalentador 205. La entrada
15 de leche y la salida de calentamiento pueden ser adyacentes. Además, la salida de leche y la entrada de calefacción se encuentran en un lado opuesto del precalentador 205. En este caso, la salida de leche y la entrada de calentamiento también pueden ser adyacentes entre sí. Por lo tanto, el flujo del producto de leche de entrada y el flujo del medio de precalentamiento 230 dentro del precalentador 205 pueden ser direccionalmente opuestos entre sí, permitiendo así un intercambio de calor eficiente en contracorriente entre
20 el producto de leche de entrada y el medio de precalentamiento 230 dentro del precalentador 205.

En diversas realizaciones, el medio de precalentamiento 230 alimentado al precalentador 205 a través de la entrada de calentamiento está a la primera temperatura objetivo o por encima de ella. Es decir, el medio de precalentamiento 230 puede calentarse hasta o por encima de la primera temperatura objetivo en una cámara separada del esterilizador de leche 130 utilizando medios de calentamiento eléctrico. En otras realizaciones, el
25 medio de precalentamiento 230 puede calentarse hasta o por encima de la primera temperatura objetivo en una cámara separada que reside dentro del precalentador 205. Una vez que el medio de precalentamiento 230 ha alcanzado o superado la primera temperatura objetivo, fluye a través del precalentador 205 para calentar el producto de leche de entrada mediante un intercambio de calor en contracorriente.

El medio de precalentamiento 230 puede ser cualquier tipo de fluido calentador con una alta capacidad calorífica específica, como agua, aceites minerales, así como soluciones sintéticas u orgánicas. En algunas realizaciones, el medio de precalentamiento 230 puede incluir vapor calentado. En otras realizaciones, el medio
30 de precalentamiento 230 puede mantenerse a una presión objetivo que asegure que el medio de precalentamiento 230 está en forma líquida (por ejemplo, agua líquida) en lugar de estar en forma gaseosa (por ejemplo, vapor). Esto garantiza que el intercambio de calor en contracorriente se produzca entre un medio de precalentamiento líquido 230 y la leche líquida dentro del precalentador 205.
35

La entrada de leche y la salida de leche están conectadas dentro del precalentador 205 por un tubo a través del cual fluye la leche normalizada. En algunas realizaciones, el tubo es un tubo lineal. En diversas realizaciones, el tubo puede ser un tubo en espiral. El tubo en espiral dentro del precalentador 205 aumenta la superficie del tubo disponible para el intercambio de calor entre el medio de precalentamiento 230 y el producto
40 de leche de entrada dentro del tubo en espiral.

El tubo está configurado además para garantizar que el producto de leche de entrada se caliente a la primera temperatura objetivo. Por ejemplo, la longitud del tubo puede seleccionarse de manera que el producto de leche de entrada se precaliente a la primera temperatura objetivo y pueda equilibrarse dentro de un rango umbral de la primera temperatura objetivo mientras permanece en el tubo en espiral. Como otro ejemplo, el número de
45 espirales de un tubo en espiral se elige de tal manera que el producto de leche de entrada se precaliente a la primera temperatura objetivo y es capaz de equilibrarse dentro de un rango de umbral de la primera temperatura objetivo mientras todavía está en el tubo en espiral. Además, el diámetro del tubo puede estar comprendido entre 0.64 cm y 25.4 cm (0.25 pulgadas y 10 pulgadas). En algunas realizaciones, el diámetro del tubo está comprendido entre 0.64 cm y 12.7 cm (0.25 pulgadas y 5 pulgadas). En algunas realizaciones, el diámetro del
50 tubo está comprendido entre 0.64 cm y 2.54 cm (0.25 pulgadas y 1 pulgada). En algunas realizaciones, el diámetro del tubo está comprendido entre 0.64 cm y 1.27 cm (0.25 pulgadas y 0.5 pulgadas). En algunas realizaciones, el diámetro del tubo está comprendido entre 0.64 cm (0.25 pulgadas), 1.27 cm (0.5 pulgadas), 1.91 cm (0.75 pulgadas), 2.54 cm (1 pulgada), 5.08 cm (2 pulgadas), 7.62 cm (3 pulgadas), 10.16 cm (4 pulgadas), 12.7 cm (5 pulgadas), 15.24 cm (6 pulgadas), 17.78 cm (7 pulgadas), 20.32 cm (8 pulgadas), 22.86
55 cm (9 pulgadas) o 25.4 cm (10 pulgadas).

Refiriéndose ahora al calentador final 210 del esterilizador de leche 130, en diversas realizaciones, el calentador final 210 puede ser configurado de manera similar en comparación con el precalentador 205. En general, la descripción anterior con respecto al precalentador 205, a menos que se indique explícitamente lo contrario aquí, también puede aplicarse al calentador final 210.

Por ejemplo, el calentador final 210 puede incluir una entrada de leche que recibe el producto de leche precalentado del precalentador 205 y da salida al producto de leche final calentado a través de una salida de leche. Del mismo modo, el calentador final 210 incluye una entrada de calentamiento que recibe el medio de calentamiento final 235 y una salida de calentamiento que da salida al medio de calentamiento final 235. Cada una de la entrada de leche, la salida de leche, la entrada de calentamiento y la salida de calentamiento están situadas en el calentador final 210 de tal manera que puede producirse un intercambio de calor en contracorriente entre un producto de leche precalentado que fluye a través de la entrada de leche y la salida de leche y un medio de calentamiento final 235 que fluye a través de la entrada de calentamiento y la salida de calentamiento. La entrada de leche y la salida de calentamiento pueden estar en un lado del calentador final 210, mientras que la salida de leche y la entrada de calentamiento pueden estar en un lado opuesto del calentador final 210. Por lo tanto, puede producirse un intercambio de calor en contracorriente dentro del calentador final 210 entre el medio de calentamiento final 235 y el producto de leche precalentado.

El calentador final 210 difiere del precalentador 205 en que el calentador final 210 eleva la temperatura del producto de leche precalentado (por ejemplo, a la primera temperatura objetivo entre 80°C y 100°C) a una segunda temperatura objetivo. Refiriéndose nuevamente a la FIG. 3, la segunda temperatura objetivo puede estar entre 130°C y 150°C. En una realización, la segunda temperatura objetivo puede estar entre 138°C y 142°C. En una realización particular, la segunda temperatura objetivo está entre 140°C y 141°C. Para calentar el producto lácteo precalentado hasta la segunda temperatura objetivo, el calentador final 210 recibe un medio de calentamiento final 235 que se calentó previamente hasta o por encima de la segunda temperatura objetivo en una cámara separada. En diversas realizaciones, el medio de calentamiento final 235 puede mantenerse a una presión objetivo superior a la presión atmosférica para garantizar que el medio de calentamiento final 235 se encuentre en estado líquido cuando se produzca el intercambio de calor en contracorriente entre el producto de leche precalentado y el medio de calentamiento final 235. La presión a la que se mantiene el medio de calentamiento final 235 puede ser superior a la presión a la que se mantiene el medio de precalentamiento 230, dado que la temperatura del medio de calentamiento final 235 es superior.

El tubo de retención 215 es un tubo aislado que mantiene la temperatura del producto de leche calentado a la segunda temperatura objetivo o cerca de ella durante un tiempo de retención (por ejemplo, una cantidad de tiempo predeterminada). La cantidad de tiempo predeterminada se selecciona de manera que se reduzcan los niveles de bacterias (por ejemplo, *B. Cereus* y *C. Botulinum*), manteniendo al mismo tiempo la integridad de los componentes nutricionales (por ejemplo, proteínas, grasas, inmunoglobulinas, oligosacáridos) en el producto de leche esterilizada. En una realización, el tiempo de mantenimiento es de hasta 50 segundos. En otra realización, el tiempo de mantenimiento está comprendido entre 2 y 20 segundos. En algunas realizaciones, el tiempo de mantenimiento está comprendido entre 3 y 15 segundos. En algunas realizaciones, el tiempo de retención está entre 6 y 14 segundos. En algunas realizaciones, el tiempo de retención está entre 8 y 13 segundos. En una realización, el tiempo de espera está entre 12 y 13 segundos.

Para conseguir un tiempo de retención deseado, el tubo de retención 215 puede configurarse específicamente. Como se muestra en la FIG. 2, el tubo de retención 215 puede ser un tubo en espiral. Dada una velocidad de flujo constante de la leche a través del tubo, el tubo en espiral puede ser diseñado con espirales adicionales o menos (por ejemplo, longitud adicional o reducida) para aumentar o disminuir el tiempo de retención. Alternativamente, para una longitud constante del tubo, la velocidad de flujo de la leche a través del tubo puede adaptarse ajustando el diámetro del tubo de retención 215. Por lo tanto, aumentar o disminuir el diámetro del tubo resulta en un correspondiente aumento o disminución del tiempo de retención. El esterilizador de leche 130 puede tener uno o más tubos de retención intercambiables 215 que pueden colocarse entre el calentador final 210 y el enfriador 220 para lograr una variedad de tiempos de retención diferentes.

El enfriador 220 recibe y enfría el producto de leche calentado del tubo de retención 215 a una temperatura objetivo. En algunas realizaciones, la temperatura objetivo después del enfriamiento está entre 15°C y 25°C. En una realización, la temperatura objetivo es la temperatura ambiente (por ejemplo, 23°C). En otras realizaciones, la temperatura objetivo está entre 1°C y 8°C, como la temperatura de refrigeración (por ejemplo, 4°C).

En diversas realizaciones, el enfriador 220 puede emplear intercambio de calor en contracorriente, similar al del precalentador 205 y el calentador final 210, para enfriar el producto de leche calentado. En general, la descripción anterior relativa a la configuración del precalentador 205, a menos que aquí se indique explícitamente lo contrario, puede aplicarse también al enfriador 220. A saber, el enfriador 220 puede tener una entrada de leche, una salida de leche, una entrada de medio de enfriamiento y una salida de medio de enfriamiento. Las entradas/salidas pueden colocarse de tal manera que se produzca un intercambio de calor en contracorriente entre el producto de leche calentado y el medio de enfriamiento 240. Al igual que en el precalentador 205 y el calentador final 210, la entrada de leche y la salida del medio de enfriamiento pueden estar en un lado del enfriador 220, mientras que la salida de leche y la entrada del medio de enfriamiento están en un lado opuesto para permitir el intercambio de calor en contracorriente. En otras realizaciones, el enfriador 220 puede emplear otros métodos de enfriamiento para enfriar el producto de leche calentado a la temperatura deseada. El producto de leche enfriado que sale por el medio de enfriamiento 240 se denomina en lo sucesivo producto de leche humana esterilizada 175.

6.2.1.7. Procesamiento y empaque adicional

El producto de leche humana esterilizada 175 obtenido del sistema cerrado de esterilización en línea 100 puede procesarse y/o empacarse adicionalmente.

5 Por ejemplo, el producto de leche humana esterilizada 175 puede someterse además a una etapa de empaque. En diversas realizaciones, este paso de empaque es un proceso de empaque aséptico que garantiza que el producto de leche humana esterilizada 175 permanece sin adulterar y es seguro para el consumo. Este proceso de empaque aséptico puede incluir las etapas de descifrado del envase, llenado aséptico del envase con el producto de leche humana esterilizada 175, termosellado del envase, etiquetado y codificación del envase, sellado del envase a prueba de manipulaciones y agrupación del envase. Actualmente se prefiere el empaque aséptico para el producto de leche humana esterilizada 175 destinado al consumo de lactantes, como los prematuros. En otras realizaciones, el proceso de empaque es un proceso de empaque de vida útil prolongada (ESL). En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 se empaqueta en un biberón o un vaso de refuerzo que facilita la alimentación del producto de leche humana esterilizada 175 a un lactante, como un prematuro. En algunas realizaciones, el envase puede ser un cartón de papel, un bloque de papel (por ejemplo, un bloque aséptico TETRA PAK®) o una bolsa.

20 En algunas realizaciones, incluidas las preferidas para el producto de leche humana esterilizada 175 apto para el consumo a distancia por lactantes, en particular lactantes prematuros, el producto de leche humana esterilizada 175 está empaquetado asépticamente y cumple las normas de esterilización farmacéutica. Más concretamente, incluso si el producto de leche humana esterilizada 175 se expone al oxígeno (por ejemplo, si se abre el envase), el producto de leche humana esterilizada 175 sigue siendo estéril y seguro para el consumo, ya que los microbios patógenos se han erradicado suficientemente durante el proceso de esterilización. En otras realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 está empaquetado en ESL y, por lo tanto, puede seguir siendo seguro para el consumo durante largos períodos de tiempo después del empaque.

6.2.1.8. Normas de esterilización de dispositivos

25 En conjunto, cada uno de los dispositivos del sistema 100 está diseñado para cumplir ciertas normas.

Por ejemplo, en una realización, los clarificadores bacterianos 135A y 135B, el separador de leche 140, el concentrador 145, y el combinador de leche 150 cumplen cada uno con los estándares de ordenanza de leche pasteurizada (PMO) Grado "A". El esterilizador de leche 130 puede diseñarse para cumplir las normas PMO. En algunas realizaciones, el esterilizador de leche 130 está diseñado para cumplir con estándares aún más altos; es decir, el esterilizador de leche 130 puede estar diseñado para cumplir con estándares GMP o estándares de grado farmacéutico. Por ejemplo, para cumplir las normas GMP o de calidad farmacéutica, se emplean soldaduras higiénicas y se evitan los accesorios roscados en el esterilizador de leche 130. En diversas realizaciones, el sistema cerrado de esterilización en línea 100 es un sistema de limpieza in situ (CIP), lo que significa que no es necesario desmontar el sistema cerrado en línea 100 para limpiarlo.

35 6.2.2. Métodos de generación de producto de leche humana esterilizada

Se hace referencia ahora a la FIG. 4, que representa un diagrama de flujo para generar un producto de leche humana esterilizada 175, de acuerdo con una realización de la presente invención.

40 La leche materna humana cruda 110 se obtiene primero. En realizaciones típicas, por ejemplo, se reciben donaciones individuales de leche materna cruda (muestras) 405 de múltiples donantes humanas. Cada una de las donaciones de leche materna humana cruda se valida 410 para determinar si alguna donación no cumple las normas de control de calidad. Si una donación no cumple las normas de control de calidad, se descarta. Las muestras validadas se agrupan 415. Las muestras validadas agrupadas representan la leche materna humana cruda 110 que se proporciona como entrada en el sistema 100. En diversas realizaciones, el sistema es un sistema cerrado de esterilización en línea 100.

45 6.2.2.1. Métodos de generación de producto de leche humana esterilizada para el consumo a distancia de lactantes.

Para el producto de leche humana esterilizada destinado al consumo a distancia por lactantes, tal como lactantes prematuros, se prefiere (i) la máxima esterilidad y eliminación de patógenos, (ii) la estandarización y (iii) la retención de nutrientes.

50 En consecuencia, con referencia continua a la FIG. 4, en realizaciones preferidas el sistema 100 elimina 420 una porción (por ejemplo, hasta 90%) de patógenos de la leche materna humana cruda 110 a través de un proceso de clarificación. En diversas realizaciones, el proceso es un único proceso de clarificación bacteriana realizado por un único clarificador bacteriano 135 del sistema 100. En diversas realizaciones, el proceso es un proceso de clarificación bacteriana doble realizado por los clarificadores bacterianos 135 del sistema 100.

En las realizaciones típicas destinadas al consumo remoto de lactantes, como los prematuros, la leche clarificada 122 se introduce entonces en el estandarizador de leche 120.

Con referencia a la FIG. 1C, el estandarizador de leche 120 separa entonces la leche humana clarificada en una fracción de nata 155 y una fracción desnatada 160. En diversas realizaciones, este proceso de separación es realizado por el separador de leche 140 del sistema 100.

El sistema 100 genera además un retentado mediante la concentración de la fracción desnatada 160. En diversas realizaciones, el concentrador 145 del sistema 100 es un dispositivo de filtración de membrana que realiza un proceso de ósmosis inversa en la fracción desnatada 160 para generar el retentado. El sistema 100 manipula 435 un producto de leche humana estandarizada combinando una porción de la fracción de nata 155 con una porción del retentado. En diversas realizaciones, la combinación de porciones de la fracción de nata 155 y el retentado se lleva a cabo mediante el combinador de leche 150 del sistema 100. Para determinar las porciones de la fracción de nata 155 y el retentado que deben combinarse, el combinador de leche 150 detecta características o concentraciones de componentes en cada una de la fracción de nata 155 y el retentado. Por lo tanto, puede combinarse una relación de la fracción de nata 155 y el retentado para alcanzar una característica o concentración de componentes objetivo en el producto de leche humana estandarizada.

Para conservar el valor nutritivo, actualmente se prefiere omitir la homogeneización.

El sistema 100 esteriliza 440 el producto de leche humana estandarizada. En diversas realizaciones, el proceso de esterilización es un proceso de intercambio de calor contracorriente realizado por el esterilizador de leche 130 del sistema 100. Se hace referencia ahora a la FIG. 5, que representa un diagrama de flujo de esterilización del producto de leche, de acuerdo con una realización de la presente invención. En particular, el proceso de flujo de la FIG. 5 representa el paso de esterilización 440 de la FIG. 4 en mayor detalle.

El esterilizador de leche 130 del sistema 100 puede ser un dispositivo de grado farmacéutico. El esterilizador de leche 130 recibe 505 el producto de leche humana estandarizada que, en algunas realizaciones, no está homogeneizado. El esterilizador de leche 130 realiza la esterilización mediante un proceso de esterilización por intercambio de calor en contracorriente. A saber, el producto de leche humana estandarizada fluye 510 a través de un tubo del esterilizador de leche 130 en una primera dirección a una primera velocidad de flujo. En diversas realizaciones, el tubo tiene un diámetro entre 0.64 cm y 25.4 cm (0.25 a 10 pulgadas). El producto de leche humana estandarizada fluye a través del tubo a una velocidad de entre 0.0158 litros por segundo y 1.58 litros por segundo (entre 0.25 galones/min y 25 galones/min).

El esterilizador de leche 130 calienta 515 el producto de leche humana estandarizada que se encuentra dentro del tubo haciendo fluir un fluido calentador en una segunda dirección a un segundo caudal. El fluido calentador está en contacto con la superficie exterior del tubo. En diversas realizaciones, el fluido calentador es agua calentada y la segunda dirección en la que fluye el agua calentada es opuesta a la primera dirección en la que fluye el producto de leche humana estandarizada. Así, a medida que el producto de leche humana estandarizada fluye a través del tubo, el calor del agua calentada que fluye a través del segundo tubo puede transferirse fácilmente a través de la superficie del tubo para calentar el producto de leche humana estandarizada.

En diversas realizaciones, el esterilizador de leche 130 precalienta el producto de leche estandarizada y luego calienta aún más el producto de leche precalentado a una temperatura objetivo, manteniendo el producto de leche a la temperatura objetivo durante un período de tiempo. La temperatura objetivo puede estar entre 130°C y 150°C y el producto de leche humana estandarizada se mantiene a la temperatura objetivo durante 6-14 segundos. Este proceso se refina para eliminar aún más los patógenos que puedan residir en el producto de leche humana estandarizada, manteniendo al mismo tiempo los componentes y nutrientes del producto de leche humana estandarizada.

El esterilizador de leche 130 enfría 520 el producto de leche humana calentado a partir de la temperatura de calentamiento para obtener el producto de leche humana esterilizada 175. En diversas realizaciones, el producto de leche humana es enfriado a temperatura ambiente entre 15°C a 25°C. En otras realizaciones, el producto de leche humana se enfría a una temperatura de refrigeración entre 1°C y 8°C.

El producto de leche humana esterilizada 175 es proporcionado 525 por el esterilizador de leche 130. Por ejemplo, volviendo al proceso de flujo de la FIG. 4, el producto de leche humana esterilizada 175 se obtiene del esterilizador de leche 130 y se empaca 445. En diversas realizaciones, este puede ser un proceso de empacado aséptico para asegurar que el producto de leche humana esterilizada no se contamina antes de ser suministrado para la alimentación de un bebé. En tales realizaciones, el producto de leche humana esterilizada empacado asépticamente puede distribuirse sin refrigeración.

En ciertas realizaciones, el método comprende además fortificar el producto de leche estandarizada antes de la esterilización.

En determinadas realizaciones, el método comprende además fortificar el producto de leche estandarizada con calostro. En realizaciones típicas, el calostro es calostro bovino. En ciertas realizaciones, el calostro es calostro de oveja o de cabra. En ciertas realizaciones, el método comprende fortificar el producto de leche estandarizada con proteína o una composición proteica de alta utilización neta de nitrógeno (NNU), como se describe en solicitud provisional estadounidense No. 62/439,408, presentada el 27 de diciembre de 2016. En ciertas realizaciones, el método comprende fortificar el producto de leche estandarizada con anticuerpos, vitaminas, sales iónicas (por ejemplo, sodio, calcio, hierro, etc.), grasas, como colesterol, y/o carbohidratos, como oligosacáridos de leche humana.

6.2.2.2. Métodos de generación de producto de leche humana esterilizada para el consumo a distancia por adultos.

En ciertas realizaciones de métodos de generación de producto de leche humana esterilizada para consumo a distancia por adultos, el sistema 100 elimina 420 una porción (por ejemplo, hasta el 90%) de patógenos de la leche materna humana cruda 110 a través de un proceso de clarificación. En diversas realizaciones, el proceso es un proceso de clarificación bacteriana simple o doble realizado por uno o más clarificadores bacterianos 135 del sistema 100. Sin embargo, el producto de leche humana esterilizada destinado al consumo a distancia por adultos requiere una esterilidad menos estricta que el producto de leche humana esterilizada destinado al consumo a distancia por lactantes, y en particular por lactantes prematuros. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el método omite la clarificación bacteriana.

En algunas realizaciones destinadas al consumo a distancia por adultos, la leche materna humana, con o sin clarificación previa, se introduce en el estandarizador de leche 120 y se estandariza como se ha descrito anteriormente con respecto al producto de leche humana esterilizada destinado al consumo a distancia por lactantes. Sin embargo, el producto de leche humana esterilizada destinado al consumo a distancia por adultos requiere una estandarización menos estricta que el producto de leche humana esterilizada destinado al consumo a distancia por lactantes, y en particular por lactantes prematuros. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el método omite la estandarización.

Los productos lácteos humanos esterilizados destinados al consumo a distancia por adultos pueden fortificarse de forma útil. En diversas realizaciones, por lo tanto, el método comprende fortificar la leche antes de la esterilización por el esterilizador de leche 130.

En determinadas realizaciones, el método comprende además fortificar el producto de leche con calostro. En realizaciones típicas, el calostro es calostro bovino. En ciertas realizaciones, el calostro es de oveja o de cabra.

En ciertas realizaciones, el método comprende fortificar el producto de leche con proteínas. En determinadas realizaciones, el método comprende fortificar el producto de leche con una composición proteica de alta utilización neta de nitrógeno (NNU), como se describe en solicitud provisional U.S. No. 62/439,408, presentada el 27 de diciembre de 2016. En los métodos aquí descritos, la composición proteica de alta utilización neta de nitrógeno (NNU) comprende aminoácidos libres, es decir, aminoácidos que no están unidos por enlace peptídico a ningún otro aminoácido.

En las realizaciones típicas de fortificación con NNU, al menos el 95% en peso de los aminoácidos en la composición alta en NNU son aminoácidos libres. En ciertas realizaciones, al menos el 96%, 97%, 98%, incluso al menos el 99% de los aminoácidos en la composición alta en NNU son aminoácidos libres. En ciertas realizaciones, menos del 5% en peso de los aminoácidos en la composición de alto NNU están incorporados en péptidos. En ciertas realizaciones, menos del 4%, 3%, 2%, incluso menos del 1% en peso de los aminoácidos están incorporados en péptidos. En determinadas realizaciones, la composición no contiene péptidos detectables.

En realizaciones típicas, la composición alta en NNU comprende isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina, cada una como el isómero-L. En algunas realizaciones, la composición con alto contenido en NNU contiene además L-histidina. En algunas realizaciones, la composición alta en NNU comprende además uno o más aminoácidos no esenciales.

En realizaciones típicas, los aminoácidos están presentes en las relaciones descritas en la patente U.S. No. 5,132,113. En algunas de estas realizaciones, los aminoácidos están presentes en las siguientes proporciones, en gramos por 10 gramos de composición:

(a) de 1.217 a 1.647 isoleucina;

(b) de 1.827 a 2.735 leucina;

(c) de 1.260 a 2.359 lisina;

(d) de 0.232 a 0.778 metionina;

(e) de 0.843 a 1.314 fenilalanina;

(f) de 0.970 a 1.287 treonina;

(g) de 0.208 a 0.467 triptófano; y

(h) de 1.260 a 1.900 valina.

- 5 En ciertas realizaciones, los aminoácidos están presentes en las proporciones establecidas en una de las ocho composiciones (I-VIII) de la Tabla 1, en gramos por 10 gramos de composición:

Tabla 1. Composiciones proteicas ejemplares con alto contenido en NNU								
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Isoleucina	1.438	1.482	1.310	1.341	1.381	1.311	1.443	1.484
leucina	2.287	1.963	2.053	1.922	1.891	1.951	2.226	1.832

Tabla 1. Composiciones proteicas ejemplares con alto contenido en NNU								
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
lisina	1.650	1.428	2.189	2.144	2.297	2.266	1.760	2.064
metionina	0.293	0.699	0.621	0.651	0.682	0.752	0.556	0.580
fenilalanina	0.943	1.288	1.029	1.027	1.029	0.959	1.100	1.067
treonina	1.226	1.111	1.107	1.211	1.113	1.119	1.041	1.136
triptófano	0.448	0.368	0.293	0.338	0.318	0.256	0.317	0.371
valina	1.721	1.656	1.390	1.358	1.284	1.376	1.553	1.461

10

En realizaciones típicas, la composición con alto contenido en NNU se añade en una cantidad suficiente para garantizar una concentración de proteínas de la composición procesada final (F=6.38) de al menos 1.0 g/100 g (1.0 % en peso), 1.1 % en peso, 1.2 % en peso, 1.3 % en peso, o al menos 1.4 % en peso. En determinadas realizaciones, la composición con alto contenido en NNU se añade en una cantidad suficiente para garantizar una concentración de proteínas en la composición final procesada de al menos 1.30 % en peso, 1.31 % en peso, 1.32 % en peso, 1.33 % en peso, 1.34 % en peso, 1.35 % en peso, 1.36 % en peso, 1.37 % en peso, 1.38 % en peso, 1.39 % en peso o al menos 1.40 % en peso.

15

En algunas realizaciones, la composición con alto contenido en NNU se añade en una cantidad suficiente para garantizar una concentración de proteínas de la composición procesada final superior al 1.4% en peso. En algunas de estas realizaciones con alto contenido en proteínas, la composición con alto contenido en NNU se añade en una cantidad suficiente para garantizar una concentración de proteínas de la composición procesada final superior al 1.40 % en peso, 1.41 % en peso, 1.42 % en peso, 1.43 % en peso, 1.44 % en peso, 1.45 % en peso, 1.46 % en peso, 1.47 % en peso, 1.48 % en peso, 1.49 % en peso, incluso superior al 1.50 % en peso. En algunas de estas realizaciones con alto contenido en proteínas, la composición con alto contenido en NNU se añade en una cantidad suficiente para garantizar una concentración de proteínas en la composición final procesada superior al 1.6 % en peso, 1.7 % en peso, 1.8 % en peso, 1.9 % en peso, o incluso superior al 2.0 % en peso.

20

25

En diversas realizaciones, la composición con alto contenido en NNU se añade en una cantidad que proporciona al menos el 5% del contenido proteico de la composición final procesada. En ciertas realizaciones, la composición alta en NNU se añade en una cantidad que proporciona al menos 6%, 7%, 8%, 9%, o al menos 10% del contenido proteico de la composición procesada final. En determinadas realizaciones, la composición con alto contenido en NNU se añade en una cantidad que proporciona al menos el 15%, 20%, incluso al menos el 25% del contenido proteico de la composición final procesada. En determinadas realizaciones, la composición con alto contenido en NNU se añade en una cantidad que proporciona al menos el 30%, 35%, 40%, 45% o incluso al menos el 50% del contenido proteico de la composición final procesada.

30

35

En diversas realizaciones, la composición con alto contenido en NNU se añade en una cantidad que no proporciona más del 50% del contenido proteico de la composición final procesada. En determinadas

realizaciones, la composición con alto contenido en NNU se añade en una cantidad que no supera el 45%, 40%, 35%, 30% o 25% del contenido en proteínas de la composición final procesada.

5 En una variedad de realizaciones, la composición con alto contenido en NNU se añade en una cantidad que proporciona más del 50% del contenido proteico del producto de leche final. Estas últimas realizaciones pueden utilizarse solas o, en algunas realizaciones, se mezclarán con leche no fortificada antes de su administración. En algunas de estas realizaciones, la composición con alto contenido en NNU se añade en una cantidad que proporciona al menos el 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% o incluso al menos el 80%, 85%, 90% o 95% del producto de leche final.

10 En algunas realizaciones, el producto de leche está fortificado con aromatizantes. En algunas realizaciones, el producto de leche está fortificado con colorantes naturales.

En algunas realizaciones, el producto de leche está fortificado con vitaminas. En determinadas realizaciones, el producto de leche está fortificado con vitamina C. En determinadas realizaciones, el producto de leche está fortificado con vitamina D.

15 En algunas realizaciones, el producto de leche está fortificado con minerales. En determinadas realizaciones, el producto de leche está fortificado con calcio. En ciertas realizaciones, el producto de leche está fortificado con magnesio.

20 En algunas realizaciones, el producto de leche puede ser desaireado para eliminar los gases del producto de leche. En diversas realizaciones, por lo tanto, el método comprende desgasificar el producto de leche antes de la esterilización por el esterilizador 130 de leche. En algunas realizaciones, el método comprende desgasificar el producto de leche después de fortificar el producto de leche.

En diversas realizaciones de métodos de producción de productos lácteos humanos esterilizados destinados al consumo a distancia por adultos, se omite la homogeneización. En otras realizaciones, el producto de leche se homogeneiza. En ciertas realizaciones, el producto de leche se homogeneiza antes de la esterilización. En otras, el producto de leche se homogeneiza después de la esterilización.

25 6.3. Composiciones del producto de leche humana esterilizada preparado según el método reivindicado

30 En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene 167.36-334.72 J (40-80 calorías)/100 mL, 209.20-292.88 J (50-70 calorías)/100 mL, o 251.04-292.88 J (60-70 calorías)/100 mL. En algunas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene 251.04 J (60 calorías), 255.22 J (61 calorías), 259.41 J (62 calorías), 263.59 J (63 calorías), 267.78 J (64 calorías), 271.96 J (65 calorías), 276.14 J (66 calorías), 280.33 J (67 calorías), 284.51 J (68 calorías), 288.70 J (69 calorías), o 292.88 J (70 calorías)/100 mL. En determinadas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene entre 263.59 J y 280.33 J (63.0 y 67.0 calorías)/100 mL. En ciertas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene 271.96 - 276.14 J (65.0 - 66.0 calorías)/100 mL.

35 En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene 100.42-167.36 J (24-40 calorías) de grasa por 100 mililitros (mL). En algunas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene 100.42-117.15 J (24-28 calorías) de grasa/100 mL, 117.15-133.89 J (28-32 calorías) de grasa/100 mL, 133.89-150.62 J (32-36 calorías) de grasa/100 mL, o 150.62-167.36 J (36-40 calorías) de grasa/100 mL. En algunas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene 117.15-150.62 J (28-36 calorías) de grasa/100 mL. En algunas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene 117.15 J (28 calorías) de grasa/100 mL, 121.34 J (29 calorías) de grasa/100 mL, 125.52 J (30 calorías) de grasa/100 mL, 129.70 J (31 calorías) de grasa/100 mL, 133.89 J (32 calorías) de grasa/100 mL, 138.07 J (33 calorías) de grasa/100 mL, 142.26 J (34 calorías) de grasa/100 mL, 146.44 J (35 calorías) de grasa/100 mL o 150.62 J (36 calorías) de grasa/100 mL.

45 En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene un contenido total de grasa de al menos 3.0 g/100 mL (3 % en peso), 3.1 % en peso, 3.2 % en peso, 3.3 % en peso, 3.4 % en peso, 3.5 % en peso, 3.6 % en peso, 3.7 % en peso, 3.8 % en peso, 3.9 % en peso o 4.0 % en peso. En algunas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene un contenido total de grasa superior al 4.0 % en peso.

50 En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 incluye 1.2 miligramos (mg), 1.3 mg, 1.4 mg, 1.5 mg, 1.6 mg, 1.7 mg, o 1.8 mg de grasa saturada por 100 mL del producto de leche humana esterilizada 175. En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 incluye 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg o 16 mg de colesterol por 100 mL del producto de leche humana esterilizada 175. En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 incluye 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg, 16 mg, 17 mg, 18 mg, 19 mg o 20 mg de sodio por 100 mL del producto de leche humana esterilizada 175. En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 incluye 4 g, 5 g, 6 g, 7 g, 8 g, 9 g, o 10 g de carbohidratos por 100 mL del producto de leche humana esterilizada 175. En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 incluye 4 g, 5 g, 6 g o 7 g de azúcar por 100 mL del producto de leche humana esterilizada 175. En diversas realizaciones, el producto de leche humana

esterilizada 175 incluye 1.2 g, 1.3 g, 1.4 g, 1.5 g o 1.6 g de proteínas por 100 mL del producto de leche humana esterilizada 175. En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 incluye 160 unidades internacionales (IU), 170 IU, 180 IU, 190 IU, o 200 IU de vitamina A por 100 mL del producto de leche humana esterilizada 175. En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 incluye 27 mg, 28 mg, 29 mg, 30 mg, 31 mg, 32 mg, 33 mg, 34 mg, o 35 mg por 100 mL del producto de leche humana esterilizada 175.

En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene una cantidad reducida de *Clostridium Botulinum* (*C. Botulinum*) en comparación con la cantidad de *C. Botulinum* en la leche materna humana cruda 110 obtenida de uno o más donantes humanos. En algunas realizaciones, la reducción de *C. Botulinum* está entre una reducción de 12-50 log, una reducción de 20-45 log, o una reducción de 30-42 log. En algunas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene una reducción de 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41 o 42 log de los niveles de *C. Botulinum* en comparación con los niveles de *C. Botulinum* en la leche materna humana cruda 110.

En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene una cantidad reducida de *B. Cereus* en comparación con la cantidad de *B. Cereus* en la leche materna humana cruda 110 obtenida de uno o más donantes humanos. En diversas realizaciones, la reducción de *B. Cereus* es superior a una reducción logarítmica de 1000 de los niveles de *B. Cereus* en comparación con los niveles de *B. Cereus* en la leche materna humana cruda 110.

En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene un recuento bacteriano en placa aeróbico inferior a 10 unidades formadoras de colonias (CFUs) por gramo del producto de leche humana esterilizada 175. En algunas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 tiene un recuento de levaduras y mohos inferior a 10 CFUs por gramo del producto de leche humana esterilizada 175.

En diversas realizaciones, el producto de leche humana esterilizada 175 retiene por encima de un cierto porcentaje de componentes en comparación con la leche materna humana cruda 110. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de inmunoglobulina A (IgA) es superior al 73%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de inmunoglobulina M (IgM) es superior al 74%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de la inmunoglobulina G (IgG) es superior al 93%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de antitripsina es superior al 55%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de lactoferrina es superior al 74%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de lisozima es superior al 64%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de la lactoalbúmina es superior al 65%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de alfa caseína es superior al 86%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de Beta Caseína es superior al 89%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de Caseína Kappa es superior al 81%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de osteopontina es superior al 80%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de HMOs totales es superior al 79%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de HMOs fucosilados es superior al 90%. Además, en algunas realizaciones, el porcentaje de retención de 2'-fucosilactosa es superior al 90%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de 3'-fucosilactosa es superior al 90%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de HMOs sialilados es superior al 90%. En algunas realizaciones, el porcentaje de retención de HMOs no fucosilados es superior al 89%.

Con respecto a las concentraciones absolutas de los componentes en el producto de leche humana esterilizada 175, en algunas realizaciones, la concentración de lactoferrina en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 0.81 g/L y 13.28 g/L. En otras realizaciones, la concentración de lactoferrina en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 1 g/L y 12 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de lactoferrina en el producto de leche humana esterilizada 175 es de 2 g/L, 3 g/L, 4 g/L, 5 g/L, 6 g/L, 7 g/L, 8 g/L, 9 g/L, 10 g/L u 11 g/L.

En algunas realizaciones, la concentración de lisozima en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 0.012 g/L y 0.105 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de lisozima en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 0.015 g/L y 0.105 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de lisozima en el producto de leche humana esterilizada 175 es de 0.021 g/L, 0.022 g/L, 0.023 g/L, 0.024 g/L, 0.025 g/L, 0.026 g/L, 0.027 g/L, 0.028 g/L, 0.029 g/L, 0.030 g/L, 0.031 g/L, 0.032 g/L, 0.033 g/L, 0.034 g/L, 0.035 g/L, 0.036 g/L, 0.037 g/L, 0.038 g/L, 0.039 g/L, 0.040 g/L, 0.041 g/L, 0.042 g/L, 0.043 g/L, 0.044 g/L, 0.045 g/L, 0.046 g/L, 0.047 g/L, 0.048 g/L, 0.049 g/L, 0.050 g/L, 0.051 g/L, 0.052 g/L, 0.053 g/L, 0.054 g/L, 0.055 g/L, 0.056 g/L, 0.057 g/L, 0.058 g/L, 0.059 g/L, 0.060 g/L, 0.061 g/L, 0.062 g/L, 0.063 g/L, 0.064 g/L, 0.065 g/L, 0.066 g/L, 0.067 g/L, 0.068 g/L, 0.069 g/L, 0.070 g/L, 0.071 g/L, 0.072 g/L, 0.073 g/L, 0.074 g/L, 0.075 g/L, 0.076 g/L, 0.077 g/L, 0.078 g/L, 0.079 g/L, 0.080 g/L, 0.081 g/L, 0.082 g/L, 0.083 g/L, 0.084 g/L, 0.085 g/L, 0.086 g/L, 0.087 g/L, 0.088 g/L, 0.089 g/L, 0.090 g/L, 0.091 g/L, 0.092 g/L, 0.093 g/L, 0.094 g/L, 0.095 g/L, 0.096 g/L, 0.097 g/L, 0.098 g/L, 0.099 g/L, 0.100 g/L, 0.101 g/L, 0.102 g/L, 0.103 g/L, 0.104 g/L, o 0.105 g/L.

En algunas realizaciones, la concentración de lactoalbúmina en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 1.87 g/L a 2.68 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de lactoalbúmina en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 2.0 g/L y 2.6 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de

lactoalbúmina en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 2.2 g/L a 2.4 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de lactoalbúmina en el producto de leche humana esterilizada 175 es de 2.21 g/L, 2.22 g/L, 2.23 g/L, 2.24 g/L, 2.25 g/L, 2.26 g/L, 2.27 g/L, 2.28 g/L, 2.29 g/L, 2.30 g/L, 2.31 g/L, 2.32 g/L, 2.33 g/L, 2.34 g/L, 2.35 g/L, 2.36 g/L, 2.37 g/L, 2.38 g/L, o 2.39 g/L.

5 En algunas realizaciones, la concentración de antitripsina en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 0.057 g/L y 0.40 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de antitripsina en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 0.10 g/L y 0.30 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de antitripsina en el producto de leche humana esterilizada 175 es de 0.11 g/L, 0.12 g/L, 0.13 g/L, 0.14 g/L, 0.15 g/L, 0.16 g/L, 0.17 g/L, 0.18 g/L, 0.19 g/L, 0.20 g/L, 0.21 g/L, 0.22 g/L, 0.23 g/L, 0.214 g/L, 0.25 g/L, 0.26 g/L, 10 0.27 g/L, 0.28 g/L, o 0.29 g/L.

En algunas realizaciones, la concentración de HMOs en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 8.8 g/L a 20.0 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de HMOs en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 10 g/L a 18 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de HMOs en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 14 g/L a 16 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de HMOs en el producto de leche humana esterilizada 175 es de 10 g/L, 11 g/L, 12 g/L, 13 g/L, 14 g/L, 15 g/L, 16 g/L, 17 g/L, o 18 g/L.

En algunas realizaciones, la concentración de HMOs fucosilados en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 5.46 g/L y 5.6 g/mL. En algunas realizaciones, la concentración de HMOs fucosilados en el producto de leche humana esterilizada 175 es de 5.47 g/L, 5.48 g/L, 5.49 g/L, 5.50 g/L, 5.51 g/L, 5.52 g/L, 5.53 g/L, 5.54 g/L, 5.55 g/L, 5.56 g/L, 5.57 g/L, 5.58 g/L, o 5.59 g/L.

En algunas realizaciones, la concentración de 2'-fucosilactosa en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 0.72 g/L y 4.3 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de 2'-fucosilactosa en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 1 g/L y 4 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de 2'-fucosilactosa en el producto de leche humana esterilizada 175 es de 1.1 g/L, 1.2 g/L, 1.3 g/L, 1.4 g/L, 1.5 g/L, 1.6 g/L, 1.7 g/L, 1.8 g/L, 1.9 g/L, 2.0 g/L, 2.1 g/L, 2.2 g/L, 2.3 g/L, 2.4 g/L, 2.5 g/L, 2.6 g/L, 2.7 g/L, 2.8 g/L, 2.9 g/L, 3.0 g/L, 3.1 g/L, 3.2 g/L, 3.3 g/L, 3.4 g/L, 3.5 g/L, 3.6 g/L, 3.7 g/L, 3.8 g/L, 3.9 g/L, o 4.0 g/L.

En algunas realizaciones, la concentración de 3'-fucosilactosa en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 0.92 g/L y 0.93 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de HMOs sialilados en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 1.08 g/L y 1.11 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de HMOs sialilados en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 1.09 g/L y 1.10 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de HMOs no fucosilados en el producto de leche humana esterilizada 175 está entre 2.46 y 2.56 g/L. En algunas realizaciones, la concentración de HMOs no fucosilados en el producto de leche humana esterilizada 175 es de 2.47 g/L, 2.48 g/L, 2.49 g/L, 2.50 g/L, 2.51 g/L, 2.52 g/L, 2.53 g/L, o 2.54 g/L.

7. EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se exponen para proporcionar a aquellos con experiencia normal en la técnica una divulgación y descripción completa de cómo realizar y utilizar la invención en cuestión, y no pretenden limitar el alcance de lo que se considera la invención. Se ha procurado garantizar la exactitud de las cifras utilizadas (por ejemplo, cantidades, temperatura, concentraciones, etc.), pero deben tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio, la temperatura es en grados centígrados y la presión es atmosférica o cercana a la atmosférica.

7.1. Ejemplo 1: Esterilización a ultra alta temperatura a escala piloto de leche humana

Se realizaron catorce ejecuciones de esterilización diferentes en leche humana obtenida de donantes humanos utilizando una unidad híbrida eléctrica de alta viscosidad Ultra-High Temperature Lab-25 (MicroThermics®, Raleigh, NC) para determinar si la esterilización a ultra alta temperatura podía aplicarse a la leche humana para lograr altos niveles de esterilización con preservación simultánea de los componentes deseados de la leche humana.

La leche humana fue validada y agrupada antes de la esterilización.

La leche humana se calentó a una temperatura objetivo mientras se sometía a un intercambio de calor en contracorriente y se mantuvo a la temperatura objetivo durante un tiempo.

La FIG. 6A representa los parámetros (por ejemplo, temperatura y tiempo de permanencia) de varias ejecuciones de esterilización. Generalmente, los tiempos de retención, recitados en términos de tiempo de residencia de elementos fluidos (FERT), variaron de 6.6 segundos a 12.6 segundos con un rango de temperatura de 135°C a 145°C. El FERT se refiere al tiempo de residencia de los elementos (por ejemplo, la leche) que fluyen a través del centro del tubo de retención. Se mantuvo constante un caudal de 0.0158 litros

por segundo (0.25 galones/min) del producto de leche humana en todas las ejecuciones. Además, en la FIG. 6A se muestra la reducción logarítmica de *C. Botulinum* y *B. Cereus* para cada ejecución. En general, los datos confirman entre 12 y 50 log de reducción del contenido de *C. Botulinum* y más de 1.000 log de reducción de *B. Cereus*. Esto cumple y supera la reducción logarítmica estándar de 12 (concepto de 12 D) para la esterilización de un alimento determinado.

Cabe destacar que una muestra adicional de leche humana se sometió a esterilización a temperatura ultra alta utilizando los parámetros de procesamiento mostrados para la Ejecución 8 (por ejemplo, tiempo de mantenimiento = 8.1 segundos, temperatura = 286°F/141.1°C). Tras la esterilización, el producto adicional de leche humana esterilizada también mostró una reducción de más de 1000 log de *B. Cereus*.

Ahora se hace referencia a la FIG. 6B, que muestra datos nutricionales comparativos de una muestra de leche humana cruda y un producto de leche humana esterilizada de la Ejecución 11, que incluyó un tiempo de retención de 8.1 segundos y una temperatura objetivo de 144.1°C. Como se muestra en la FIG. 6B, para una muestra de 100 g, se observaron diferencias mínimas en los componentes y propiedades nutricionales vitales - incluyendo calorías totales, grasa total, colesterol, sodio, carbohidratos, proteínas, vitamina A, vitamina C, calcio, hierro, aminoácidos, vitaminas - en comparación con la leche humana cruda. A saber, la mayoría de los componentes (excepto el sodio) y propiedades del producto de leche humana esterilizada presentaban una diferencia del 6 por ciento o menos en comparación con los componentes y características de la muestra de leche humana cruda.

El producto de leche humana esterilizada adicional que se sometió a esterilización a temperatura ultra alta utilizando los parámetros de procesamiento de la Ejecución 8 (por ejemplo, tiempo de mantenimiento = 8.1 segundos, temperatura = 286°F/141.1°C) se analizó adicionalmente para determinar la calidad de la proteína utilizando el método estandarizado de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (por ejemplo, Documento de la FAO 51 (1991)). La puntuación de aminoácidos corregida por digestibilidad de la proteína (PDCAAS) de este producto de leche humana esterilizada fue de 73.3 (p/p %).

Se hace referencia ahora a la FIG. 6C, que muestra concentraciones comparativas y abundancia de componentes medidos por espectrometría de masas en un primer lote de leche materna humana cruda en comparación con el producto de leche humana esterilizada para dos de las ejecuciones experimentales: Ejecución 4 y Ejecución 11. Cada uno de los productos de leche humana esterilizada obtenidos en las Ejecuciones 4 y 11 procedía del primer lote de leche materna humana cruda. Los componentes cuantificados por espectrometría de masas incluyen inmunoglobulinas (IgA, IgM e IgG), proteínas (antitripsina, lactoferrina, lisozima, lactoalbúmina, caseína alfa, caseína beta, caseína kappa y osteopontina) y oligosacáridos de leche humana (HMOs). En la FIG. 6C se muestra el porcentaje de retención de cada uno de los componentes en el producto estandarizado de leche humana para cada ejecución de esterilización respectivo.

Específicamente, el proceso de esterilización de la Ejecución 4 resultó en porcentajes de retención de la mayoría de los componentes que están por encima del 80%, aparte de IgM (78% de retención) y Anti-Tripsina (68% de retención). Es importante destacar que la FIG. 6C incluye la concentración y los números de retención de HMOs totales, un componente de la leche humana que a menudo se pasa por alto en los productos de leche humana esterilizada. Aquí, el producto de leche humana esterilizada generado mediante el proceso de esterilización de la Ejecución 4 retiene el 92% de los HMOs totales. El proceso de esterilización de la Ejecución 11 retuvo el 93% del total de HMOs.

Se hace referencia ahora a la FIG. 6D, que muestra además concentraciones comparativas y abundancia de componentes medidos por espectrometría de masas en productos lácteos humanos esterilizados en comparación con un segundo lote de leche cruda. Específicamente, la FIG. 6D muestra productos lácteos esterilizados obtenidos como resultado de la Ejecución 7 y Ejecución 14, como se muestra en la FIG. 6A. Cada uno de los productos de leche humana esterilizada obtenidos en las Ejecuciones 7 y 14 se derivó del segundo lote de leche materna humana cruda. Aquí, los componentes medidos de los productos lácteos esterilizados incluyen inmunoglobulinas (IgA, IgM e IgG), proteínas (antitripsina, lactoferrina, lisozima, lactoalbúmina, caseína alfa, caseína beta, caseína kappa y osteopontina) y oligosacáridos de leche humana (HMOs). Además, se caracterizó la abundancia de elementos individuales de los HMOs, entre los que se encontraban los HMOs fucosilados, los HMOs sialilados y los HMOs no fucosilados. Además, se cuantificó la abundancia de elementos individuales de los HMOs fucosilados, incluyendo la 2'-fucosilactosa (2-FL) y la 3'-fucosilactosa (3-FL). Dado que la 2-FL y la 3-FL han sido implicadas en la protección contra enfermedades infecciosas y en la reducción de la inflamación, la retención de 2-FL y 3-FL a través del proceso de esterilización es de interés.

En este caso, los procesos de esterilización de la Ejecución 7 y Ejecución 14 dieron como resultado porcentajes de retención de componentes superiores al 80%, y la mayoría de los componentes experimentaron porcentajes de retención superiores al 90%. Se observa que los porcentajes de retención de algunos componentes superan el 100%, aunque estos resultados pueden ser consecuencia de un error de medición. Cabe destacar que el porcentaje de retención del total de HMOs tanto en la Ejecución 7 como en la Ejecución 14 fue cercano al 100%. Del mismo modo, los porcentajes de retención de 2-FL y 3-FL en la Ejecución 7 y Ejecución 14 también se aproximaron al 100%. Esto demuestra que el proceso de esterilización no daña los HMOs y, por tanto, puede

garantizar la biodisponibilidad de HMOs importantes, como 2-FL y 3-FL, que pueden tener un efecto terapéutico cuando se consumen.

Como se muestra tanto en la FIG. 6C como en la FIG. 6D, el proceso de esterilización logra altos porcentajes de retención de componentes en el producto de leche humana esterilizada. Dado que las FIG. 6C y 6D indican cada una un porcentaje de retención para cada componente, la concentración absoluta de cada componente en el producto de leche humana esterilizada dependerá de la concentración de cada componente en la leche materna humana cruda cuando se obtiene de una donante. Como se muestra en el primer y segundo lote de muestras de leche humana cruda (por ejemplo, FIG. 6C y 6D) y confirmado por la literatura previa, las concentraciones de varios componentes (por ejemplo, los componentes representados en las FIG. 6C y 6D) en la leche materna humana cruda varían ampliamente. Por ejemplo, la bibliografía anterior ha demostrado que los niveles de lactoferrina en la leche materna difieren en función del tiempo transcurrido después del parto (por ejemplo, 1 día, 14 semanas y 6 meses). Véase Shashiraj, F. M. et al., *European Journal of Clinical Nutrition* 60:903-908 (2006). Además, los niveles de componentes en la leche materna difieren en función de si el parto fue prematuro o a término. Véase Mehta, R. et al., *Journal of Perinatology* 31:58-62 (2011).

Específicamente, se ha demostrado que la concentración de lactoferrina en la leche materna humana cruda varía hasta 14.92 g/L. Véase Turn, C.G. et al., *Journal of Perinatology* 37(5):507-512 (2017). Además, se ha demostrado que la concentración de lactoferrina en la leche materna humana cruda es tan baja como 1 g/L. Véase Montagne, P. et al., *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 501, Springer, Boston, MA. Por lo tanto, dada la retención de 81% lograda en la Ejecución 11 (como se muestra en la FIG. 6C) del proceso de esterilización, la concentración de lactoferrina en un producto de leche esterilizada puede variar de 0.81 g/L hasta 13.28 g/L. Además, la concentración de lisozima en la leche materna humana cruda puede ser de 0.015 g/L. Véase Hsu, Y. et al., *Pediatrics and Neonatology* 55:449-454 (2014). Por lo tanto, dada la retención del 91% lograda en la Ejecución 7 del proceso de esterilización, la concentración de lisozima en un producto de leche esterilizada puede oscilar entre 0.012 g/L y 0.105 g/L (Ejecución 7 de la FIG. 6D). Adicionalmente, la concentración de lactoalbúmina en la leche materna humana cruda puede variar de 2.28 g/L hasta 3.27 g/L. Véase Affolter, M. et al., *Nutrients* 8(8):504 (2016). Por lo tanto, dada la retención del 82% lograda en la Ejecución 4 del proceso de esterilización, la concentración de lactoalbúmina en un producto de leche esterilizada puede oscilar entre 1.87 g/L y 2.68 g/L. Además, la concentración de antitripsina en la leche materna humana cruda puede oscilar entre 0.1 g/L y 0.4 g/L. Véase Chowanadisai, W. et al., *Am. J. Clin. Nutr.* 76(4):828-833 (2002). Por lo tanto, dada la retención cercana al 100% de la antitripsina lograda en la Ejecución 7 y Ejecución 11, la concentración de antitripsina en un producto de leche esterilizada puede oscilar entre 0.057 (Ejecución 7) hasta 0.4 g/L.

Además, la concentración de oligosacáridos en la leche materna humana puede variar hasta 20 g/L. Véase Gabrielli, O. et al., *Pediatrics*, 128(6):e1520-31 (2011). La FIG. 6C representa una muestra de leche cruda con 12 g/L de oligosacáridos de leche humana mientras que la FIG. 6D representa una muestra de leche cruda con 8.8 g/L de oligosacáridos de leche humana. Por lo tanto, la concentración de HMOs en un producto de leche esterilizada puede variar desde 8.8 g/L (véase Ejecución 14) hasta 20 g/L, dada la retención cercana al 100% observada en la Ejecución 7 y 14. Además, la concentración de 2'fucosilactosa en la leche materna humana puede variar de 1.1 a 4.3 g/L. Véase Puccio, J. *Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 64(4): 624-631 (2017). Por lo tanto, dada la retención cercana al 100 % lograda en la Ejecución 7 y Ejecución 14, la concentración de 2'fucosilactosa en un producto de leche esterilizada puede oscilar entre 0.72 g/L (Ejecución 7) hasta 4.3 g/L.

La FIG. 6E muestra el contenido cuantificado de bacterias, mohos y levaduras en la leche humana cruda y en el producto de leche humana esterilizada. Aquí, el producto de leche humana esterilizada corresponde a la Ejecución 4 del proceso de esterilización descrito anteriormente. La leche humana cruda corresponde a la misma muestra antes de la esterilización. Se realizó un recuento en placa aeróbico estándar de cada muestra para determinar el nivel de microorganismos en la muestra. Se colocaron diluciones seriadas de cada muestra en una placa de Petri de agar y se incubaron (48 horas a 37°C) para permitir la formación de colonias de microorganismos. Se visualizaron y cuantificaron las unidades formadoras de colonias (CFUs) de cada dilución seriada para determinar el recuento de placas aerobias de cada muestra de placa de Petri. Específicamente, el producto de leche humana esterilizada demostró recuentos bacterianos significativamente más bajos (< 10 CFUs por gramo) en comparación con la leche humana cruda (>250,000 CFUs por gramo).

Los sistemas y métodos aquí descritos proporcionan un producto de leche humana esterilizada con una baja carga biológica de *B. Cereus* y *C. Botulinum*. Por lo tanto, el producto de leche humana esterilizada es seguro para el consumo de bebés prematuros. Además, el producto de leche humana esterilizada conserva niveles de componentes nutricionales comparables a los de la composición de leche humana cruda. Como tal, el producto de leche humana esterilizada es adecuado para el consumo de bebés prematuros.

7.2. Ejemplo 2: Esterilización a ultra alta temperatura a escala piloto de leche humana fortificada

La leche humana se obtuvo de donantes humanos, se validó y se mezcló. La leche humana agrupada se dividió en trece lotes y cada lote se fortificó con uno o más suplementos. Los suplementos incluyen aminoácidos, calostro bovino, vitamina llana, vitamina C, vitamina D, bisglicinato de magnesio, glicinato de magnesio, lactato

de calcio, L-teanina, estevia, lactoenzimática, vitamina cereza, aminoácidos aromatizados y metilsulfonilmetano. Se hace referencia a las FIG. 7A y 7B, que presentan la formulación de cada muestra de leche fortificada. Específicamente, las FIG. 7A y 7B presentan la cantidad de cada suplemento, en gramos, que se añadió a cada litro de leche humana para obtener cada muestra de leche fortificada.

- 5 Cada muestra de leche fortificada se sometió a esterilización a temperatura ultra alta utilizando una unidad híbrida eléctrica de alta viscosidad Ultra-High Temperature Lab-25 (MicroThermics®, Raleigh, NC). Se hace referencia a la FIG. 7C, que presenta los parámetros de procesamiento utilizados para esterilizar cada muestra de leche fortificada. Específicamente, cada muestra de leche humana fortificada se calentó a una temperatura objetivo de 286 °F/141.1 °C mientras se sometía a un intercambio de calor en contracorriente y se mantuvo a la temperatura objetivo durante 8.1 segundos. En todas las ejecuciones se mantuvo constante un caudal de 0.0158 litros por segundo (0.25 galones/min) de cada producto de leche humana fortificada.

Además, en la FIG. 7C se muestra la reducción logarítmica de *B. Cereus* para cada ejecución. Para cada muestra de leche fortificada esterilizada, se observó una reducción logarítmica superior a 1000 de *B. Cereus* en comparación con la muestra homóloga de leche fortificada cruda correspondiente.

15 7.3. Ejemplo 3: Esterilización a ultra alta temperatura de leche humana a escala comercial

Se llevó a cabo la esterilización a temperatura ultra alta de un lote de leche humana a escala comercial. Un total de 50,000 onzas líquidas (~1480 litros) de leche humana de varios donantes humanos fueron validados y agrupados antes de la esterilización. Los 1480 L (50,000 onzas líquidas) agrupados de leche humana se esterilizaron utilizando el Tetra Therm® Aseptic Flex para proporcionar un tratamiento a temperatura ultra alta en la Planta Piloto de Tetra Pak (Denton, TX), que es una instalación de producción de alimentos registrada por la FDA.

- 20 Los 1480 L (50,000 onzas líquidas) de leche humana se calentaron a una temperatura objetivo de 289.4°F/143°C mientras se sometía a un intercambio de calor contracorriente y se mantuvo a la temperatura objetivo durante 10.3 segundos. La leche humana se hizo fluir a través del sistema de esterilización a un caudal de 0.5 litros por segundo (8 galones/min). Tras la esterilización de la leche humana, el producto de leche esterilizada se sometió a una homogeneización en línea a 1800-2500 psi. A continuación, el producto de leche esterilizada homogeneizado se embotelló asépticamente en botellas de 3 y 330 ml.

- 30 Se proporcionó una selección de botellas a Merieux Nutrisciences (Crete, IL) para determinar la composición del producto de leche humana esterilizada. Específicamente, el producto de leche humana esterilizada muestreado fue probado para las siguientes características y componentes: densidad (g/mL), calorías (g), grasa total (g), grasa monoinsaturada (g), grasa poliinsaturada (g), grasa saturada (g), grasa trans (g), colesterol (mg), sodio (g), potasio (mg), carbohidratos totales (g), azúcares (g), fructosa (g), glucosa (g), lactosa (g), maltosa (g), sacarosa (g), galactosa (g), proteínas (g), calcio (mg), hierro (mg), humedad (g), cenizas (g), vitamina D2 (mcg) y vitamina D3 (mcg). Además, el producto de leche humana esterilizada se sometió a pruebas adicionales para determinar la calidad de la proteína, que se cuantifica utilizando la puntuación de aminoácidos corregida por digestibilidad de la proteína (PDCAAS). La FIG. 8A presenta los datos analíticos. Además, la FIG. 8A identifica el método de referencia utilizado para determinar varios componentes analíticos correspondientes. Los componentes se detectaron utilizando métodos oficiales de la Asociación de Químicos Agrícolas Oficiales (AOAC), métodos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), cromatografía líquida de alto rendimiento interna o cálculos de bases de datos. La densidad de la muestra de producto de leche humana esterilizada era de 1.016 g/mL.

- 45 Cabe destacar que el puntaje de aminoácidos corregido por digestibilidad de proteínas (PDCAAS) del producto de leche esterilizada fue de 72.4 (p/p%). En comparación, una muestra de leche humana pasteurizada obtenida del Banco de Leche Materna de San José, California, que había sido sometida previamente a un tratamiento de pasteurización convencional a 145°F/62.8°C durante 30 minutos, tuvo un PDCAAS de 64.9 (p/p%). En conjunto, el producto de leche esterilizada posee una mejora del 10% en la calidad proteínica en comparación con las muestras de leche humana pasteurizada convencional.

- 50 También se proporcionaron botellas seleccionadas a Merieux NutriSciences (Salida, CA) para la determinación de *B. Cereus*, recuento de placas aeróbicas, recuento microbiano total, levadura y moho en el producto de leche humana esterilizada y embotellado asépticamente. Se seleccionaron botellas al principio de la ejecución de la esterilización (botella número 158), más tarde durante la ejecución de la esterilización (botella número 1888) y aún más tarde durante la ejecución de la esterilización (botella número 3151).

- 55 Ahora se hace referencia a la FIG. 8B, que muestra los recuentos microbianos de las botellas 158, 1888 y 3151 en comparación con la leche humana cruda. Los recuentos de *B. Cereus* se determinaron usando el método estandarizado AOAC 980.31 para determinar *B. Cereus* en alimentos. El recuento de placas aerobias de cada muestra se determinó utilizando el método normalizado AOAC 966.23. El recuento microbiano total se determinó utilizando la prueba normalizada USP<61> para el recuento microbiano aeróbico total. La levadura

y el moho se determinaron mediante la prueba normalizada USP <61> para el examen microbiológico de productos no estériles.

Cada uno de los tres productos de leche humana esterilizada, homogeneizada y embotellada asépticamente exhibió niveles bajos (< 100 CFU/g) de presunto *B. Cereus* en comparación con una muestra de leche humana cruda, que exhibió niveles significativamente más altos (300 CFU/g) de presunto *B. Cereus*. Además, cada uno de los tres productos de leche humana esterilizada, homogeneizada y embotellada asépticamente presentaba un recuento de placas aeróbicas bajo (< 10 CFU/g) y un recuento microbiano total bajo (<10 CFU/g). Por el contrario, la muestra de leche humana cruda presentaba un recuento de placas aerobias significativamente mayor (780,000 CFU/g). Cada uno de los tres productos de leche humana esterilizada y homogeneizada embotellados asépticamente presentaba además niveles más bajos (< 10 CFU/g) de levadura en comparación con una muestra de leche humana cruda, que presentaba niveles significativamente más altos (4,200 CFU/g) de levadura. El producto de leche humana esterilizada y homogeneizada embotellado asépticamente contenido en las botellas 158, 1888 y 3151 cumple los requisitos de control de calidad estándar de la industria y se considera comercialmente estéril.

7.4. Ejemplo 4: Esterilización a ultra alta temperatura a escala comercial de leche humana fortificada

Un total de 27,000 onzas líquidas (800 litros) de leche humana de varios donantes humanos fueron validadas, reunidas y fortificadas antes de la esterilización a temperatura ultra alta. En concreto, la leche humana se fortificó con calostro bovino (50.7 g por litro de leche humana), aminoácidos (70.5 g por litro de leche humana), ácido ascórbico (3.1 g por litro de leche humana) y vitamina D (4.0 g por litro de leche humana). También se añadió extracto de stevia orgánica. Los 800 L (27,000 onzas líquidas) de leche humana fortificada se esterilizaron utilizando el Tetra Therm® Aseptic Flex para proporcionar un tratamiento a temperatura ultra alta en la Planta Piloto de Tetra Pak (Denton, TX), que es una instalación de producción de alimentos registrada por la FDA.

Los 800 L (27,000 onzas líquidas) de leche humana fortificada se calentaron a una temperatura objetivo de 289.4°F/143°C mientras se sometía a intercambio de calor contracorriente y se mantuvo a la temperatura objetivo durante 10.3 segundos. La leche humana fortificada se hizo fluir a través del sistema de esterilización a un caudal de 0.5 litros por segundo (8 galones/min). Tras la esterilización de la leche humana fortificada, el producto de leche fortificada esterilizada se sometió a una homogeneización en línea a 1800-2500 psi. A continuación, se obtuvo el producto de leche fortificada esterilizada y se embotelló asépticamente en botellas de 330 ml.

Se proporcionó una botella a Merieux Nutrisciences ubicada en Crete, IL para la determinación de la composición del producto de leche humana fortificada esterilizada. Específicamente, el producto de leche humana fortificada esterilizada fue probado para las siguientes características y componentes: densidad (g/mL), calorías (g), grasa total (g), grasa monoinsaturada (g), grasa poliinsaturada (g), grasa saturada (g), grasa trans (g), colesterol (mg), sodio (g), potasio (mg), carbohidratos totales (g), azúcares (g), fructosa (g), glucosa (g), lactosa (g), maltosa (g), sacarosa (g), galactosa (g), proteínas (g), calcio (mg), hierro (mg), humedad (g), cenizas (g), vitamina D2 (mcg) y vitamina D3 (mcg). Además, el producto de leche humana fortificada esterilizada se sometió a pruebas adicionales de calidad proteica utilizando el PDCAAS. La FIG. 9A presenta los datos analíticos e identifica el método de referencia utilizado para determinar varios componentes analíticos correspondientes. Los componentes se detectaron utilizando métodos oficiales de la AOAC, cromatografía líquida interna de alto rendimiento o cálculos de bases de datos. La densidad de la muestra de producto de leche humana esterilizada fue de 1.052 g/mL. Cabe destacar que el PDCAAS del producto de leche fortificado esterilizada fue de 100.0 (p/p%), lo que indica la alta calidad proteica del producto de leche fortificado esterilizada, probablemente debida al proceso de fortificación.

Una botella del producto de leche humana fortificada esterilizada fue proporcionada a Merieux NutriSciences localizada en Salida, CA para determinar la presencia de *B. Cereus*, levadura y moho. Se hace referencia ahora a la FIG. 9B, que muestra los recuentos microbianos del producto de leche humana fortificada esterilizada y embotellada asépticamente en comparación con la leche humana fortificada cruda. Los recuentos de *B. Cereus* se determinaron utilizando el método normalizado AOAC 980.31 para la determinación de *B. Cereus* en los alimentos. La levadura y el moho se determinaron utilizando la prueba estandarizada USP <61> para el Examen Microbiológico de Productos No Estériles.

El producto de leche humana fortificada, esterilizada y embotellada asépticamente exhibió niveles bajos (< 100 CFU/g) de presunto *B. Cereus*, niveles bajos (< 10 CFU/g) de levadura y niveles bajos (< 10 CFU/g) de moho. En particular, el nivel de levadura (< 10 CFU/g) en el producto de leche humana fortificada, esterilizada y embotellada asépticamente fue significativamente menor en comparación con el producto homólogo de leche humana fortificada cruda (10,000 CFU/g).

REIVINDICACIONES

1. Un método de esterilización de leche humana para producir un producto de leche humana esterilizada, comprendiendo el método:
 - 5 recibir, por un esterilizador situado dentro de un sistema cerrado en línea, como entrada, una muestra de leche humana;
 - hacer fluir la muestra de leche humana a través de un tubo del esterilizador en una primera dirección a un primer caudal;
 - 10 calentar la muestra de leche humana en el tubo mediante un proceso de intercambio de calor en contracorriente haciendo fluir fluido calentador en una segunda dirección a un segundo caudal, en el que el fluido calentador está en contacto con una superficie exterior del tubo;
 - enfriar, mediante el esterilizador, la muestra de leche humana calentada para producir el producto de leche humana esterilizada; y
 - en el que el calentamiento de la muestra de leche humana en el tubo comprende:
 - 15 elevar una temperatura de la muestra de leche humana hasta dentro de un rango de temperatura de 130°C y 150°C; y
 - mantener la temperatura de la muestra de leche humana dentro del rango de temperatura durante una duración de 3 a 15 segundos.
2. El método de la reivindicación 1, en el que una longitud del tubo y el primer caudal de la muestra de leche humana se seleccionan previamente cada una para mantener la temperatura de la muestra de leche humana dentro del rango de temperatura durante la duración.
- 20 3. El método de la reivindicación 1 o reivindicación 2, en el que el tubo tiene un diámetro entre 0.64 y 25.4 cm (entre 0.25 y 10 pulgadas).
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el primer caudal de la muestra de leche humana a través del tubo del esterilizador está comprendido entre 0.0158 litros por segundo y 1.58 litros por segundo (entre 0.25 galones por minuto y 25 galones por minuto).
- 25 5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la muestra de leche humana recibida por el esterilizador no es homogeneizada.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la muestra de leche humana se homogeneiza antes de ser recibida por el esterilizador o se homogeneiza después de ser enfriada por el esterilizador.
- 30 7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 que comprende además un paso, antes de que el esterilizador reciba la muestra de leche humana, de:
 - eliminar patógenos de una muestra de leche materna humana cruda a través de uno o más procesos de clarificación.
- 35 8. El método de la reivindicación 7 que comprende:
 - eliminar patógenos de una muestra de leche materna humana cruda a través de uno o más procesos de filtración centrífuga.
9. El método de la reivindicación 7 o reivindicación 8 que comprende además, después de eliminar los patógenos de la muestra de leche materna humana cruda, y antes de que el esterilizador reciba la muestra de leche humana, los pasos de:
 - 40 separar la muestra de leche humana clarificada en una muestra de nata y una muestra de leche desnatada;
 - generar un retentado realizando un proceso de concentración en la muestra desnatada; y
 - manipular una muestra de leche humana estandarizada para producir un producto de leche humana manipulada combinando una porción de la muestra de nata con una porción del retentado obtenido,
- 45 opcionalmente, en el que la combinación de una porción de la muestra de nata con una porción del retentado obtenido comprende:
 - detectar una característica inicial de la muestra de nata;

comparar la característica inicial detectada de la muestra de nata con una característica objetivo para el producto de leche humana estandarizada; y

determinar la porción de la muestra de nata y la porción del retentado obtenido basándose en la comparación.

- 5 10. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 que comprende además subsecuente a producir el producto de leche humana esterilizada, una etapa de empaçado, a través de un proceso aséptico, del producto de leche humana esterilizada.

11. Un sistema cerrado de procesamiento en línea que comprende:

un esterilizador que comprende:

- 10 un tubo configurado para hacer fluir una muestra de leche humana a través del tubo en una primera dirección a un primer caudal; y

- 15 un recipiente en cuyo interior se encuentra una porción del tubo, en el que el recipiente está configurado para hacer fluir un fluido calentador en contacto con una superficie exterior de la porción del tubo en una segunda dirección a un segundo caudal, de forma que la muestra de leche humana que fluye a través del tubo se caliente a una temperatura predeterminada mediante intercambio de calor en contracorriente y se mantiene a la temperatura predeterminada durante una duración de tiempo,

en el que la temperatura predeterminada está dentro de un rango de temperatura de 135°C a 145°C y la duración predeterminada de tiempo está entre 6 y 14 segundos.

- 20 12. El sistema de la reivindicación 11, en el que el primer caudal de la muestra de leche humana a través del tubo del esterilizador está entre 0.0158 litros por segundo y 1.58 litros por segundo (entre 0.25 galones por minuto y 25 galones por minuto).

13. El sistema de la reivindicación 11 o reivindicación 12 que comprende además:

uno o más clarificadores bacterianos, cada clarificador bacteriano configurado para eliminar patógenos de una muestra de leche humana cruda;

- 25 un separador de leche en comunicación fluida con el último en serie del al menos un clarificador bacteriano, el separador de leche configurado para separar una muestra de leche humana clarificada en una muestra de nata y una muestra de leche desnatada;

un concentrador de leche en comunicación fluida con el separador de leche, el concentrador de leche configurado además para generar un retentado realizando un proceso de ósmosis inversa sobre la muestra de leche desnatada recibida del separador de leche; y

- 30 un combinador de leche configurado para combinar una porción de la muestra de nata del separador de leche y una porción del retentado del concentrador de leche.

14. El sistema de una cualquiera de las reivindicaciones 11-13, en el que el sistema es capaz de someterse a un método de limpieza in situ (CIP).

DIBUJOS

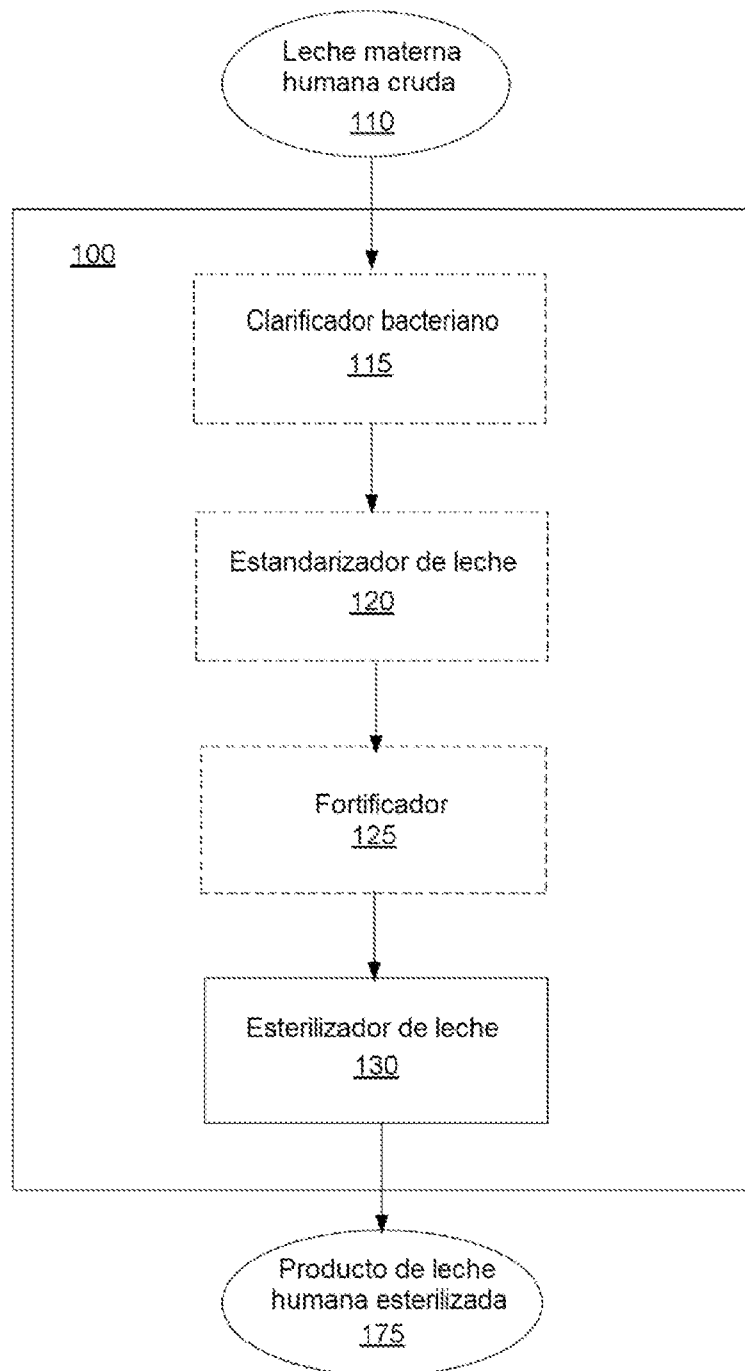


FIG. 1A

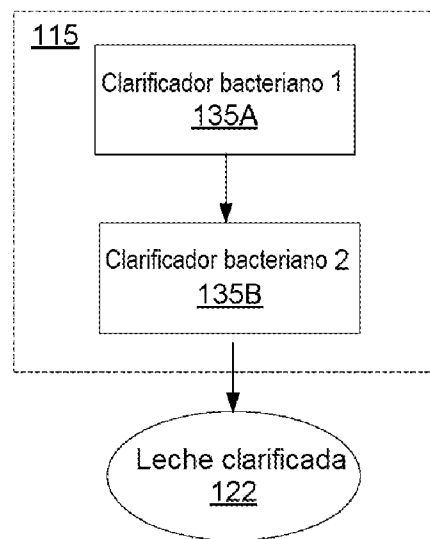


FIG. 1B

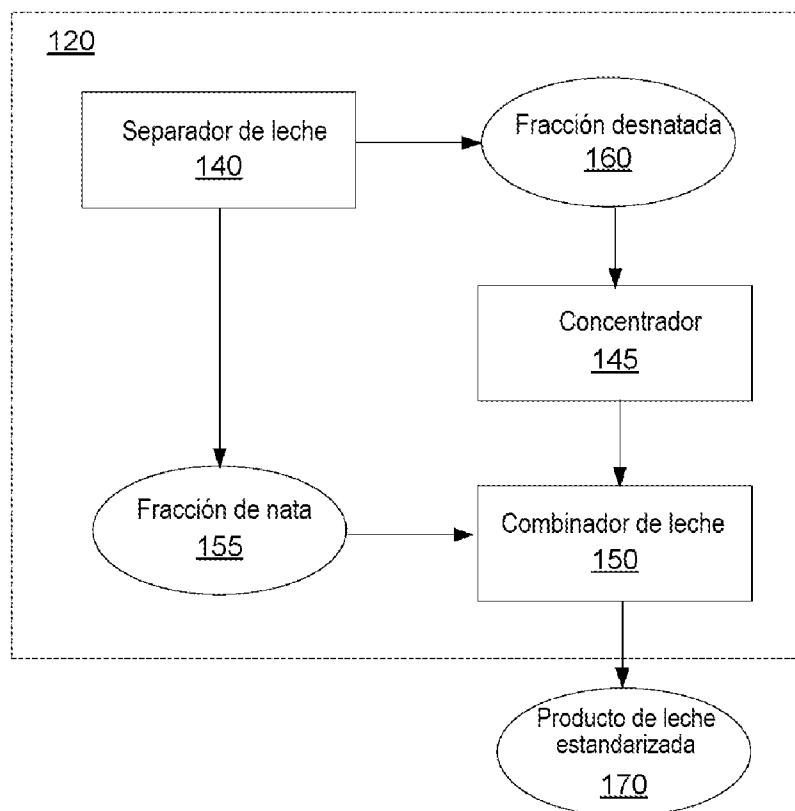


FIG. 1C

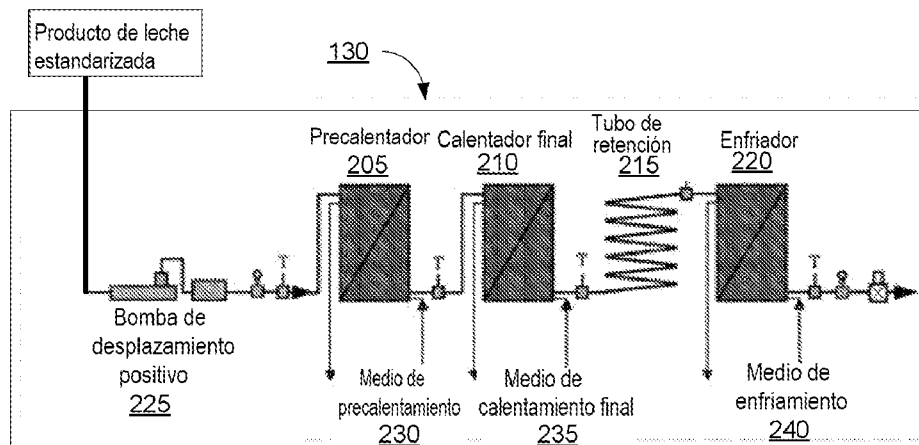


FIG. 2

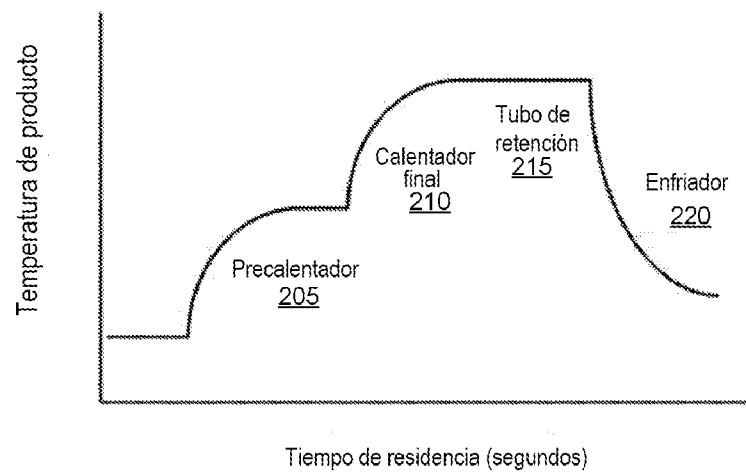


FIG. 3

400

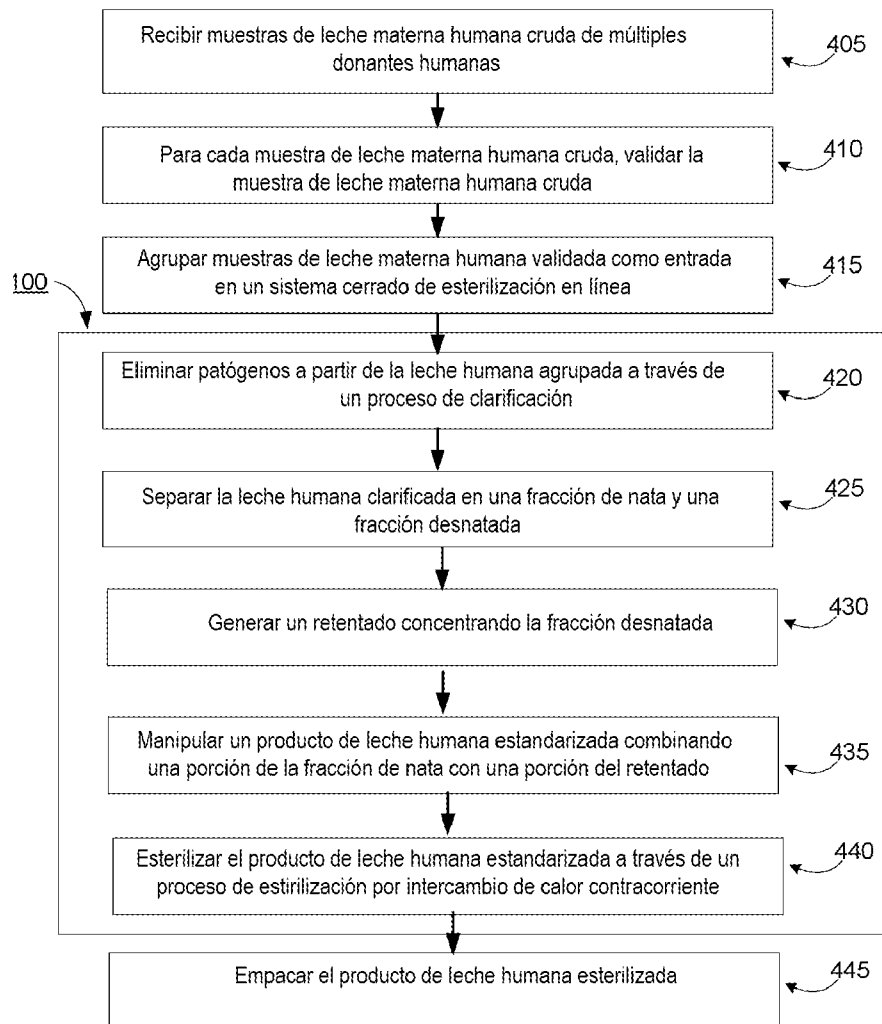


FIG. 4

440

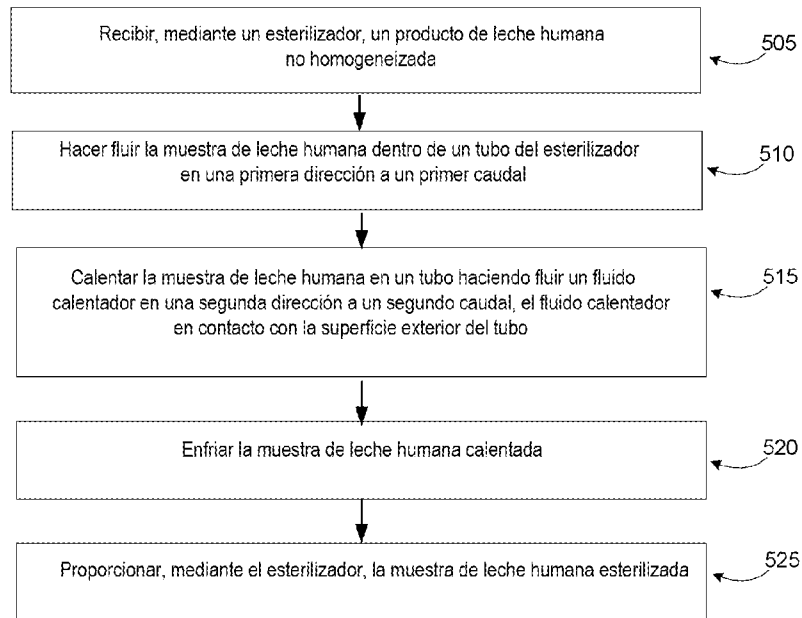


FIG. 5

Ejecución	Tiempo de retenc. (FERT, seg)	Temperatura (°F/°C)	Reducción Log de C. Botulinim	Reducción Log de B. Cereus
1	12.6	276.5 / 135.8	15.9	>1000
2	12.6	279.0 / 137.2	20.6	>1000
3	12.6	281.5 / 138.6	30.2	>1000
4	12.6	284.5 / 140.3	41.6	>1000
5	9.6	280.5 / 138.1	20.2	>1000
6	9.6	283.5 / 139.7	26.1	>1000
7	9.6	286.0 / 141.1	38.4	>1000
8	8.1	283.0 / 139.4	22.1	>1000
9	8.1	286.0 / 141.1	32.4	>1000
10	8.1	288.5 / 142.5	41.8	>1000
11	8.1	291.3 / 144.1	45.0	>1000
12	6.6	286.5 / 141.4	30.0	>1000
13	6.6	289.0 / 142.8	38.7	>1000
14	6.6	291.5 / 144.2	50.0	>1000

FIG. 6A

Datos analíticos por 100 g de muestra	Muestra de leche humana cruda	Ejecución 11 Producto de leche humana esterilizada
Calorías	65.1	63.9
Calorías de la grasa	32.7	31.1
Grasa total	3.63 g	3.46 g
Grasa saturada	1.54 g	1.46 g
Grasa trans	<0.10 g	<0.10 g
Colesterol	13.5 mg	12.8 mg
Sodio	15.4 mg	10.8 mg
Total carbohidratos	6.7 g	6.8 g
Azúcares	5.72 g	5.51 g
Proteína (F=6.38)	1.40 g	1.40g
Vitamina A	189 IU	169 IU
Calcio	31.3 mg	29.5 mg
Hierro	<0.1 mg	<0.1 mg

FIG. 6B

Concentración o abundancia	Muestra 1 de leche cruda	Ejecución 4	Ejecución 4 % de retención	Ejecución 11	Ejecución 11 % de retención
IgA (g/L)	0.214	0.191	89%	0.188	88%
IgM (g/L)	0.057	0.045	78%	0.044	77%
IgG (g/L)	0.034	0.038	112%	0.036	107%
Anti-tripsina (g/L)	0.124	0.084	68%	0.079	64%
Lactoferrina (g/L)	2.11	1.89	89%	1.70	81%
Lisozima (g/L)	0.052	0.043	83%	0.041	78%
Lactalbúmina (g/L)	2.81	2.30	82%	2.03	72%
alfa Caseína (1 x 10 ⁴ recuento de iones)	1.65	1.63	99%	1.52	92%
Beta Caseína (1 x 10 ⁵ recuento de iones)	5.43	5.10	94%	4.98	92%
Kappa Caseína (1 x 10 ⁵ recuento de iones)	2.14	2.00	93%	1.96	92%
Osteopontina (1 x 10 ⁴ recuento de iones)	3.02	3.13	104%	2.63	87%
Total oligosacáridos de leche humana (HMO) (g/L)	12.09	11.12	92%	11.27	93%

FIG. 6C

Concentración o abundancia	Muestra 2 de leche cruda	Ejecución 7	Ejecución 7 % de retención	Ejecución 14	Ejecución 14 % de retención
IgA (g/L)	0.245	0.253	104%	0.246	100%
IgM (g/L)	0.020	0.020	97%	0.021	106%
IgG (g/L)	0.043	0.046	105%	0.050	115%
Anti-tripsina (g/L)	0.054	0.057	106%	0.060	111%
Lactoferrina (g/L)	1.78	1.48	83%	1.48	83%
Lisozima (g/L)	0.115	0.105	91%	0.098	85%
Lactalbúmina (g/L)	2.49	2.31	93%	2.53	101%
alfa Caseína (1 x 10 ⁴ recuento de iones)	1.58	1.29	81%	1.31	83%
Beta Caseína (1 x 10 ⁵ recuento de iones)	5.36	5.00	93%	5.14	96%
Kappa Caseína (1 x 10 ⁵ recuento de iones)	0.15	0.14	97%	0.15	98%
Osteopontina (1 x 10 ⁴ recuento de iones)	0.37	0.47	126%	0.51	139%
Total oligosacáridos de leche humana (HMO) (g/L)	8.80	9.10	103%	8.82	100%
Oligosacáridos de leche fucosilada (g/L)	5.52	5.60	101%	5.46	99%
2'Fucosilactosa (g/L)	0.71	0.72	101%	0.75	105%
3'Fucosilactosa (g/L)	0.96	0.93	97%	0.92	96%
Oligosacáridos de leche sialilada (g/L)	1.10	1.11	101%	1.08	98%
Oligosacáridos de leche no fucosilada (g/L)	2.40	2.56	107%	2.46	103%

FIG. 6D

	Leche humana cruda	Producto de leche humana esterilizada (Ejecución 4)
Recuento de placas aeróbicas (CFU/g)	>250000	<10
Levadura (CFU/g)	<10	<10
Moho (CFU/g)	10	<10

FIG. 6E

	Aminoácidos (g/L)	Calostro bovino (g/L)	Vitamina simple (g/L)	Vitamina C (g/L)	Vitamina D (g/L)	Bisglicinato de magnesio (g/L)	Glicinato de magnesio (g/L)	Lactato de calcio (g/L)	L-teanina (g/L)	Estevia (g/L)
Leche fortificada Muestra 1	34.0									
Leche fortificada Muestra 2		30.0								
Leche fortificada Muestra 3			5.4							
Leche fortificada Muestra 4	34.0	15.0								
Leche fortificada Muestra 5	34.0	15.0	5.4	2.2	4.0					
Leche fortificada Muestra 6		30.0				16.0		17.0	0.4	
Leche fortificada Muestra 7		30.0					16.0	17.0	0.4	0.4

FIG. 7A

	Aminoácidos (g/L)	Calostro bovino (g/L)	Vitamina simple (g/L)	Vitamina C (g/L)	Vitamina D (g/L)	Lacto Enzimática (g/L)	Vitamina cereza (g/L)	Aminoácidos saborizados (g/L)	Metil sulfonilmetano (g/L)
Leche fortificada Muestra 8						2.8			
Leche fortificada Muestra 9	38.0	15.0	5.4						
Leche fortificada Muestra 10	30.0	18.0	5.4						
Leche fortificada Muestra 11	34.0	15.0		2.2	4.0		4.8		
Leche fortificada Muestra 12		15.0	7.6	2.2	4.0			46.5	
Leche fortificada Muestra 13	15.0	50.7		3.1	4.0		9.6	70.5	5.0

FIG. 7B

Ejecución	Tiempo de retenc. (FERT, seg)	Temperatura (°F/°C)	Reducción Log de B. Cereus
Leche fortificada Muestra 1	8.1	286.0 / 141.1	>1000
Leche fortificada Muestra 2	8.1	286.0 / 141.1	>1000
Leche fortificada Muestra 3	8.1	286.0 / 141.1	>1000
Leche fortificada Muestra 4	8.1	286.0 / 141.1	>1000
Leche fortificada Muestra 5	8.1	286.0 / 141.1	>1000
Leche fortificada Muestra 6	8.1	286.0 / 141.1	>1000
Leche fortificada Muestra 7	8.1	286.0 / 141.1	>1000
Leche fortificada Muestra 8	8.1	286.0 / 141.1	>1000
Leche fortificada Muestra 9	8.1	286.0 / 141.1	>1000
Leche fortificada Muestra 10	8.1	286.0 / 141.1	>1000
Leche fortificada Muestra 11	8.1	286.0 / 141.1	>1000
Leche fortificada Muestra 12	8.1	286.0 / 141.1	>1000
Leche fortificada Muestra 13	8.1	286.0 / 141.1	>1000

FIG. 7C

Datos analíticos por 100 g de muestra	Producto de leche humana esterilizada a escala comercial	Referencia del método
Calorías	65.3 g	Cálculo
Total grasa	3.64 g	AOAC 996.06
Grasa monoinsaturada	1.30 g	
Grasa poliinsaturada	0.72 g	
Grasa saturada	1.40 g	
Grasa trans	<0.10 g	
Colesterol	11.9 mg	AOAC 994.10
Sodio	11.6 g	AOAC 984.27
Potasio	48.4 mg	AOAC 984.27
Total carbohidratos	6.8 g	Cálculo
Azúcares	5.85 g	HPLC Interna
Fructosa	<0.10 g	
Glucosa	<0.10 g	
Lactosa	5.85 g	
Maltosa	<0.10 g	
Sacarosa	<0.10 g	
Galactosa	<0.10 g	
Proteína (F-6.38)	1.34 g	AOAC 992.23
Puntuación de aminoácidos corregida por digestibilidad de proteínas (PDCAAS)	72.4 (p% en p)	Documento 51 de la FAO (1991)
Calcio	28.4 mg	AOAC 984.27
Hierro	<0.1 mg	AOAC 984.27
Humedad	88.00 g	AOAC 926.08
Ceniza	0.18 g	AOAC 935.39
Vitamina D2	<0.75 mg	AOAC 201.11 Mod.
Vitamina D3	1 mg	AOAC 201.11 Mod.

FIG. 8A

	Bacillus Cereus - Presunto (CFU/g)	Recuento de placa aeróbica (CFU/g)	Recuento microbiano total (CFU/g)	Levadura (CFU/g)	Moho (CFU/g)
Producto de leche humana esterilizada a escala comercial					
Botella 158	< 100	< 10	< 10	< 10	< 10
Botella 1888	< 100	< 10	< 10	< 10	< 10
Botella 3151	< 100	< 10	< 10	< 10	< 10
Leche humana cruda	300	780,000		4,200	< 10

FIG. 8B

Datos analíticos por 100 g de muestra	Producto de leche humana esterilizada y fortificada, a escala comercial	Referencia del método
Calorías	96.0 g	Cálculo
Total grasa	4.03 g	AOAC 996.06
Grasa monoinsaturada	1.39 g	
Grasa poliinsaturada	0.66 g	
Grasa saturada	1.71 g	
Grasa trans	<0.10 g	
Colesterol	19.2 mg	AOAC 994.10
Sodio	22.4 mg	AOAC 984.27
Potasio	112 mg	AOAC 984.27
Total carbohidratos	7.4 g	Cálculo
Azúcares	5.48 g	HPLC interna
Fructosa	<0.10 g	
Glucosa	<0.10 g	
Lactosa	5.48 g	
Maltosa	<0.10 g	
Sacarosa	<0.10 g	
Galactosa	<0.10 g	
Proteína (F-6.38)	7.53 g	AOAC 992.23
Puntuación de aminoácidos corregida por digestibilidad de proteínas (PDCAAS)	100.0 (p/% en p)	Documento 51 de la FAO (1991)
Calcio	109 mg	AOAC 984.27
Hierro	<0.1 mg	AOAC 984.27
Humedad	80.40 g	AOAC 926.08
Ceniza	0.59 g	AOAC 935.39
Vitamina D2	<0.75 mcg	AOAC 2011.11 Mod.
Vitamina D3	36 mcg	AOAC 2011.11 Mod.

FIG. 9A

	Bacillus Cereus - Presunto (CFU/g)	Levadura (CFU/g)	Moho (CFU/g)
Producto de leche humana esterilizada fortificada a escala comercial	< 100	< 10	< 10
Leche humana fortificada cruda	< 100	10000	< 10

FIG. 9B