



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 367 743**

(21) Número de solicitud: **201100659**

(51) Int. Cl.:

A23C 3/00 (2006.01)

(12)

SOLICITUD DE PATENTE

A1

(22) Fecha de presentación: **06.06.2011**

(71) Solicitante/s: **Universidad de Oviedo**
Plaza de Riego, 4 - Edificio Histórico
33003 Oviedo, Asturias, ES

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **08.11.2011**

(72) Inventor/es: **Fierro Roza, José Fernando;**
Andrés Gómez, María Teresa y
González Seisdedos, Jessica

(43) Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
08.11.2011

(74) Agente: **No consta**

(54) Título: **Procedimiento de descontaminación microbiana de leche o lactosuero mediante desionización.**

(57) Resumen:

Procedimiento de descontaminación microbiana de leche o lactosuero mediante desionización. Procedimiento para la descontaminación microbiana de leche o lactosuero mediante desionización a través de una membrana semipermeable sin que se alteren las propiedades físico-químicas, nutritivas, bioactivas y organolépticas del producto natural. El procedimiento tiene aplicación en sectores de la industria alimentaria que precisan de un método de pasteurización no térmica, en particular, en la industria de procesamiento de productos lácteos.

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de descontaminación microbiana de leche o lactosuero mediante desionización.

5 Esta invención se refiere a un procedimiento para la descontaminación microbiana de leche o lactosuero mediante desionización sin alterar sus propiedades intrínsecas, de forma tal que el número de microorganismos presentes en estos fluidos sea muy reducido o nulo, prolongando el tiempo de conservación de estos productos en su estado natural. La invención tiene por objeto proporcionar un procedimiento adecuado para la disminución de microorganismos contaminantes de la leche o lactosuero aumentando su tiempo de conservación, sin que ello suponga una desnaturalización proteica o alteración físico-química extensa de los componentes lácteos, preservando así sus propiedades 10 físicas, nutritivas, bioactivas y organolépticas naturales.

La invención resulta de aplicación en sectores de la industria alimentaria que precisen un método de pasteurización no térmica, y en particular para industrias que procesen leche y productos lácteos.

15

Estado de la técnica

20 La leche cruda no contiene bacterias o están presentes en muy bajo número si es obtenida en condiciones asépticas. Sin embargo, este producto natural se contamina rápidamente con microorganismos del entorno al contactar con partes de la superficie del animal (ej. ubres) o con diversos materiales (ej. aparato para el ordeño, tanques de recolección, etc.). Consecuencia de esta contaminación microbiana es el rápido deterioro de este producto rico en proteínas, carbohidratos, grasas, etc. que posee por tanto unas propiedades nutricionales óptimas para la multiplicación de los microorganismos ya que son similares a las encontradas en los medios de cultivo microbianos. La refrigeración de la 25 leche a temperaturas de 4°C y 8°C prolonga su conservación durante días debido a la ralentización del metabolismo microbiano dificultando así su multiplicación. No obstante, es la disminución o eliminación de estos microorganismos la que asegura una mayor estabilidad de la leche y un tiempo de conservación más prolongado. Con esta finalidad, se han utilizado mayoritariamente dos tipos de procedimientos, unos basados en la desnaturalización proteica por medio del calor (ej. pasteurización, esterilización, tratamiento UHT) y otros que eliminan a los microorganismos por 30 filtración de la leche a través de membranas. La pasteurización es la técnica que utiliza calor para la eliminación parcial de los microorganismos presentes en la leche, y es el procedimiento industrial más antiguo y el más utilizado para obtener la descontaminación microbiana de este producto. También existen otros procedimientos más intensivos basados en el calor y que son utilizados con el mismo fin (ej. esterilización, UHT). Estos procedimientos térmicos de descontaminación microbiana provocan la desnaturalización o la modificación de elementos microbianos que son 35 esenciales (ej. proteínas, enzimas, etc.) para la supervivencia de los microorganismos, de manera que las alteraciones físico-químicas y estructurales que experimentan dichos elementos se traducen en una pérdida de su función biológica y consecuentemente provocan la muerte y/o la inactivación microbiana. Sin embargo, estos procedimientos tienen el inconveniente del efecto desnaturalizante que el calor también ejerce sobre las proteínas lácteas y la modificación de otros componentes (ej. grasas) de la leche. Existe abundante bibliografía que recoge las consecuencias de las alteraciones 40 citadas, tales como: a) cambio en el sabor; b) pérdida de las propiedades biológicas o bioactivas de este producto natural (ej. destrucción de anticuerpos, lisozima, lactoferrina, etc.); c) disminución de las propiedades nutritivas de la leche; y d) potencial contaminación con endotoxinas bacterianas procedentes de los microorganismos muertos durante la esterilización. Así, se ha descrito que la pasteurización de leche humana disminuye la concentración de proteínas antimicrobianas (ej. IgA secretora, lactoferrina, lisozima y lactoperoxidasa) y por ello la actividad antimicrobiana de 45 la leche (Akinbi *et al.*, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition (2010) 51: 347-352). La pasteurización es también responsable de la desnaturalización proteica y de la modificación de la grasa, alteraciones que impiden la absorción intestinal de algunos componentes grasos esenciales para el lactante. Se ha constatado que esta mala absorción provoca un retraso del crecimiento en niños alimentados con leche pasteurizada respecto a los que toman leche materna no tratada mediante ese procedimiento térmico (Andersson *et al.*, Acta Paediatrica (2007) 96: 1445-1449). 50 Por otra parte, la concentración de endotoxinas bacterianas liberadas por las bacterias muertas por el calor durante la pasteurización puede ser hasta siete veces superior a la detectada en la leche no pasteurizada (Motter, J., Netherlands and Milk Dairy Journal (1987) 41: 137-145).

La filtración a través de membranas también ha sido utilizada para la descontaminación microbiana de la leche. 55 No obstante esta técnica tiene una aplicación industrial limitada debido a las dificultades que presentan para su uso la presencia de algunos componentes lácteos, tales como la caseína. La caseína suele asociarse a micelas estabilizadas por el fosfato cálcico, impidiendo su paso a través de los poros de la membrana de filtración. Además, la caseína es una proteína muy hidrofóbica y tiende a formar interacciones hidrofóbicas con superficies y con otras proteínas atascando los poros de la membrana de filtración. Aunque este problema se ha intentado solucionar utilizando la filtración 60 tangencial o membranas de filtración con un tamaño de poro mayor o procesando leches descremadas previamente, la eliminación de los microorganismos no ha podido ser garantizada.

Descripción de la invención

65

La presente invención se refiere a un procedimiento para la descontaminación microbiana de leche o lactosuero, a través de la desionización de la muestra.

ES 2 367 743 A1

A los efectos de la presente invención y su descripción, se entiende por desionización el proceso por el cual las sales disueltas son retiradas de la solución. En este proceso los aniones y cationes son sustituidos por iones hidroxilo o hidrógeno, respectivamente.

5 Es un objetivo general de la presente invención evitar los inconvenientes indicados anteriormente proporcionando un procedimiento para la descontaminación microbiana de leche y otros productos lácteos que preserve sus propiedades biológicas naturales y su calidad organoléptica.

Para ello, se utiliza un procedimiento de pasteurización no térmico basado en la desionización (ej. diálisis) que 10 provoca la auto-descontaminación de la leche. Este procedimiento se fundamenta, aunque no exclusivamente, en: 1) el reciente descubrimiento del mecanismo de la acción antimicrobiana de las transferrinas (lactoferrina y transferrina) (Andrés M.T. y Fierro J.F., Antimicrobial Agents and Chemotherapy (2010) 54: 4335-4342). Estudios publicados recientemente demuestran que las transferrinas (lactoferrina y transferrina), proteínas presentes en la leche y otras secreciones, son capaces de bloquear la translocación de protones a través de la membrana citoplasmática bacteriana 15 inhibiendo selectivamente al complejo H^+ -ATPasa. El desequilibrio iónico causado por esta acción provoca la muerte de los microorganismos que se encuentran en medios carentes de otros cationes alternativos (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , etc.) como se demuestra en Viejo-Díaz M., Andrés M.T., y Fierro J.F., Biochemistry (Moscow) (2003) 68: 217-227; y 2) la concentración de lactoferrina presente en la leche bovina y humana (aprox. 0,1 g/L y 1 g/L, respectivamente) (Sánchez *et al*, Biological Chemistry Hoppe-Seyler (1988) 369: 1005-1008). Esta concentración de lactoferrina podría 20 permitir la auto-descontaminación natural de la leche en la condición que se describe aquí, es decir, cuando existen bajas concentraciones de iones, condición obtenida durante el proceso de desionización de la leche o de sus derivados.

Efectivamente, la descontaminación microbiana es obtenida porque la desionización de la leche sumada a la actividad inhibidora de lactoferrina, componente natural de la leche, sobre la H^+ -ATPasa bacteriana provoca la inhibición 25 o la muerte de los microorganismos.

El procedimiento objeto de la invención comprende las siguientes etapas:

a. Desionización de la muestra de leche o de lactosuero mediante un proceso de difusión selectiva iónica a 30 través de una membrana semipermeable, que se utiliza para la separación o eliminación de iones presentes en la leche o el lactosuero. La membrana semipermeable posee un tamaño de poro reducido que permite la difusión de componentes lácteos de baja masa molecular (ej.: iones) pero impide la difusión de la mayoría de otras moléculas o macromoléculas constituyentes de la leche o del lactosuero. En una realización preferida, la membrana semipermeable posee un tamaño de poro de exclusión entre 0,01 y 10 kDa.

35 La desionización de la leche se produce por la difusión pasiva o activa de los iones a través de la membrana semipermeable.

b. Evaluación microbiológica de la muestra para determinar el número de microorganismos presentes en la 40 misma. Mediante esta evaluación, se estima la necesidad de volver a repetir la etapa a) para una nueva desionización, o se estima proseguir con la siguiente etapa.

c. Reconstitución de la muestra por adición de soluciones concentradas que contienen cualquiera de los componentes inorgánicos y orgánicos que hayan sido eliminados en la etapa de desionización.

45 En una realización preferida, la leche o el lactosuero es de vaca, oveja, cabra, búfalo o humana.

En otra realización preferida, la desionización se realiza mediante un proceso de diálisis. En una realización más preferida, el fluido utilizado para obtener la desionización es agua, agua destilada o una solución acuosa.

50 En otra realización preferida, la leche o lactosuero están contenidos en una membrana semipermeable tubular, la cual a su vez estará sumergida en un fluido, que es preferentemente agua u otra solución acuosa, con una concentración iónica inferior a la presente en la leche o lactosuero, de manera que los iones contenidos en la leche difunden a través de la membrana pasando al fluido. En una realización más preferida, el fluido utilizado para obtener la desionización es agua, agua destilada o una solución acuosa.

55 Tal como es usado aquí, la diálisis es definida como un proceso de difusión selectiva iónica a través de una membrana que se utiliza para la separación de moléculas de diferente tamaño. La difusión selectiva iónica puede ser acelerada bajo la influencia de un campo eléctrico continuo mediante el proceso denominado electrodialisis.

60 En otra realización preferida la desionización se realiza mediante un proceso de electrodialisis. En una realización más preferida, el fluido utilizado para obtener la desionización es agua, agua destilada o una solución acuosa.

65 En una realización específica, los componentes inorgánicos y orgánicos de la etapa c) son sodio, potasio, cloro, calcio, magnesio, fosfato, sulfato, lactosa y/o vitaminas.

La descontaminación microbiana alcanzada por el procedimiento aquí descrito es cuantitativamente superior, o cuando menos similar, a la obtenida durante el proceso de pasteurización térmica, aventajando a ésta en que no existen

cambios de sabor y sus componentes naturales mantienen sus propiedades físico-químicas y su capacidad bioactiva. Ventaja añadida es la simultánea eliminación de sustancias tóxicas presentes potencialmente en la leche. Este procedimiento podría ser considerado una “técnica de pasteurización no térmica” según la modificación del término pasteurización recogida en el documento Requisite Scientific Parameters for Establishing the Equivalence of Alternative Methods of Pasteurization, adoptada el 24 de Agosto de 2004 por el USDA National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (NACMCF), y publicada en el Journal of Food Protection (2006) 69(5): 1190-1216.

5 De manera similar, el procedimiento aquí descrito aventaja a la técnica de filtración de la leche evitando los problemas de obturación de las membranas por componentes complejos (ej. caseína, grasas, etc) y los altos costes que
10 supone la filtración completa o fraccionada de la leche.

15 Por otra parte, el procedimiento descrito de pasteurización no térmica tiene otras ventajas adicionales tales como: a) permite la descontaminación química, entendiendo como tal la eliminación de sustancias químicas tóxicas o no deseadas presentes potencialmente en la leche, tales como antibióticos, fármacos, etc. que debido a su baja masa molecular
20 también pueden ser eliminadas durante el proceso de diálisis. Cuando proceda, facilita además la descontaminación por isótopos radiactivos según ha sido descrito previamente (Greatorex J.L. y Glass W. Advanced study of milk decontaminated by electrodialysis (1965)); b) permite la descontaminación biológica accidental o provocada, entendiendo como tal la eliminación de sustancias biológicas tóxicas, tales como toxinas fungicas (ej. micotoxinas) o bacterianas (ej. toxina botulínica) utilizando las membranas de diálisis apropiadas. Por otra parte, disminuye la concentración de urea presente de manera natural en la leche (aproximadamente entre 6-10 veces); y c) supone una disminución de los costes energético y ambiental para las plantas industriales que pongan en práctica dicho procedimiento al requerir bajos insumos energéticos en sus etapas principales.

25 La invención resulta de aplicación en sectores de la industria alimentaria que precisen un método de pasteurización no térmica, y en particular para industrias que procesen leche y productos lácteos.

Explicación de una forma de realización preferente

30 Para una mejor comprensión de la presente invención, a continuación se describen dos ejemplos de realización preferente, descritos en detalle, que deben entenderse sin carácter limitativo del alcance de la invención.

Ejemplo 1

35 Se realizó una diálisis estática a pequeña escala de una muestra de leche cruda de vaca.

Proceso de diálisis estática

40 Se utilizó una muestra de leche cruda de vaca (5 ml) la cual fue introducida en membranas de diálisis semipermeables de forma tubular con un poro de exclusión $\geq 0,5-1$ kDa. Se tomaron alícuotas para determinar la contaminación microbiana antes de realizar el proceso (Tabla 1). La diálisis estática se realizó frente a un volumen de agua destilada entre 500-800 veces superior al de la muestra depositada en la membrana y mantenida a 4°C durante un tiempo total de diálisis de 6 horas, con diez cambios de agua destilada realizados a intervalos regulares. Al cabo de ese tiempo (6 h) se extrajo el total de la leche contenida en la membrana y se depositó en un tubo de plástico (polipropileno) estéril.
45 Se evaluaron los posibles cambios de volumen de la muestra debidos a cambios osmóticos. Alícuotas de la muestra fueron extraídas para determinar la contaminación microbiana al final del proceso de diálisis (Tabla 1). La muestra dializada restante fue conservada a 4°C. Estudios preliminares evaluaron el progreso de la diálisis determinando los cambios de la conductividad de la muestra mediante un conductímetro.

50 Análisis microbiológico

55 Alícuotas de la muestra de leche tomadas antes y después de la diálisis fueron utilizadas para determinar el número de microorganismos mesófilos contaminantes, expresando su número como unidades formadoras de colonias por mililitro de muestra (u.f.c./ml). La técnica de análisis empleada fue la dilución seriada y recuento en placas de Petri, utilizando medios de cultivo estándar. El contejo de las colonias aisladas en las placas se realizó a las 24 h.

60 La identificación bacteriana se realizó utilizando test comerciales. Como control de calidad de la identificación y del contejo se llevaron a cabo varias identificaciones bacterianas y recuentos en laboratorios especializados independientes (Tabla 1).

65 Análisis físico-químico

65 Se extrajeron alícuotas de la muestra de leche antes y después de la diálisis para determinar posibles cambios en la composición físico-química. Los análisis fueron realizados en laboratorios especializados independientes. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Ejemplo 2

Se realizó una diálisis de flujo continuo a pequeña escala de una muestra de leche cruda de vaca.

5 *Proceso de diálisis de flujo continuo*

Se utilizó una muestra de leche cruda de vaca (8-10 ml) la cual fue introducida en membranas semipermeables de forma tubular que a su vez estaban contenidas en un tubo impermeable e independiente por el que fluía agua destilada. Las membranas de diálisis tenían un poro de exclusión $\geq 0,1-0,5$ kDa. Se tomaron alícuotas para determinar 10 la contaminación microbiana antes de realizar el proceso (Tabla 1). La diálisis se realizó frente a un flujo continuo (3 ml/min) de agua destilada mantenida a 4°C durante un tiempo total de diálisis de 2 horas. Al cabo de ese tiempo se extrajo el total de la leche contenida en la membrana y se depositó en un tubo de plástico (polipropileno) estéril. Se evaluaron los posibles cambios de volumen de la muestra debidos a cambios osmóticos. Alícuotas de la muestra fueron 15 extraídas para determinar la contaminación microbiana al final del proceso de diálisis (Tabla 1). La muestra dializada restante fue conservada a 4°C. Los análisis microbiológicos y físico-químicos fueron realizados como se describió en el Ejemplo 1. El tiempo de diálisis necesario fue determinado en un estudio preliminar mediante a) el seguimiento de la disminución de la conductividad de la muestra, y b) la determinación de cationes en la leche mediante espectrometría de masas realizada durante el proceso de diálisis.

20 *Evaluación comparativa de la conservación de muestras de leche dializada y leche pasteurizada*

Para determinar la eficacia del procedimiento objeto de invención, se procedió a evaluar la conservación de muestras dializadas comparándolas con muestras de leche pasteurizada de vaca. Las muestras dializadas y las pasteurizadas fueron mantenidas a 4°C durante 10 días. Durante este tiempo se extrajeron diariamente alícuotas para medir su pH. 25 La acidificación de la muestra a valores de $\text{pH} \leq 6,4$ fue tomada como un parámetro indicativo del deterioro de la misma. El pH fue medido directamente con un pHmetro y también fueron utilizadas tiras indicadoras de pH.

Para la evaluación comparativa se realizaron cinco ensayos independientes con muestras de leche de vaca con 30 distinta procedencia. La leche cruda y la leche pasteurizada alcanzaron un $\text{pH} \leq 6,4$ a los cuatro y cinco días, respectivamente (valor resultante de la media obtenida en diferentes ensayos). De manera ventajosa, la muestra de leche dializada alcanzó ese valor pH a los siete días. En todos los ensayos la leche dializada superó a la pasteurizada en tiempo de conservación.

35

TABLA 1

Nº de microorganismos (u.f.c./ml)	Leche cruda (sin dializar)	Leche dializada	Leche pasteurizada
Diálisis estática	$3,9 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$
Diálisis de flujo continuo		$1,5 \times 10^3$	

45

TABLA 2

Composición de la leche (vaca)	Leche cruda (sin dializar)	Leche dializada	Leche pasteurizada
Proteína (% m/m)	3,75	3,49	3,25
Grasa (% m/m)	1,55	1,45	2,48
Extracto Seco Magro (% m/m)	9,19	8,84	8,57
Lactosa (% m/m)	4,74	3,65	4,69
Urea (mg/Kg)	356	41,6	281
Células somáticas (cel/ml x 10^3)	155,33	145	164

65

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la descontaminación microbiana de leche o lactosuero que comprende las siguientes etapas:

- 5 a. desionización de la muestra de leche o de lactosuero mediante un proceso de difusión selectiva iónica a través de una membrana semipermeable con un tamaño de poro que permite la difusión iónica pero impide la difusión de otras moléculas o macromoléculas constituyentes de la leche o del lactosuero;
- 10 b. evaluación microbiológica de la muestra para determinar el número de microorganismos presentes en la misma y la necesidad de repetición de la etapa a);
- c. reconstitución de la muestra por adición de soluciones concentradas que contienen cualquiera de los componentes inorgánicos y orgánicos que han sido eliminados en la etapa de desionización.

15 2. Procedimiento, según la reivindicación 1, **caracterizado** por que la leche o el lactosuero es de vaca, oveja, cabra, búfalo o humana.

20 3. Procedimiento, según la reivindicación 1, **caracterizado** por que la membrana semipermeable posee un tamaño de poro de exclusión entre 0,01 y 10 kDa.

4. Procedimiento, según la reivindicación 1, **caracterizado** por que la desionización se realiza mediante un proceso de diálisis.

25 5. Procedimiento según la reivindicación 1 **caracterizado** por que la membrana semipermeable es tubular, contiene en su interior la leche o el lactosuero y está sumergida en un fluido con una concentración iónica inferior a la presente en la leche o el lactosuero.

30 6. Procedimiento, según la reivindicación 1, **caracterizado** por que la desionización se realiza mediante un proceso de electrodialisis.

7. Procedimiento, según la reivindicación 5, **caracterizado** por que la desionización se realiza mediante un proceso de electrodialisis.

35 8. Procedimiento según las reivindicaciones 4, 5, 6 ó 7 **caracterizado** por que el fluido utilizado para obtener la desionización es agua, agua destilada o una solución acuosa.

40 9. Procedimiento, según la reivindicación 1, **caracterizado** por que los componentes inorgánicos y orgánicos de la etapa c) son sodio, potasio, cloro, calcio, magnesio, fosfato, sulfato, lactosa y/o vitaminas.

45

50

55

60

65



②1 N.º solicitud: 201100659

②2 Fecha de presentación de la solicitud: 06.06.2011

③2 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤1 Int. Cl.: **A23C3/00** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	WO 2008002492 A2 (GOOD COW COMPANY) 03.01.2008, todo el documento.	1-9
A	US 6326044 B1 (LINDQUIST) 04.12.2001, todo el documento.	1-9
A	WO 9221245 A1 (UNIV. UTAH) 10.12.1992, todo el documento.	1-9
A	ANDRÉS, M.T. et al., 'Antimicrobial mechanism of action of transferrins: selective inhibition of H ⁺ -ATPase.', ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 2010 Oct, Vol. 54, No. 10, páginas 4335-4342, ISSN: 0066-4804, Epub: 12.07.2010, todo el documento.	1-9
A	VIEJO-DÍAZ, M. et al., 'Potassium efflux induced by a new lactoferrin-derived peptide mimicking the effect of native human lactoferrin on the bacterial cytoplasmic membrane.', BIOCHEMISTRY (MOSC), 2003, Vol. 68, No. 2, páginas 217-227, ISSN: 0006-2979, todo el documento.	1-9

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 21.10.2011	Examinador J. L. Vizán Arroyo	Página 1/4
--	----------------------------------	---------------

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

A23C

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, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 21.10.2011

Declaración**Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)**

Reivindicaciones 1-9
Reivindicaciones

SI
NO

Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)

Reivindicaciones 1-9
Reivindicaciones

SI
NO

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 se publica.

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	WO 2008002492 A2 (GOOD COW COMPANY)	03.01.2008
D02	US 6326044 B1 (LINDQUIST)	04.12.2001
D03	WO 9221245 A1 (UNIV. UTAH)	10.12.1992
D04	Andrés, M.T. et al., <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> , (2010 Oct), 54 (10): 4335-42.	12.07.2010
D05	Viejo-Díaz, M. et al., <i>Biochemistry (Mosc)</i> , (2003), 68 (2): 217-27.	2003

En D1-D3 se describen diferentes procedimientos de esterilización de productos lácteos.

En D4-D5 se estudia el mecanismo de la acción antimicrobiana de las transferrinas (Lactoferrina y Transferrina).

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

1. NOVEDAD (Art. 4.1. y Art. 6.1. de la Ley de Patentes).

1.1. La presente invención satisface el criterio establecido en el Art. 4.1. de la Ley de Patentes porque el objeto de la invención, definido en las reivindicaciones 1-9, es nuevo de acuerdo con el Art. 6.1. de la Ley de Patentes.

2. ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 4.1. y Art. 8.1. de la Ley de Patentes).

2.1. Reivindicación independiente 1.

2.1.1. En los documentos D1-D3 que constituyen el estado de la técnica más próximo, se divultan diferentes métodos de esterilización de productos lácteos basados en tratamientos con calor o de filtración de la leche (c.f. D1: reivindicaciones. D2: reivindicaciones. D3: reivindicaciones.).

2.1.2. El problema técnico a resolver por el objeto de la reivindicación independiente 1 puede ser considerado, por consiguiente, como la provisión de un nuevo procedimiento de descontaminación microbiana de leche o lactosuero.

2.1.3. La solución propuesta es el procedimiento de la reivindicación 1 basado en la actividad antimicrobiana de las transferrinas que comprende básicamente la desionización de la muestra de leche o lactosuero mediante un proceso de difusión selectiva iónica a través de una membrana semipermeable, la evaluación microbiológica de la muestra y, finalmente, la reconstrucción de la muestra mediante la adición de los componentes eliminados en la primera etapa.

En el estado de la técnica no se han divulgado procedimientos de esterilización de productos lácteos basados en la actividad antimicrobiana de las transferrinas, aunque el mecanismo de acción de dicha actividad haya sido descrito previamente (c.f. D4, D5).

Por consiguiente, en el estado de la técnica más próximo, constituido por los documentos D1-D5, no se ha publicado ningún procedimiento de descontaminación microbiana de leche o lactosuero que comparta las mismas características técnicas del procedimiento de la invención. Además, dicho procedimiento no se deduce de una manera obvia mediante la combinación de métodos descritos previamente. Por consiguiente, el objeto de protección de la reivindicación independiente 1 y el de las dependientes 2-9 se considera inventivo.

2.2. La presente invención satisface el criterio establecido en el Art. 4.1. de la Ley de Patentes porque el objeto de la invención, definido en las reivindicaciones 1-9, implica actividad inventiva de acuerdo con el Art. 8.1. de la Ley de Patente.