

①9



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



①1 Número de publicación: **2 350 127**

②1 Número de solicitud: 200901335

⑤1 Int. Cl.:

A23C 19/032 (2006.01)

C12N 1/20 (2006.01)

C12R 1/01 (2006.01)

C12R 1/25 (2006.01)

①2

SOLICITUD DE PATENTE

A1

④2 Fecha de presentación: **28.05.2009**

④3 Fecha de publicación de la solicitud: **19.01.2011**

④3 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
19.01.2011

⑦1 Solicitante/s: **Universidad de La Laguna
c/ Molinos de Agua, s/n
38207 La Laguna, Tenerife, ES**

⑦2 Inventor/es: **Zárate Machado, María Victoria**

⑦4 Agente: **No consta**

⑤4 Título: **Cultivo iniciador para la fabricación de queso formado por tres cepas de bacterias lácticas autóctonas del queso artesanal de Tenerife.**

⑤7 Resumen:

Cultivo iniciador para la fabricación de queso formado por tres cepas de bacterias lácticas autóctonas del queso artesanal de Tenerife: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* TF 53 (CECT 7513); *Lactobacillus plantarum* TF 191 (CECT 7514); y *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* TF 756 (CECT 7515).

Con la incorporación de estas tres cepas de bacterias lácticas se podrán obtener de forma estandarizada quesos con industriales con garantías higiénico-sanitarias, al estar elaborados con leche pasteurizada, al tiempo que mantienen las características sensoriales propias de quesos artesanales, al estar madurados por bacterias lácticas autóctonas del queso de Tenerife. Los quesos así obtenidos presentan una textura ligeramente más cremosa que los quesos artesanales de Tenerife y un sabor ligeramente ácido-amargo agradable a la cata.

ES 2 350 127 A1

ES 2 350 127 A1

DESCRIPCIÓN

Cultivo iniciador para la fabricación de queso formado por tres cepas de bacterias lácticas autóctonas del queso artesanal de Tenerife.

5 Sector de la técnica

Sector lácteo. Cultivo iniciador para la fabricación de quesos.

10 Introducción

Los cultivos iniciadores son preparaciones de microorganismos vivos que se aplican a los alimentos para hacer uso de su metabolismo. En la industria quesera, la adición de cultivos iniciadores a la leche pasteurizada permite fabricar quesos seguros desde el punto de vista sanitario, correctamente acidificados y con textura, aroma y sabor determinados por los microorganismos que los conforman.

En general, los microorganismos que forman parte de los cultivos iniciadores deben de cumplir unos requerimientos de aptitud tecnológica en lo que se refiere a su seguridad, efectividad y aspectos económicos.

20 El queso es un alimento fermentado cuya fabricación está muy extendida, dando lugar a más de 4.000 variedades diferentes en todo el mundo con características en aroma, sabor y textura propias. Estas variedades vienen determinadas por el tipo de leche y cuajo utilizados, por la preparación de la cuajada y por la presencia de microorganismos (principalmente bacterias lácticas) responsables del desarrollo, durante la maduración, de las características que las definen.

25 Los quesos pueden elaborarse a nivel artesanal, normalmente en granjas, a partir de la leche recién ordeñada y donde ocurre una fermentación espontánea llevada a cabo por las bacterias lácticas procedentes de la contaminación de la leche y/o utensilios utilizados en la fabricación del queso. En la industria quesera, donde se utiliza una fermentación controlada, la leche procedente de diversos ganaderos se pasteuriza, destruyendo la mayoría de los microorganismos, y haciendo necesaria la adición de cultivos iniciadores para que lleven a cabo la maduración. Estos cultivos iniciadores comerciales están formados principalmente por cepas de bacterias lácticas vivas con aptitud tecnológica demostrada que se compran a diferentes casas comerciales y que normalmente se suministran liofilizados y listos para su uso.

35 Al estar elaborado con leche cruda los quesos artesanales presentan dos inconvenientes principales: el primero es el riesgo higiénico-sanitario que supone su consumo, ya que la leche cruda puede contener microorganismos patógenos y alterantes que provocan pérdidas económicas y, lo que es más grave, enfermedades en los consumidores. Además, el proceso de fabricación no está estandarizado y durante la maduración ocurre una fermentación espontánea por lo que el producto no siempre se obtiene de igual forma, es decir, no se tiene un control de la calidad.

40 En los quesos industriales el proceso de fabricación está estandarizado y la fermentación está controlada y es, por tanto, reproducible. Además, al pasteurizar la leche se destruyen los microorganismos patógenos y alterantes. El principal inconveniente de los quesos industriales pasteurizados es la sustitución de la microbiota natural de la leche por bacterias comerciales, lo que hace que pierdan el carácter peculiar de aroma, textura, color, etc., distintivo típico de los quesos artesanales. Así podría darse el caso de partiendo del mismo tipo de leche (por ejemplo de cabra), el mismo cuajo (en las industrias éste también está estandarizado y se compra a casas comerciales) y el mismo cultivo iniciador comercial; podemos acabar produciendo el mismo tipo de queso en lugares muy diferentes.

50 Una alternativa que evitaría esta pérdida del carácter distintivo de los quesos industriales es el uso de cultivos iniciadores autóctonos, formados por cepas de bacterias lácticas aisladas de quesos artesanales con aptitud tecnológica para fabricar quesos. Los quesos así obtenidos estarían estandarizados y tendrían condiciones higiénico-sanitarias adecuadas, al tiempo que conservarían la biodiversidad propia de los quesos artesanales.

55 En este sentido se enmarca nuestra invención, en el desarrollo de un cultivo iniciador formado por cepas seleccionadas de bacterias lácticas autóctonas del queso artesanal de Tenerife para poder ser utilizado en las industrias queseras como sustituto de los cultivos iniciadores comerciales actualmente empleados.

Estado de la técnica

60 Son conocidos diversos trabajos en los que se describe la introducción de un cultivo iniciador para la fabricación de quesos. Por ejemplo, en el documento RU2192137 se emplea un cultivo iniciador formado por: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* y *Lactobacillus plantarum*.

65 Así mismo, en el documento ES2072827 se describe la utilización en la industria quesera de una cepa de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* aislada de queso majorero. También en el documento ES2157155 se describe una cepa de *Lactobacillus casei* aislado del queso manchego y su uso.

ES 2 350 127 A1

Sin embargo, no se ha encontrado una descripción de un cultivo iniciador constituido por tres cepas de bacterias lácticas aisladas del queso artesanal de Tenerife (un lactococo, un lactobacilo y un leuconostoc). Estas cepas cumplen los requisitos de seguridad, efectividad tecnológica y facilidad de manejo, obtención y aplicación deseables en un cultivo iniciador.

5

Descripción de la invención

Se tiene un cultivo iniciador para la fabricación de queso formado por tres cepas de bacterias lácticas autóctonas del queso artesanal de Tenerife: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* TF 53 (CECT 7513); *Lactobacillus plantarum* TF 191 (CECT 7514); y *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* TF 756 (CECT 7515).

10

Se trata de tres microorganismos seleccionados a partir de cepas de bacterias lácticas aisladas de quesos artesanales de Tenerife. La selección de las citadas cepas se realizó en base a las siguientes características tecnológicas:

15

- Seguridad: tener el estatus de GRAS (Generally Recognized as Safe for Human Consumption) y no presentar actividad tóxica por producción de aminas biógenas (metabolitos tóxicos obtenidas por descarboxilación microbiana de aminoácidos).

20

- Efectividad Tecnológica:

a) capacidad acidificante por degradación de la lactosa que contribuye al sabor, textura y tiene efecto antimicrobiano.

25

b) capacidad generadora de aroma y textura por degradación de las proteínas (proteolisis) y de las grasas (lipolisis); y por producción de diacetilo.

c) Capacidad de supervivencia y actividad en quesos.

30

- Aspectos Económicos: facilidad de manejo, conservación y aplicación.

35

Con la incorporación de estas tres cepas de bacterias lácticas se podrán obtener de forma estandarizada quesos industriales con garantías higiénico-sanitarias, al estar elaborados con leche pasteurizada, al tiempo que mantienen las características sensoriales propias de quesos artesanales, al estar madurados por bacterias lácticas autóctonas del queso de Tenerife. Los quesos así obtenidos presentan una textura ligeramente más cremosa que los quesos artesanales de Tenerife y un sabor ligeramente ácido-amargo agradable a la cata.

40

La elaboración de queso se consigue con la adición de estos microorganismos a la leche pasteurizada en forma de cultivo iniciador a las concentraciones iniciales siguientes: 1 a 7×10^6 ufc/ml *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* TF 53 (CECT 7513); 1 a 8×10^4 ufc/ml *Lactobacillus plantarum* TF 191 (CECT 7514); 1 a 8×10^4 ufc/ml *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* TF 756 (CECT 7515). Con estas proporciones se consiguen quesos seguros desde el punto de vista sanitario, correctamente acidificados y con textura, olor y sabor característicos.

45

Los criterios tenidos en cuenta para la selección de las cepas que forman el cultivo iniciador autóctono se detallan a continuación:

50

- *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* TF53 (CECT 7513): Categoría GRAS. No productora de tirosina-, histidina-, ornitina-, lisina- y triptófano-descarboxilasa. Altamente acidificante y proteolítica. Porcentaje de supervivencia del 86,6% cuando crece en presencia de un 3% de cloruro sódico (concentración máxima de sal habitual en quesos).

55

- *Lactobacillus plantarum* TF 191 (CECT 7514): Categoría GRAS. No productora de tirosina-, histidina-, ornitina-, lisina- y triptófano-descarboxilasa. Altamente peptidolítica y productora de diacetilo a partir de la leche y del citrato. Porcentaje de supervivencia del 86,2% cuando crece en presencia de un 3% de cloruro sódico.

- *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* TF 756 (CECT 7515): Categoría GRAS. No productora de tirosina-, histidina-, ornitina-, lisina- y triptófano-descarboxilasa. Moderadamente peptidolítica y altamente estearásica. Con un porcentaje de supervivencia del 78,6% cuando crece en presencia de un 3% de cloruro sódico.

60

El procedimiento de obtención del cultivo iniciador autóctono a gran escala consta de dos etapas: primera, la obtención del cultivo en fermentador (obtención del biomasa viable) y segunda, la obtención de liofilizados de las bacterias correspondientes.

Dichas etapas pueden describirse de la siguiente forma:

65

1. Obtención del cultivo en fermentador. Las condiciones de cultivo en fermentador de cada una de las tres cepas de bacterias lácticas para su producción a gran escala se muestran en la Tabla 1

ES 2 350 127 A1

TABLA 1

	Parámetros	Cepa de bacteria láctica		
5		<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
10		ssp. <i>lactis</i> TF53 (CECT 7513)	TF191 (CECT 7514)	ssp. <i>mesenteroides</i> TF756 (CECT 7515)
	Inóculo			
15	Obtención	Cultivo en MRS 24h 30°C	Cultivo en MRS 24h 30°C	Cultivo en MRS 24h 30°C
	Adición	1-5%	1-5%	1-5%
20	Medio de cultivo	MRS	MRS	MRS
	pH	5,5-6,0	5,5-6,0	5,5-6,0
25	Temperatura	25-32°C	25-32°C	25-32°C
30	Agitación (r.p.m)	100	100	100
	Aireación	No	No	No
35	Tiempo de incubación (h)	18-22	18-22	18-22

40

2. Obtención de liofilizados. Una vez cultivadas, las bacterias se recogen por centrifugación (10.000 r.p.m, 5 min a 4°C), se lavan tres veces con tampón fosfato 20 mM pH 6,5 y se resuspenden en leche desnatada reconstituida estéril al 10% (RSM) conteniendo glutamato monosódico (12,5 g/l) como crioprotector. Las suspensiones celulares así obtenidas se mantienen una hora a temperatura ambiente, se pasan a balones de liofilización y se congelan a -80°C al menos durante dos horas antes de proceder a su liofilización. La concentración inicial de liofilizado está entre 10¹⁰-10¹¹ ufc/g y se mantiene activo durante meses a 4°C y en oscuridad.

45

50 Por otro lado, una vez obtenido el liofilizado, su forma de aplicación en la industria quesera depende de cada cepa. Se detalla a continuación la aplicación en la industria:

55

- *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* TF53 (CECT 7513): se adiciona el liofilizado a RSM o leche pasteurizada a concentración inicial del orden 1 x 10⁶ ufc/ml. Tras 24 horas de incubación a 30°C se obtiene una concentración del orden de 1 x 10⁹ ufc/ml. A partir de este precultivo se toma el volumen necesario para lograr una concentración inicial de 1 a 7 x 10⁶ ufc/ml en la leche pasteurizada con la que se fabrican los quesos.

60

- *Lactobacillus plantarum* TF 191 (CECT 7514): Se reactiva el liofilizado en RSM o leche pasteurizada 30 minutos a 30°C y se adiciona a la leche pasteurizada utilizada para fabricar los quesos a una concentración inicial de 1 a 8 x 10⁴ ufc/ml.

65

- *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* TF 756 (CECT 7515). Se reactiva el liofilizado en RSM o leche pasteurizada 30 minutos a 30°C y se adiciona a la leche pasteurizada utilizada para fabricar los quesos a una concentración inicial de 1 a 8 x 10⁴ ufc/ml.

Modos de realización de la invención

Aplicando los procedimientos descritos anteriormente se obtienen unos 12 gr de liofilizado para cada cepas de bacteria láctica del cultivo iniciador autóctono a partir de su cultivo en 1.100 ml de medio MRS en fermentador. La concentración de bacterias viables (expresadas en ufc/g) presentes en los liofilizados recién obtenidos y justo antes de la fabricación de quesos (se fabricaron el 2/12/08) se recogen en la Tabla 2.

TABLA 2

Cepa de bacteria láctica	Fecha de liofilización	Concentración del liofilizado recién obtenido (ufc/g)	Concentración del liofilizado a 29/11/08 (ufc/g)
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> TF53 (CECT 7513)	10/10/08	$6,2 \times 10^{10}$	4×10^{10}
<i>Lactobacillus plantarum</i> TF191 (CECT 7514)	24/5/08	$1,5 \times 10^{11}$	$5,4 \times 10^{10}$
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>mesenteroides</i> TF756 (CECT 7515)	2/6/08	$1,6 \times 10^{11}$	$5,0 \times 10^{10}$

Con estas bacterias liofilizadas se elaboró una tanda de fabricación de quesos que incluyó estudio de los lotes (Lote I y Lote II). Para la fabricación de cada lote se utilizaron 20 litros de leche de cabra pasteurizada y se obtuvieron 4 quesos de aproximadamente 1 kg cada uno. En la Tabla 3 se muestra la composición y el modo de adición de los cultivos iniciadores utilizados en esta tanda de fabricación. En ambos casos se utilizaron las mismas tres bacterias pero modificando su concentración inicial en leche de modo que en el Lote II se redujo la concentración del lactococo TF53 (CECT 7513), se aumentó ligeramente la del lactobacilo TF191 (CECT 7514) y se aumentó la del leuconostoc TF756 (CECT 7515) con respecto al Lote I. Con estos cambios se pretendía obtener quesos ligeramente menos ácidos y más aromáticos en el Lote II con respecto al I. En cuanto al modo de aplicación, el lactococo TF53 (CECT 7513) se adicionó a partir de un cultivo madre, mientras que el lactobacilo TF191 (CECT 7514) y el leuconostoc TF756 (CECT 7515) se adicionaron directamente a partir del liofilizado.

ES 2 350 127 A1

TABLA 3

Lote	Composición	Concentración inicial en leche (ufc/ml)	Adición
I	<i>Lc. lactis ssp.lactis</i> TF53 (CECT 7513)	7,0x10 ⁶	140 ml de cultivo madre
	<i>Lb. plantarum</i> TF191 (CECT 7514)	7,5 x10 ⁴	0,027 g del liofilizado
	<i>Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides</i> TF756 (CECT 7515)	3,0x10 ⁴	0,012 g del liofilizado
II	<i>Lc. lactis ssp.lactis</i> TF53 (CECT 7513)	1,0x10 ⁶	20 ml de cultivo madre
	<i>Lb. plantarum</i> TF191 (CECT 7514)	8,0x10 ⁴	0,030 g del liofilizado
	<i>Ln. mesenteroides ssp.mesenteroides</i> TF756 (CECT 7515)	8,0x10 ⁴	0,032 g del liofilizado

El cultivo madre se obtuvo a partir del liofilizado del TF53 (CECT 7513) por inoculación en RSM a concentración teórica inicial de 1×10^6 ufc/ml. Tras incubación 24 h a 30°C se añadió a la leche pasteurizada el volumen señalado en la Tabla 3. La concentración teórica del cultivo madre estaba en torno a 1×10^9 ufc/ml y la real, determinada mediante recuento, fue de $1,3 \times 10^9$ ufc/ml. Para el lactobacilo TF191 (CECT 7514) y leuconostoc TF756 (CECT 7515) se pesó la cantidad de liofilizado necesario para conseguir las concentraciones iniciales en leche pasteurizada que se recogen en la Tabla 3; se reactivaron en 5 ml de RSM durante 30 min a 30°C y finalmente se añadieron a la leche.

Una vez fabricados los quesos se maduraron en cámara de maduración a 10°C y 80% de humedad relativa. A distintos tiempos (2, 20, 40 y 60 días) se tomó un queso, se transportó al laboratorio y se realizaron análisis microbiológicos, bromatológicos y sensoriales.

El análisis sensorial lo realizó un panel de cata formado por un grupo aleatorio de individuos, todos habituados a catar quesos canarios. Las características que se puntuaron fueron, la apariencia externa, textura, aroma, sabor y aceptación general. Para cada parámetro se utilizó una escala de puntuación del 1 al 7 donde 1 fue: muy pobre y 7: excelente.

En la Tabla 4 se muestra la evaluación sensorial de los lotes I y II a los 20, 40 y 60 días de maduración. Los valores de desviación estándar encontrados reflejan las considerables variaciones en gustos y preferencias del panel de catadores.

TABLA 4

Lote	Tiempo (días)	Apariencia externa	Textura	Aroma	Sabor	Aceptación general	Total
I	20	4,56±1,01	5,44±0,53	5,11±0,93	5,89±1,05	6,00±0,50	27,00±2,45
	40	5,58±0,86	5,69±0,75	5,38±0,87	5,92±0,86	5,88±0,77	28,46±2,93
	60	5,39±0,84	5,86±0,77	4,79±1,10	5,29±1,05	5,43±0,87	26,75±3,37
II	20	5,00±1,66	5,33±0,71	4,22±0,44	4,67±0,87	5,00±0,71	24,22±2,05
	40	5,65±1,11	5,11±1,33	5,04±1,27	5,19±1,22	5,31±1,05	26,31±4,76
	60	5,03±1,05	5,07±1,34	4,64±1,34	5,25±1,27	5,11±1,18	25,11±5,45

ES 2 350 127 A1

En general los dos lotes fueron bien aceptados por los catadores con puntuaciones totales superiores a 24 puntos en todos los tiempos de maduración. Ambos lotes mostraron una cremosidad mayor que la habitual del queso de Tenerife, que fue evaluada positivamente por el panel de cata. El lote mejor valorado de esta tanda de fabricación fue el I logrando las puntuaciones más favorables en todos los parámetros evaluados durante todo el periodo de maduración, a excepción de la apariencia externa a los 20 días. De acuerdo con la opinión de los catadores se consideró que el tiempo óptimo de maduración de los quesos era de 60 días, momento en que el queso I destacó por su cremosidad, sabor menos ácido y más picante y salado que el II.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 350 127 A1

REIVINDICACIONES

5 1. Cultivo iniciador para la fabricación de queso formado por tres cepas de bacterias lácticas autóctonas del queso artesanal de Tenerife: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* TF 53 (CECT 7513); *Lactobacillus plantarum* TF 191 (CECT 7514); y *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* TF 756 (CECT 7515).

10 2. Cultivo iniciador para la fabricación de queso formado por tres cepas de bacterias lácticas autóctonas del queso artesanal de Tenerife: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* TF 53 (CECT 7513); *Lactobacillus plantarum* TF 191 (CECT 7514); y *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* TF 756 (CECT 7515) añadidas a la leche a las concentraciones iniciales siguientes: 1 a 7×10^6 ufc/ml *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* TF 53 (CECT 7513); 1 a 8×10^4 ufc/ml *Lactobacillus plantarum* TF 191 (CECT 7514); 1 a 8×10^4 ufc/ml *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* TF 756 (CECT 7515).

15 3. Procedimiento para la obtención del cultivo iniciador autóctono para su aplicación industrial **caracterizado** por dos etapas: la obtención del cultivo en fermentador y la obtención de liofilizados de las bacterias correspondientes donde:

20 - Las condiciones de cultivo en fermentador de cada una de las tres cepas de bacterias lácticas para su producción a gran escala son las siguientes: Inoculo: cultivo en MRS 24 h a 30°C y se adiciona del 1-5% concentración final en el fermentador. Condiciones de fermentación: medio de cultivo: MRS; pH: 5,5-6,0; temperatura: 25-32°C; agitación: 100 r.p.m.; aireación: no; tiempo de incubación: 18-22 h.

25 - La obtención del liofilizado se **caracteriza** por recoger por centrifugación las bacterias una vez cultivadas, se lavan, y se resuspenden. Las suspensiones celulares así obtenidas se mantienen a temperatura ambiente, se pasan a balones de liofilización y se congelan al menos durante dos horas antes de proceder a su liofilización.

30 4. Procedimiento para la aplicación industrial del cultivo iniciador autóctono **caracterizado** según reivindicación 2 donde:

35 - El *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* TF53 (CECT 7513): Se adiciona el liofilizado a RSM o leche pasteurizada a concentración inicial del orden 1×10^6 ufc/ml. Tras un intervalo en el entorno de las 24 horas de incubación a unos 30°C se toma el volumen necesario de este precultivo para lograr en la leche pasteurizada una concentración inicial según reivindicación 2.

40 - El *Lactobacillus plantarum* TF 191 (CECT 7514): Se reactiva el liofilizado en RSM o leche pasteurizada preferentemente 30 minutos a 30°C y se adiciona a la leche pasteurizada utilizada para fabricar los quesos para lograr una concentración inicial según reivindicación 2.

45 - El *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* TF 756 (CECT 7515): Se reactiva el liofilizado en RSM o leche pasteurizada preferentemente 30 minutos a 30°C y se adiciona a la leche pasteurizada para lograr una concentración inicial según reivindicación 2.

50 5. Queso elaborado a partir de un cultivo iniciador formado por tres cepas de bacterias lácticas autóctonas del queso artesanal de Tenerife **caracterizado** según reivindicación 1.

55 6. Queso elaborado a partir de un cultivo iniciador formado por tres cepas de bacterias lácticas autóctonas del queso artesanal de Tenerife **caracterizado** según reivindicación 2.

60

65



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

21 N.º solicitud: 200901335

22 Fecha de presentación de la solicitud: **28.05.2009**

32 Fecha de prioridad: **00-00-0000**
00-00-0000
00-00-0000

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

51 Int. Cl.: Ver hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ES 2306564 A1 (UNIVERSIDAD DE LEÓN) 01.11.2008, página 3, líneas 19-28, Conclusiones; reivindicaciones 1,3-8.	1-2,5-6
X	ES 476810 A1 (C.S.I.C.) 16.07.1979, todo el documento.	1-6
X	GÓMEZ-RUIZ, J.A. et al. "Influence of a defined-strain starter and Lactobacillus plantarum as adjunct culture on volatile compounds and sensory characteristics of Manchego cheese" Eur Food Res Technol (2008) 227: 181-190.	1-2,5-6
A	ZÁRATE, V. "Changes in the microbial flora of Tenerife goats' milk cheese during ripening" Int Dairy Journal 7 (1997) 635-641.	
X	RU 2192137 C2 (UFAMOLAGROPROM AOOT+) 10.11.2002, Recuperado de ESPACENET. Resumen de la Base de Datos.	1-2,5-6
X	ES 2072827 A1 (C.S.I.C.) 16.07.1995, columna 5, líneas 61-65; reivindicaciones 1-3.	1-6
X	ES 2125205 A1 (C.S.I.C.) 16.02.1999, todo el documento.	1-6

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
24.08.2010

Examinador
I. Galíndez Labrador

Página
1/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A23C 19/032 (2006.01)

C12N 1/20 (2006.01)

C12R 1/01 (2006.01)

C12R 1/25 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A23C, C12N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, FSTA

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 24.08.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-6	SÍ NO
	Reivindicaciones _____	
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones _____	SÍ NO
	Reivindicaciones 1-6	

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	ES 2306564 A1	01.11.2008
D02	ES 476810 A1	16.07.1979
D03	Eur Food Res Technol 227: 181-190	2008
D04	Int Dairy Journal 7, 635-641	1997
D05	RU 2192137 C2	10.11.2002
D06	ES 2072827 A1	16.07.1995
D07	ES 2125205 A1	16.02.1999

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La solicitud a estudio tiene por objeto un cultivo iniciador para la fabricación de queso formado por tres cepas de bacterias lácticas autóctonas del queso artesanal de Tenerife: *Lactococcus lactis* ssp *lactis* TF 53 (CECT 7513), *Lactobacillus plantarum* TF 191 (CECT 7514) y *Leuconostoc mesenteroides* ssp *mesenteroides* TF 756 (CECT 7515), así como el procedimiento de obtención de dicho cultivo, que consta de dos etapas: la obtención del cultivo en fermentador y la obtención de liofilizados de las bacterias correspondientes, liofilizados que se reactivan antes de añadirlos a la leche pasteurizada. También es objeto de la solicitud el queso elaborado a partir de tal cultivo. El uso de cultivos iniciadores autóctonos, formados por cepas aisladas de quesos artesanales, evita la pérdida del carácter distintivo de los quesos industriales. Los quesos industriales obtenidos con las cepas autóctonas están estandarizados y tienen condiciones higiénico-sanitarias adecuadas, al tiempo que conservan la diversidad propia de los quesos artesanales.

El documento D1 mencionado en el Informe de Búsqueda Internacional versa sobre iniciadores autóctonos de la fermentación láctica y su uso en la elaboración del queso Armada con leche pasteurizada. Se utilizan cuatro iniciadores, de los cuales tres se asemejan al de la solicitud en estudio, el Iniciador A integrado por *Lactococcus lactis* ssp *lactis* (CECT 7124) y *Lactococcus lactis* ssp *lactis* (CECT 7125), el Iniciador C formado por el Iniciador A más *Leuconostoc mesenteroides* subsp *dextranicum* y el Iniciador D por el Iniciador A más *Lactobacillus plantarum* (CECT 7127).

El documento D2 trata de un método de elaboración de cultivos iniciadores para la fabricación de queso manchego a base de cepas aisladas de diferentes quesos artesanales de la región manchega. Las cepas aisladas se siembran en leche desnatada estéril, manteniéndose 16 horas a 22-25°C hasta obtener el crecimiento deseado, y se conservan por liofilización. Los liofilizados se regeneran en leche esterilizada y se toma un inóculo, del volumen deseado en cada caso, sembrando con distintas combinaciones un matraz de leche estéril. Se utilizan distintos microorganismos, de los cuales, el único que coincide con el de la solicitud a estudio es *Lactobacillus plantarum*.

El documento D3 hace referencia a la influencia ejercida por distintos iniciadores y *Lactobacillus plantarum* como cultivo adjunto sobre, entre otras cosas, las características sensoriales del queso manchego. Se fabrican tres lotes de queso, el primero con un cultivo iniciador de *Lactococcus lactis* subsp *lactis* y *Leuconostoc mesenteroides* subsp *dextranicum*, el segundo con un iniciador igual que el anterior más *Lactobacillus plantarum* como cultivo adjunto, obteniéndose todos estos microorganismos de quesos

Hoja adicional

manchegos artesanales, y el tercero con un iniciador comercial integrado por dos cepas de *Lactococcus lactis*. Los dos primeros lotes obtuvieron una puntuación significativamente más alta que el tercero en cuanto a características sensoriales.

El documento D4, de los mismos solicitantes que los de la solicitud a estudio, es representativo del Estado de la Técnica anterior, y de los antecedentes de la solicitud que nos ocupa, en cuanto a que examina la flora microbiana del queso de leche de cabra de Tenerife, cuyos componentes mayoritarios son, entre otros, *Lactococcus lactis ssp lactis*, *Lactobacillus plantarum* y *Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum*, también como paso preliminar para preparar un iniciador microbiano para la elaboración de queso de Tenerife a escala industrial.

En el documento D5 se emplea un cultivo iniciador formado por dos subespecies de *Lactococcus lactis*, una de ellas *ssp lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, subsp *cremoris* y *Lactobacillus plantarum*.

En el documento D6 se reivindica la utilización de *Lactococcus lactis ssp lactis* (CECT 4478) aislada de queso majorero.

El documento D7 es una adición a la patente anterior, en la que la mejora consiste en utilizar los mismos microorganismos que en la patente principal más una nueva cepa de *Lactococcus lactis ssp lactis* desprovista de las actividades proteínásica y acidificante, lo cual da origen a una aceleración de la maduración de los quesos, que tienen un sabor más marcado y menos amargo.

A la vista de los documentos mencionados, las reivindicaciones 1-6 cumplen los requisitos de Novedad, de acuerdo con el artículo 6 de la Ley 11/1986, de 20 de Marzo, de Patentes, ya que no se han encontrado documentos que utilicen exactamente los mismos microorganismos. No se considera sin embargo que el hecho de utilizar unos microorganismos u otros, dependiendo del queso que se quiera fabricar, implique actividad inventiva, según el artículo 8 de la misma Ley, ya que la finalidad es la misma: evitar la pérdida del carácter distintivo de los quesos industriales. Tampoco se considera que impliquen actividad inventiva variaciones no demasiado significativas en las concentraciones de los microorganismos añadidos, medios de cultivo utilizados, temperaturas y duración de los cultivos o ligeras variaciones en las condiciones de liofilización, a menos que alguno de estos factores implique alguna mejora técnica a la que no se hace alusión en ninguna parte de la memoria que nos ocupa.