



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 319 050**

② Número de solicitud: 200701791

⑤ Int. Cl.:
A23L 3/28 (2006.01)
A23L 1/025 (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

② Fecha de presentación: **26.06.2007**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **01.05.2009**

Fecha de la concesión: **29.01.2010**

④ Fecha de anuncio de la concesión: **16.02.2010**

④ Fecha de publicación del folleto de la patente:
16.02.2010

⑦ Titular/es: **Universidad Complutense de Madrid
Rectorado - Avenida de Séneca, 2
28040 Madrid, ES**

⑦ Inventor/es: **González Ureña, Ángel;
Orea Rocha, José María;
Jiménez Sánchez, Jorge B.;
Santos Delgado, María Jesús y
Crespo Corral, Esther**

⑦ Agente: **No consta**

⑤ Título: **Aumento del contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas por radiación resonante con láser u otras fuentes ópticas.**

⑤ Resumen:

Aumento del contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas por radiación resonante con láser u otras fuentes ópticas. La longitud de onda de irradiación es la de máxima absorción para el trans-resveratrol de forma que se maximiza el efecto de la irradiación ultravioleta (UV) sobre la piel de la uva consiguiendo una mayor inducción del compuesto. El trans-resveratrol es una molécula producida de forma natural por la vid y otras plantas como mecanismo de defensa frente a infecciones fúngicas, diversos tipos de estrés, productos químicos, etc. La aplicación del tratamiento, caracterizado porque la uva se somete durante cortos periodos de tiempo (inferiores a 45 minutos) a la radiación láser o con otras fuentes ópticas, de 302,1 nm, longitud de onda resonante del trans-resveratrol, permite aumentar de forma importante el contenido endógeno de trans-resveratrol en la uva, con la consiguiente mejora de su resistencia natural frente a la putrefacción y el envejecimiento durante el almacenamiento y, por otra parte, la mejora de sus propiedades nutricionales y beneficiosas para la salud.

ES 2 319 050 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Aumento del contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas por radiación resonante con láser u otras fuentes ópticas.

5

Objetivo de la invención

La presente invención se refiere a un procedimiento para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante la aplicación de tratamientos cortos de irradiación con láser, o con otra fuente óptica. La longitud de onda de irradiación es la de máxima absorción para el trans-resveratrol de forma que se maximiza el efecto de la irradiación ultravioleta (UV) sobre la piel de la uva consiguiendo una mayor inducción del compuesto. El trans-resveratrol es una molécula producida de forma natural por la vid y otras plantas como mecanismo de defensa frente a infecciones fúngicas, diversos tipos de estrés, productos químicos, etc. La aplicación del tratamiento, caracterizado porque la uva se somete durante cortos periodos de tiempo (inferiores a 45 minutos) a la radiación láser, o con otras fuentes ópticas, de 302,1 nm, longitud de onda resonante del trans-resveratrol, permite aumentar de forma importante el contenido endógeno de trans-resveratrol en la uva, con la consiguiente mejora de su resistencia natural frente a la putrefacción y el envejecimiento durante el almacenamiento y, por otra parte, la mejora de sus propiedades nutricionales y beneficiosas para la salud.

20 **Antecedentes**

Uno de los principales problemas de la agricultura moderna son las pérdidas en frutas y verduras durante el almacenamiento posterior a la cosecha, causadas principalmente por el ataque de agentes patógenos y su propio envejecimiento natural. Aunque existen prácticas agrícolas bien establecidas para la protección de los vegetales durante el almacenamiento, como la utilización de pesticidas químicos o el almacenamiento en atmósfera controlada, las pérdidas después de la cosecha se sitúan en torno al 20% del total mundial, pudiendo llegar en algunos casos a valores más elevados. Por otra parte, cada vez es mayor la preocupación de los consumidores por los riesgos nocivos para la salud y para el medio ambiente que supone la utilización extensiva de pesticidas químicos.

Una nueva estrategia para solucionar estos problemas consiste en el desarrollo de métodos para mejorar la resistencia natural de frutas y verduras mediante la utilización de las propias moléculas sintetizadas por las plantas para su protección, las denominadas "moléculas de defensa", bien mediante la aplicación externa de dichos compuestos o bien mediante tratamientos adecuados que permitan aumentar su contenido endógeno.

En lo que respecta a la dieta humana, una de las mayores preocupaciones es el aumento en el consumo de frutas y vegetales ya que son una fuente principal de ingredientes beneficiosos para la salud, como los polifenoles. Un ejemplo de dichos compuestos es el trans-resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno), conocido compuesto antioxidante producido de forma natural por la vid y otras plantas como molécula de defensa frente a los ataques fúngicos. Este compuesto ha generado gran atención al demostrarse los importantes beneficios para la salud humana que presenta, principalmente debido a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, estrogénicas, cardioprotectoras, quimioterapéuticas y anticancerosas.

La falta de un nivel adecuado de estos compuestos fenólicos presentes en frutas y vegetales, ha generado un gran interés en el desarrollo de alimentos funcionales para cubrir estas necesidades mediante el desarrollo de diferentes metodologías, principalmente: (a) eliminando compuestos no deseables, (b) añadiendo nuevos ingredientes para modificar, por ejemplo, las propiedades organolépticas, (c) aumentando la biodisponibilidad de los compuestos de interés o (d) aumentando el contenido de los compuestos beneficiosos mediante tratamientos post-cosecha que favorezcan su inducción.

Dentro de esta última categoría, se han publicado un gran número de estudios referidos a la inducción biótica o abiótica del trans-resveratrol en uvas, por ejemplo mediante tratamientos anóxicos [Jiménez *et al.*, *Eur. Food Res. Technol.* (2007) 224, 373], infecciones [Jeandet, *et al.*, *Am. J. Enol Vitic.* (1991) 42, 41], heridas [Langcake *et al. Physiol. Plant Pathol.* (1976) 9, 77], etc. Uno de los métodos más ampliamente investigado es el de la irradiación UV tanto en hojas de vid [Langcake *et al.*, *Phytochem* (1977) 16, 1193; Douillet-Breuil *et al.*, *J. Agricult. Food Chem.* (1999) 47, 4456] como en uvas [Adrian *et al.*, *J. Agricult. Food Chem.* (2000) 48, 6103; Cantos *et al. J. Agricult. Food Chem.* (2000) 48, 4606; Cantos *et al. J. Agricult. Food Chem.* (2001) 49, 5052; Creasy *et al. J. Am. Soc. Hortic. Sci* (1988) 113, 230; Versan *et al.*, *J. Agric. Food Chem.* (2001) 49, 5531].

Igualmente, en el documento ES 2177465 se describe un tratamiento post-cosecha de uvas de mesa mediante pulsos de irradiación ultravioleta con el objetivo de aumentar el contenido de trans-resveratrol en uvas. Los autores no especifican la longitud de onda empleada, indicando únicamente que se usan lámparas de luz ultravioleta C, es decir entre 100 y 280 nm, utilizando pulsos inferiores a 1 minuto. Para que el aumento del contenido de trans-resveratrol en la uva sea significativo es necesario un tiempo de inducción de 2 a 4 días a temperatura ambiente.

La mejora en el contenido en trans-resveratrol en vino ha sido investigada bien usando uvas irradiadas con UV para la elaboración del vino [Cantos *et al. Eur. Food Res. Technol.*(2003) 217, 253] o bien irradiando directamente el vino [Roggero, *J. Food Comp. Anal.*(2000) 13, 93]. Recientemente, se ha publicado que la irradiación UV es un método

más eficaz que el tratamiento con ozono para aumentar el contenido de trans-resveratrol en uvas mediante tratamientos cortos [González-Barrio *et al.* *J Agric. Food Chem.* (2006) 54, 4222].

5 Por otra parte, se ha observado una buena correlación entre la producción de trans-resveratrol (inducida por irradiación UV) y la resistencia de las uvas a *Botrytis cinerea* [Sbaghi, *et al.* *Euphytica* (1995) 86, 41], y a *Rhizopus stolonifer* [Nigro *et al.* *Postharv. Biol. Technol.* (1998) 13, 171] en distintas variedades de uvas de mesa, así como el aumento de la durabilidad de la uva de mesa irradiada con UV. Aunque estos autores solo estudiaron el efecto desde un punto de vista fenomenológico y no se realizaron análisis químicos, es evidente la correlación entre la mejora de la resistencia natural observada y la elicitación del contenido de trans-resveratrol, como ha sido demostrada por otros
10 autores [Montero *et al.*, *Plant Physiol.* (2003) 131, 129].

Como se verá más adelante con mayor detalle, la principal diferencia entre todos los métodos usados en la técnica antecedente y la presente invención es la elección de la longitud de onda de irradiación. la mayoría de los trabajos publicados usan 340 nm (UV-B) y 254 nm (UV-C), ya que son las lámparas disponibles comercialmente más usadas.
15 La principal novedad de la presente invención consiste en que la elección de la longitud de onda de irradiación, se ha realizado tras un extenso estudio de las propiedades espectroscópicas del trans-resveratrol lo que, junto con la utilización de un láser sintonizable para la irradiación, ha permitido la utilización de fotones de energía resonante para realizar el proceso de absorción a través de estados electrónicos reales de la molécula de interés, implicando de este modo un parámetro específico de la molécula en el proceso de absorción y aumentando considerablemente el
20 rendimiento de la absorción.

De forma general, los compuestos aromáticos muestran bandas de absorción en el UV generalmente asociadas con el benceno; en concreto para esta investigación es importante considerar la transición $\tilde{a}-\tilde{X}$ del benceno que se extiende en la región de 340-300 nm [G. Herzberg, "*Molecular Spectra and Molecular Structure III: Electronic Spectra and Electronic structure of Polyatomic Molecules*". Van Nostrand Reinhold Company, New York 1966]. En el caso concreto del trans-resveratrol, el espectro de absorción presenta una amplia banda que va de 280 a 360 nm. Posteriormente, se ha determinado que la longitud de onda resonante para el trans-resveratrol es 302,1 nm [Montero
25 *et al.*, *Appl. Phys. B* (2000) 71, 601].

Otra ventaja importante con respecto a la técnica antecedente es que en nuestro caso no es necesario esperar un tiempo de inducción que, en algunos casos puede llegar a ser de hasta 6 días a temperatura ambiente. Es evidente que, aunque este tiempo de inducción permite maximizar el contenido de trans-resveratrol en la uva, la permanencia de 6 días a temperatura ambiente limita de manera importante la conservación y durabilidad posterior de la fruta. En el método de la presente invención, la inducción se produce de forma inmediata al maximizar el proceso de absorción de la radiación ultravioleta, con lo que dicho periodo de inducción no es necesario.
30
35

En la presente invención se describe un procedimiento de irradiación de uvas con el fin de aumentar su contenido endógeno de trans-resveratrol. La irradiación se realiza a la longitud de onda resonante del compuesto con el fin de maximizar la absorción de irradiación y, por lo tanto, obtener una mayor inducción del compuesto. Esto hace que no sea necesario esperar un tiempo después de la irradiación para que el aumento del contenido de trans-resveratrol sea significativo, a diferencia de los métodos usados en la técnica antecedente.
40

Descripción de la invención

45 Aumento del contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas por irradiación resonante con láser.

En la presente invención se describe un procedimiento de irradiación de uvas con el fin de aumentar su contenido endógeno en trans-resveratrol. La irradiación se realiza a la longitud de onda resonante del compuesto, con el fin de maximizar la absorción de la irradiación y, por lo tanto, obtener una mayor inducción del compuesto. Esto hace que no sea necesario esperar un tiempo después de la irradiación para que el aumento del contenido de trans-resveratrol sea significativo.
50

El método propuesto comprende las siguientes etapas:

- 55 - Cortar las uvas individualmente junto con su pedículo,
- Situar las uvas sobre un soporte móvil de velocidad variable
- 60 - Irradiar las uvas a una longitud de onda de 302,1 nm utilizando haz de láser sintonizable o no sintonizable en longitud de onda, tanto pulsado como continuo, o bien cualquier otra fuente óptica de radiación diferente al láser.
- Mantener la irradiación durante un tiempo lo suficientemente corto como para no modificar la calidad y propiedades organolépticas de las uvas.
65

Los resultados obtenidos demuestran cómo la irradiación con la longitud de onda resonante del compuesto, principal innovación de la presente invención, al permitir que el proceso de absorción se realice a través de estados electrónicos reales, conduce a un aumento en el contenido endógeno de trans-resveratrol del mismo orden de magnitud

que el obtenido mediante los métodos de la técnica antecedente pero sin necesidad de esperar un tiempo de inducción a temperatura ambiente relativamente largo (hasta cuatro días) que generalmente produce un deterioro en la calidad y propiedades organolépticas de la uva.

5 Modo de realización de la invención

La presente invención se ilustra mediante el siguiente ejemplo operativo que no pretende ser en ningún caso limitante de su alcance, el cual viene definido exclusivamente por las reivindicaciones adjuntas.

10 Para realizar la presente invención se ha investigado la dependencia con la longitud de onda de la elicitación del trans-resveratrol en piel de uva mediante irradiación UV, y más específicamente, el efecto de la irradiación con la longitud de onda resonante del compuesto. Para ello se ha medido el grado de inducción del trans-resveratrol producido por la irradiación láser de uvas de mesa a 2 longitudes de onda distintas, permaneciendo el resto de los parámetros del procedimiento idénticos. Una de las longitudes de onda ($\lambda_{on} = 302,1$ nm) corresponde al máximo de la banda de absorción del trans-resveratrol, es decir: "elicitación resonante", mientras que la otra ($\lambda_{off} = 300,0$ nm) se eligió por presentar una absorción nula en comparación con la anterior.

20 Para la presente investigación se usaron uvas rojas (*Vitis vinifera*, variedad *Red Globe*) compradas directamente en el mercado y en el estado de madurez usual para su comercialización, no realizándose ningún tipo de tratamiento ni limpieza adicional. Para minimizar los efectos que pudieran deberse al diferente estado de madurez entre los racimos, estos se cortaron en varias partes incorporándose cada una de ellas en los diferentes grupos usados en los experimentos. Las uvas se cortaron del racimo con un cuchillo afilado de forma que el pedículo quedara unido a la uva para minimizar la deshidratación de las muestras.

25 La irradiación se realizó colocando las uvas individualmente en la corona circular de un disco de 30 cm de diámetro. En cada experimento se distribuyeron uniformemente 24 uvas sobre el disco, con una separación de 15° entre dos muestras consecutivas. Durante la irradiación el disco giraba con una velocidad de 6°/min con el fin de obtener la irradiación uniforme de todas las muestras. La irradiación se realizó con un láser de colorante con un sistema doblador de frecuencia mediante un cristal BBO-TST que permite obtener una frecuencia de salida entre 235 y 365 nm. El diámetro del haz láser (6 mm) se abrió hasta 15 mm mediante una lente divergente con el fin de obtener una zona de irradiación mayor. La fluencia del láser fue de 0,141 kJ/m² con pulsos de 5 ns y una frecuencia de 10 Hz.

30 La irradiación se realizó con dos longitudes de onda diferentes: 302,1 nm como longitud de onda resonante y 300,0 nm como longitud de onda no resonante. Se eligieron cuatro tiempos de irradiación diferentes para cada una de las dos longitudes de onda: 15, 30, 45 y 60 minutos. Para cada una de las condiciones experimentales se obtuvieron tres replicados de seis uvas cada uno, por lo que el experimento completo se repitió tres veces. También se incluyeron en el experimento tres replicados de seis uvas no irradiadas como control.

40 Inmediatamente después de la irradiación, las uvas se pelaron y la piel se trituró mediante un molino y el polvo obtenido se introdujo en viales con 50 mL de etanol con el fin de extraer el trans-resveratrol, para lo que se mantuvieron durante 4 semanas a 4°C. Transcurrido este tiempo, las muestras se analizaron por HPLC con detección UV a 306 nm, usando un gradiente lineal con metanol-ácido acético-agua (10:2:88 v/v) como disolvente A y metanol-ácido acético-agua (90:2:8) como disolvente B con un caudal de 1,0 mL·min⁻¹, según el método desarrollado previamente [Jiménez Sánchez *et al.*, *J. Chromat. A* (2006) 1074, 133].

45 Los resultados obtenidos (véase figura 3) permiten demostrar que el tratamiento de irradiación resonante desarrollado en la presente invención aumenta de forma significativa el contenido endógeno de trans-resveratrol en las uvas. La principal diferencia con el estado de la técnica anterior radica en la utilización de la longitud de onda del compuesto (302,1 nm) para favorecer el máximo de absorción de la radiación UV. La utilización de fotones de energía resonante para producir la absorción de la radiación a través de estados electrónicos reales de la molécula aumenta de forma significativa el rendimiento de la absorción, produciendo un importante efecto en el nivel de trans-resveratrol fotoinducido en las uvas. La mejora fue óptima (6 veces con respecto a las muestras de control no irradiadas) para 45 minutos de irradiación a 302,1 nm.

55 Obviamente este es solo un modo de realización que puede servir como ejemplo para la realización de la invención a pequeña escala, sin embargo los expertos en la técnica podrán encontrar fácilmente las variaciones necesarias para aplicar este método a escala industrial (tales como cintas transportadoras, láseres sobre soportes móviles para permitir una irradiación óptima de los racimos, etc.).

60 Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra el espectro REMPI de la molécula de trans-resveratrol en la que se han marcado las dos longitudes de onda utilizadas para los experimentos: λ_{on} (302,1 nm) que corresponde al máximo de la banda de absorción y λ_{off} , (300,0 nm) que fue elegida por presentar una absorción nula en comparación con la anterior.

65 La figura 2 muestra dos cromatogramas superpuestos obtenidos por HPLC-UV a partir de dos muestras irradiadas durante el mismo tiempo (45 minutos) y condiciones experimentales, excepto que una de ellas fue irradiada con 302,1 nm (A) mientras que la otra se irradió con la longitud de onda no resonante de 300,0 nm (B). La figura permite apreciar

ES 2 319 050 B1

claramente el aumento en el contenido de trans-resveratrol obtenido simplemente irradiando la muestra con la longitud de onda resonante del compuesto de interés.

5 La figura 3 muestra la evolución del contenido de trans-resveratrol en la piel de uva en función del tiempo de irradiación para las muestras irradiadas con la longitud de onda resonante (arriba) y la longitud de onda no resonante (abajo). Se puede observar como la irradiación resonante produce una clara elicitación en la biosíntesis del trans-resveratrol que alcanza un aumento de 6 veces, con respecto al contenido de la muestra de control, para las muestras irradiadas durante 45 minutos. Por el contrario, las uvas irradiadas con 300,0 nm no presentan ninguna variación significativa en su contenido de trans-resveratrol con respecto al contenido inicial.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante la aplicación de un tratamiento de irradiación UV **caracterizado** porque la longitud de onda con la que se realiza la irradiación es la longitud de onda resonante de este compuesto: 302,1 nm.

10 2. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante la aplicación de un tratamiento de irradiación UV según la reivindicación 1 **caracterizado** porque la irradiación se realiza con un láser sintonizable o no en longitud de onda, tanto pulsado como continuo.

15 3. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante la aplicación de un tratamiento de irradiación UV según la reivindicación 1 **caracterizado** porque la irradiación se realiza con cualquier otra fuente óptica de radiación diferente del láser.

20 4. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante la aplicación de un tratamiento de irradiación UV según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado** porque el tiempo de irradiación es lo suficientemente corto para no modificar la calidad y propiedades organolépticas de las uvas.

25 5. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante la aplicación de un tratamiento de irradiación UV según las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado** porque el tiempo de irradiación es de 15 a 45 minutos para láseres pulsados, e inferior para fuentes continuas.

30 6. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante la aplicación de un tratamiento de irradiación UV según las reivindicaciones 1 a 3 **caracterizado** porque la fluencia del láser, o la intensidad de la fuente continua, es lo suficientemente pequeña para no modificar la calidad y propiedades organolépticas de las uvas.

35 7. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante la aplicación de un tratamiento de irradiación UV según las reivindicaciones anteriores **caracterizado** porque la fluencia del láser es igual o inferior a de 0,141 kJ/m², con pulsos de nanosegundos y una frecuencia de 10 Hz.

40 8. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante la aplicación de un tratamiento de irradiación UV según las reivindicaciones anteriores **caracterizado** por las siguientes etapas:

- 35
- cortar las uvas individualmente junto con su pedículo,
 - situar las uvas sobre un disco rotatorio de velocidad variable,
 - 40 - hacer incidir sobre las uvas un haz láser pulsado, sintonizado a 302,1 nm,
 - mantener la irradiación durante un tiempo de 15 a 45 minutos.

45 9. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante la aplicación de un tratamiento de irradiación UV según la reivindicación 8, **caracterizado** porque el tiempo de irradiación es de 45 minutos.

50 10. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante la aplicación de un tratamiento de irradiación UV según las reivindicaciones 7 y 8, **caracterizado** porque la fluencia del láser es igual o inferior a de 0,141 kJ/m², con pulsos de 5 ns y una frecuencia de 10 Hz.

50

55

60

65

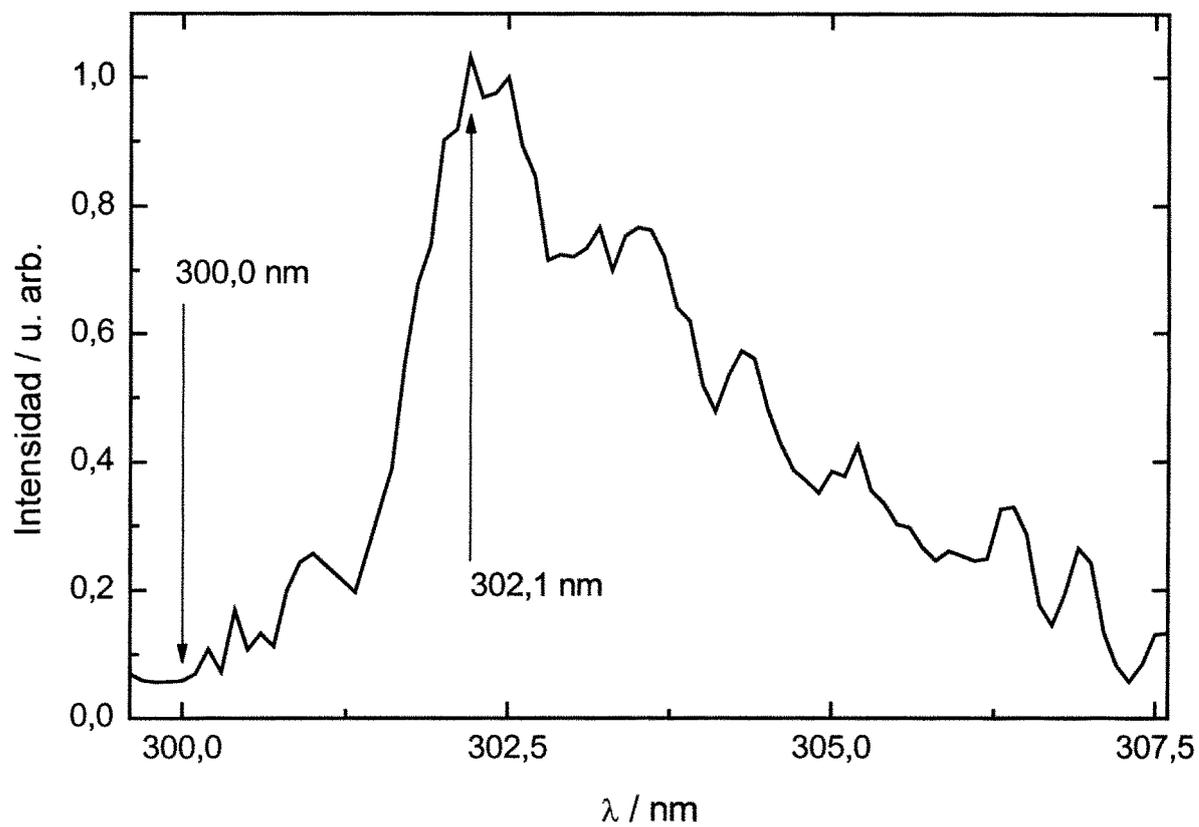


FIGURA 1

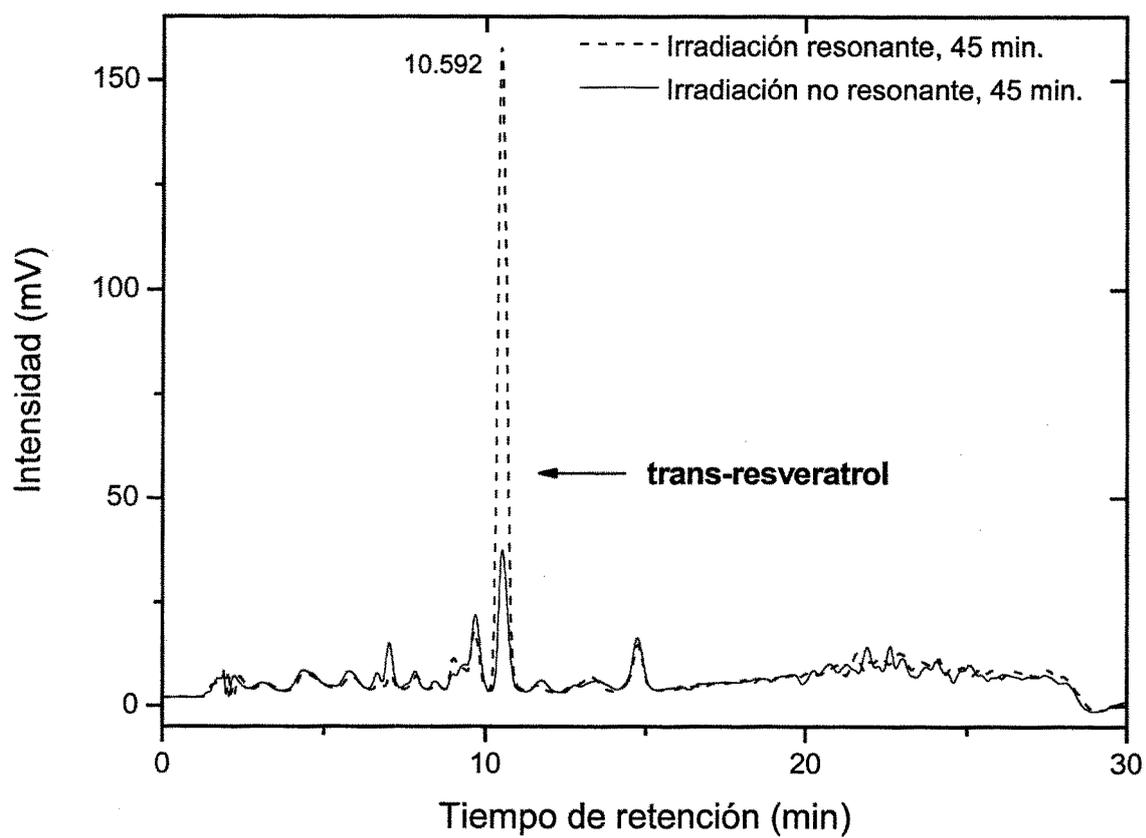


FIGURA 2

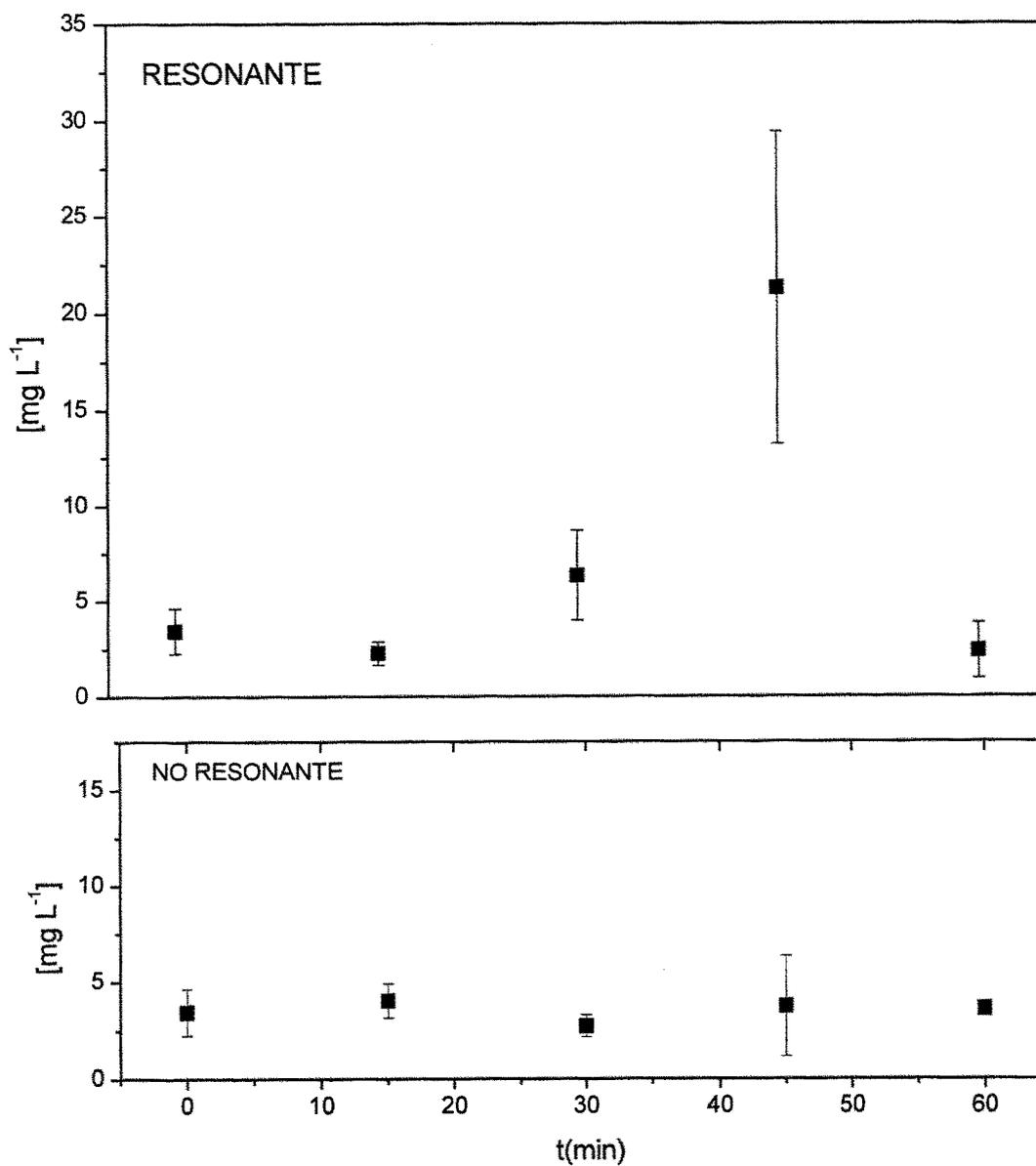


FIGURA 3



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 319 050

② Nº de solicitud: 200701791

③ Fecha de presentación de la solicitud: 26.06.2007

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **A23L 3/28** (2006.01)
A23L 1/025 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	JIMENEZ SANCHEZ, et al. "Elicitation of trans-resveratrol by laser resonant irradiation of table grapes" Applied Physics B, Lasers and Optics, 16 marzo 2007, vol 87, páginas 559,563, todo el documento	1-10
A	CANTOS E. et al. Effects of postharves Ultraviolet Irradiation on resveratrol and other phenolics of Cv. Napoleon Table Grapes. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 14 septiembre 2000, vol 48, nº 10, paginas 4606-4612, todo el documento.	1-10
A	CARLOS MONTERO CATALINA. Desarrollo de técnicas de espectrofotometría láser y su aplicación al análisis químico de alimentos. Tesis Doctoral, Madrid 2001. ISBN:84-669-1834, páginas 1-6,13-21,41,61-62,85-93,111,129-135,161-166,184-187.	1-10
A	ES 2177465 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS) 19.04.2001, todo el documento.	1
A	KR 20060024925 A (KOREA FOOD RES INST) 20.03.2006, todo el documento.	1
A	CANTOS E.et al. Postharvest induction modeling method using UV irradiation pulses for obtaining resveratrol-enriched table grapes: A new "functional" fruit?. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 31 agosto 2001, vol 49, nº 10, paginas 5052-5058.	1

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
27.03.2009

Examinador
A. Santos Díaz

Página
1/1