(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 395 166**

(21) Número de solicitud: 201100895

(51) Int. Cl.:

C12H 1/00 (2006.01)
C12G 1/00 (2006.01)

(12) SOLICITUD DE PATENTE A1

(22) Fecha de presentación:

29.07.2011

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

08.02.2013

(71) Solicitantes:

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ (100.0%)
OTRI-VICERRECTORADO DE I+D+I C/ BENITO PÉREZ GALDOS S/N
11002 CÁDIZ ES

(72) Inventor/es:

ROLDÁN GÓMEZ, Ana María;
PALACIOS MACÍAS, Víctor Manuel y
LASANTA MELERO, Cristina

(54) Título: **PROCEDIMIENTO PARA LA APLICACIÓN INDUSTRIAL DE LAS LISOZIMAS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE VINOS DE CRIANZA BIOLÓGICA.**

(57) Resumen:

Procedimiento para la aplicación industrial de las lisozimas en el proceso de elaboración de vinos de crianza biológica, como tratamiento preventivo y curativo de alteraciones producidas por bacterias lácticas.

Es de aplicación al sector vinícola, concretamente en bodegas tradicionales de elaboración de vinos de crianza biológica. Se propone un control previo del estado y la actividad del velo de flor, de modo que si la bota está desprovista de velo o su actividad celular es baja es necesaria una siembra posterior de velo, mientras que si presenta un velo con actividad media o alta no es necesaria la siembra. La lisozima debe añadirse a la bota empleando los utensilios clásicos para el trasiego de los vinos en las soleras (canoa y rociador). El procedimiento no produce ningún efecto sobre las levaduras de velo de flor, e indirectamente sobre la calidad y las características sensoriales de los vinos de crianza biológica.

ES 2 395 166 A1

DESCRIPCIÓN

PROCEDIMIENTO PARA LA APLICACIÓN INDUSTRIAL DE LAS LISOZIMAS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE VINOS DE CRIANZA BIOLÓGICA.

SECTOR DE LA TÉCNICA

El área científica al que corresponde la invención es el área de Tecnología de Alimentos, y el sector industrial en el que se puede aplicar es el vinícola, y más concretamente en las bodegas tradicionales de elaboración de vinos de crianza biológica que se concentran en las zonas de Jerez, Huelva, Montilla-Moriles y Jura (Francia).

ESTADO DE LA TÉCNICA

La "crianza biológica", también denominada "crianza bajo velo de flor" es un fenómeno constituido por el desarrollo de un cultivo filmógeno sobre la superficie del vino de algunas especies de levaduras del género Saccharomyces (2,7, 22). La levadura utiliza el etanol y otros componentes del vino como fuente hidrocarbonada, mediante un metabolismo aeróbico (2,3). Como consecuencia de este metabolismo se van consumiendo y transformando numerosos componentes del vino para surgir otros, fenómenos que van dando al vino cualidades sensoriales específicas que tras un periodo de cuatro a cinco años, lo definen como “fino” en las localidades de Jerez de la Frontera y el Puerto de Santa María, o “manzanilla” en la localidad de Sanlúcar de Barrameda (7,19,22). En la crianza biológica, el velo de flor se constituye como el elemento fundamental para el proceso en si, y también para la estabilidad biológica y fisicoquímica de los vinos. En los sistemas industriales de crianza biológica, junto con la levadura de velo de flor puede coexistir, además de una cierta proporción de otras levaduras del género Non-Saccharomyces, una población bacteriana más o menos importante de morfología principalmente bacilar, entre la que destacan las bacterias lácticas (18,23).

Bajo determinadas condiciones, como la presencia de altas concentraciones de ácido glucónico (derivados de la presencia de *Botrytis cinerea* en la vendimia) en los vinos de crianza biológica, se puede desencadenar un desarrollo importante de las bacterias lácticas, muchas veces favorecido por las condiciones anaerobias que establece el propio metabolismo del velo de flor en el seno del vino (23,25).

Como consecuencia de ello, y según los géneros o especies de las bacterias predominantes en los vinos (*Leuconostoc*, *Pediococcus* u *Oenococcus*), se desencadenan fenómenos de alteración como el "picado láctico" o "el ahilado", que conducen en la mayoría de los casos a un aumento de la acidez volátil y a una pérdida de los atributos sensoriales característicos de la crianza (8,15,23).

La técnica actualmente empleada para evitar el desarrollo de bacterias lácticas en los vinos de la zona de Jerez, a la vez que un buen control del estado sanitario e higiene de la bodega, es la adición de sulfuroso al vino. Este posee, entre otras, una acción antiséptica sobre las bacterias. Sin embargo, las levaduras en estado de velo de flor, son muy sensibles al anhídrido sulfuroso, por lo que la dosis añadida a estos vinos está muy limitada, resultando insuficiente para controlar el desarrollo de estas poblaciones bacterianas.

Algunos estudios han puesto de manifiesto la eficacia de la aplicación de lisozimas en vinos blancos, rosados y tintos para eliminar bacterias lácticas (1,4,5,6,7,9,10,11,17). Estas lisozimas, actúan degradando la pared de las bacterias gram positivas, grupo donde se encuentran las bacterias lácticas, provocando su muerte por choque osmótico. En estos estudios se revela que la lisozima no tiene ningún efecto sobre las levaduras en la fase fermentativa, por lo que su uso se ha generalizado fundamentalmente para inhibir, retrasar o ayudar a parar la fermentación maloláctica en vinos blancos y tintos (9,10,13,20,21,24,26). De forma indirecta el uso de lisozima, al inhibir el desarrollo de las bacterias lácticas, reduce los niveles de producción de histaminas y otras aminas biogénicas en vinos (12,16). La Comunidad Económica Europea (CEE) en base a la aceptación de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV), tiene autorizado desde 1997 la utilización de la lisozima en la elaboración de vinos (11,14).

En estudios recientes publicados por el equipo solicitante, se ha podido constatar que la lisozima en pequeñas dosis 5-15 g/hL reduce las poblaciones de bacterias lácticas en un 99% en los vinos de crianza biológica con una graduación alcohólica entre 15-15,5%, por lo que la lisozima puede ser una buena alternativa como tratamiento preventivo y curativo de picados lácticos y ahilados en estos vinos (15).

REFERENCIAS CITADAS:

1. Amati, A., Chinnici, F., Piva, A. (1994). Use of lysosyme in enology to control malolactic fermentation. Industrie delle Bevande. 23 (131), 215-221.
2. Bravo, F. (1986). Crianza biológica del vino: procedimiento tradicional de vinos finos de D.O. Jerez y D.O. Montilla Moriles. Enol. y Enotec., Marzo, 15-19.
3. Casas Lucas, J.F. (1967). Procédés d'elaboration des vins de Xérèz. En : Fermentations et Vinifications, 2, 495-508. INRA, Paris.
4. Chinnicy, F., Piva, A., Arfelli, G. y Amati, A. (1996). Effects of oxygenation and lysozyme on the red grape must composition. Industrie delle Bevande. 25(146), 571-576.
5. Daeschel, M., Green, L. y Watson, T. (1995) Antimicrobial effects and interactions of lysozyme in wines. Symposium International d'Oenologie, 5 th, Bordeaux, 348-351.
6. Delfini, C. (2004) Resistance Screening Essay of Wine Lactic Acid Bacteria on Lysozyme: Efficacy of Lysozyme in Unclarified Grape Musts. Jal of Agricultural and Food Chemistry. 52(7), 1861-1866.
7. Domecq, B., (1982). Ageing of Sherry under flor. International Symposium on Viticulture, 5. 5. 5. Vinification and de traitement and handling of wine.

8. Eliseeva, G., Nagornaya, S., Zherebilo, O., Podgorsky, V. y Ignatova, E. (2001). Lactic acid bacteria and yeast as means of decreasing wine acidity. Applied Biochesmistry and Microbilogy. 37(4), 419-424.

9. Fuguet, J., Ferrer, N., Fort, F., Arola, L. y Zamora, F. (1999). Inhibition of fermentation. Alim.Equip. Tecnol. 18(10), 133-138.

10. Gao, Y., Zhang, G., Krentz, S., Darius, S., Power, J. y Lagarde, G. (2002). Inhibition of spoilage lactic acid bacteria by lysozyme during wine alcoholic fermentation. Australian Journal of Grape and Wine Research. Vol. 8, 76-83.

11. Gerbaux, V., Meistermann, E., Cottererau, Ph., Barriere, Christiane, Cuinier, C. Berger, J.L. y Villa, A. (1999) Use of lysozyme in enology. Boletin de la OIV, 1999, 72 (819-820), 348-373.

12. Gerbaux, V., Monamy, C. (2000). Biogenic amines in Burgundy wines: levels, origins and roles in wine. Revue Francaise d'Oenologie. 183, 25-28.

13. Gerbaux, V., Villa, A., Monmy, C. y Bertrand, A. (1997). Use de lysozyme to inhibit malolactic fermentation and to stablilize wine after malolactic fermentation. Am. J. Enol. Vitic. 48(1), 49-54.

14. Gerland, C. y Vialatte, M. (2002). Applications of lysozyme in enology – technical report. Mitteilungen Klosterneuburg. 52 (3), 116-121.

15. Lasanta, C.; Roldán, A., Caro, I., Pérez, L.y Palacios, V. (2010) Use of lysozyme for the prevention and treatment of heterolactic fermentation in the biological aging of sherry wine. Food Control, 21, 1442-1447.

16. Lonvaud-Funel, A. (2001) Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. Microbilogy Letters. 199 (1), 9-13.

17. Marchal, R., Chaboche, D., Douillard, R. y Jeandet, P. (2002). Influence of lysozyme treatments on champagne base wine foaming. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50(6), 1420-1428.

18. Martínez, P., Pérez-Rodríguez, L. y Benítez, T. (1997). Velum formation by flor yeast isolated from Sherry Wine. Am. J. Enol. Vitic., 48, 1, 55-61.

19. Martínez-Ossa, E., Caro, I., Bonat, M., Pérez-Rodríguez, L. y Domecq, B. (1987). Dry extract in sherry and its evolution in the aging process. Am. J. Enol. Vitic., 38, 4, 321-325.

20. Minarik, E. (2002). Lysozyme - a regulator of malolactic fermentation in wine. Vinohrad. 40 (1), 10-11.

21. Osborne, J., Mira de Orduna, R., Pilone, G. y Liu, S. (2000). Acetaldehyde metabolism by lactic aced bacteria. Microbilogy Letters. 191(1), 51-55

22. Pérez, L. (1991). La Crianza del vino de velo de flor. VitiVinicultura, 19-22.

23. Pérez, L., Varcárcel, M.J.; González, P. y Domecq, B. (1991). Influence of Botrytis infection of the grapes on the biological aging process of fino sherry. Am. J. Enol. Vitic., 42, 1, 58-62.

24. Pilatte, E. (2000). Lysozyme effect on different strains of Oenococcus oeni. Significance for developement of malolactic fermentation. Revue francaise d'Oenologie, 185, 26-29.

25. Valcárcel, M.J. (1990).Control de calidad del estado sanitario de la uva en la zona del Jerez. Vitivinicultura. 5, 42-49.

26. Zamora, F. (2003). La lisozima: una nueva herramienta para la vinificación. Revista Enólogos. 32-36.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

En la actualidad no existe una técnica u procedimiento efectivo para prevenir y/o tratar los picados lácticos en los vinos sometidos al proceso de crianza biológica. El producto enológico más común empleado en los vinos por su acción antiséptica general y efectiva sobre las bacterias lácticas es el anhídrido sulfuroso. Sin embargo, su aplicación o dosis está muy limitada puesto que las levaduras de flor son muy sensibles a esta sustancia resultando el tratamiento insuficiente para controlar el desarrollo de estas poblaciones bacterianas.

Como medida preventiva para minimizar el desarrollo de estas bacterias lácticas en los vinos de crianza, algunas bodegas realizan una rigurosa selección de la vendimia, eliminando o segregando todas aquellas partidas de uva con pudrición gris, con el fin de reducir los contenidos en ácido glucónico de los mostos, que es uno de los principales sustratos para el crecimiento de las bacterias lácticas. Hay que tener en cuenta que las condiciones de crianza com la limitación de oxígeno en el seno del vino, la gran proporción de lías en los fondos de las botas, y el rango de temperatura (18-23ºC) establecen el nicho óptimo para el crecimiento de estos microorganismos.

En estudios recientes publicados por el equipo solicitante, se ha podido constatar que la lisozima en pequeñas dosis 5-15 g/hL reduce las poblaciones de bacterias lácticas en un 99% en los vinos de crianza biológica con una graduación alcohólica entre 15-15,5%, por lo que la lisozima puede ser una buena alternativa como tratamiento preventivo y curativo de picados lácticos y ahilados en estos vinos (15). Cuando la dosis aplicada es inferior a 5 g/hL se reduce significativamente la efectividad, no produciéndose efecto algunos por debajo de las dosis de 1,5 g/hL.

Por otro lado, se ha podido comprobar que la lisozima, cuando se aplica bajo determinadas condiciones, puede tener un efecto inhibidor en el desarrollo de las levaduras de velo de flor, que puede afectar tanto al proceso normal de crianza biológica como a la calidad de los vinos producidos. Cuando la lisozima se añade en dosis superior a 1 g/hL sobre vinos de crianza biológica (15-15,5% vol)

desprovistos de velo de flor en la superficie del vino, las levaduras (inoculadas en el seno del vino o presentes de forma natural y viables en las lías o cabezuelas), presentan dificultades para ascensión, el desarrollo y la agregación en la superficie del vino, afectando severamente a su hidrofobicidad o flotabilidad. Bajo estas condiciones las levaduras no tienen capacidad para formar velos estables y cubiertos, inhibiéndose el metabolismo celular y la producción de los compuestos característicos de la crianza biológica. A escala industrial este efecto se ha manifestado en todas aquellas botas de vino tratadas que no presentaban inicialmente velo de flor en la superficie (botas lavadas y rociadas con vino) o bien lo presentaba pero sin ningún tipo de actividad (velo muerto). Posteriormente se han podido comprobar estos mismos efectos, cuando las levaduras de flor se desarrollan en cultivo sumergido, en un fermentador provisto de agitación y entrada por difusión de aire. Por tanto la lisozima tiene un efecto directo sobre el crecimiento y la agregación de las levaduras de velo de flor, cuando estas tienen que desarrollarse inicialmente en el seno del líquido (cultivo sumergido) antes de su ascensión y proliferación superficial. Las levaduras que llegan a ascender a la superficie no tienen capacidad de agregación y su crecimiento está muy limitado. Por todo ello, la aplicación de lisozimas de modo convencional puede tener un efecto negativo sobre el proceso de crianza biológica.

Sin embargo, cuando la lisozima se aplica, en las dosis prescritas (5-15 g/hL), sobre un vino de crianza biológica, que bien ya presenta un velo de flor con el mínimo estado de agregación (puntos o islotes pequeños aislados), o bien se injerta o cultiva en superficie posteriormente (después de la aplicación), mediante asa o espátula de siembra, las levaduras no manifiestan alteración alguna tanto en el crecimiento, como en la evolución en los diferentes estados de agregación (cubierto fino, cubierto rugoso), y la flotabilidad en el vino. Bajo estas condiciones, el metabolismo de las levaduras no sufre ningún tipo de modificación, y el vino presenta la evolución sensorial prevista en este tipo de proceso.

Por tanto, para que sea efectiva la aplicación de las lisozimas tanto para el tratamiento preventivo como curativo es perceptivo en los casos de botas

desprovistas de velo de flor o con velo pero sin actividad (levaduras muertas), la siembra posterior en superficie de un inóculo de velo de flor activo procedente de otra bota u depósito de cultivo. En todo caso, la siembra se tiene que realizar en superficie mediante asa, espátula industrial o cualquier herramienta con misma funcionalidad, que asegure la suspensión y la flotabilidad del inóculo en el vino.

MODO DE REALIZACIÓN DE LA INVENCIÓN

Para la aplicación industrial de la lisozima en vinos de crianza biológica son necesarios los siguientes equipos de control, productos y utensilios:

a) Oxímetro provisto de una sonda selectiva con capacidad para medir la concentración de oxígeno en el aire

b) "canoa" o recipiente acoplado a un "rociador" para la adición de la lisozima en las botas de vino que aseguren su difusión en el conjunto del vino, sin afectar a la estructura del velo, si lo hubiere

c) lisozima comercial deshidratada

d) Asa, espátula industrial u otro utensilio que asegure la suspensión del velo en la superficie del vino en la bota.

La metodología para la aplicación industrial de lisozima como tratamiento preventivo o curativo en botas de Jerez (500 litros de capacidad) consiste en:

1°. Comprobar la presencia o no de flor en la superficie del vino y medir la actividad del velo mediante un oxímetro, introduciendo la sonda por la abertura o boca de la bota, y dejándola caer hasta alcanzar un punto fijo en el espacio vacío de la bota (nunca sumergir en el líquido).

2°. Preparar la lisozima según las indicaciones del fabricante.

3°. En todo caso se recomienda una dosis preventiva de 5 a 10 g/hL y una dosis curativa de 10 a 15 g/hL

4°. La adición de la solución de lisozima se realizará mediante "canoa" y rociador para asegurar su difusión en el conjunto del vino. Estos utensilios son comunes y

están disponibles en la mayoría de las bodegas con solerajes industriales (Marco de Jerez, Montilla-Moriles, Condado de Huelva)

4º Si la superficie del vino está cubierta por velo de flor y sobre todo la concentración de oxígeno en el espacio vacío está por debajo de 2-3 ppm no es necesario la siembra posterior.

5º Si por el contrario se advierte que no existe velo de flor o bien existe pero la concentración de oxígeno presenta valores por encima de 4-5 ppm (velo con poca actividad o muerto) es necesario la siembra de levaduras en superficie tras la aplicación de la lisozima.

6º. Aplicación si procede de siembra de levadura superficial mediante asa o espátula u otro procedimiento similar asegurando que el inóculo o parte de él queda flotando en la superficie del vino.

7º. El inóculo de levadura procederá de otra bota o depósito de cultivo, asegurándose que esté en máximo estado de agregación (cubierto y rugoso) y con máxima actividad (concentración de oxígeno en el espacio vacío < 1 ppm).

8º. A las 2 semanas de la siembra y siempre que las condiciones de crianza sean las adecuadas, la superficie del vino tratado estará cubierta de velo de flor y con una concentración de oxígeno < 1 ppm.

APLICACIÓN INDUSTRIAL

Este procedimiento o metodología de trabajo previene o trata los picados lácticos en vinos de crianza sin ningún efecto sobre las levaduras de velo de flor, sobre la calidad, ni sobre las características sensoriales de los vinos de crianza biológica.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la aplicación industrial de las lisozimas en el proceso de elaboración de vinos de crianza biológica, que comprende las siguientes fases:

a) Comprobación de la presencia del velo de flor y su actividad mediante un oxímetro, cuya sonda se introducirá por la boca de la bota, dejándola suspendida sin que entre en contacto con la superficie del vino.

b) Preparación de la lisozima, según las instrucciones del fabricante, en la dosis recomendada:

- De 5 a 10g/hL como tratamiento preventivo en botas de vino con altas concentraciones de ácido glucónico.

- De 10 a 15 g/hL como tratamiento curativo en caso de que se detecte un picado láctico leve o severo.

c) Empleo conjunto de "canoa" o recipiente acoplado a un "rociador", para asegurar una difusión lenta y precisa de la lisozima en el conjunto del vino, evitando que entre en contacto directo con el velo de flor.

d) En caso de que no exista velo de flor, o la concentración de oxígeno sea superior a 4-5 ppm, tras la aplicación de la lisozima se procederá a la siembra de levaduras, empleando para ello un asa, espátula industrial u otro utensilio que asegure la suspensión del velo en la superficie del vino en la bota.

2. Procedimiento para la aplicación industrial de las lisozimas en el proceso de elaboración de vinos de crianza biológica, según reivindicación 1, caracterizada por que el inóculo de levadura procede de otra bota o depósito de cultivo, donde se haya comprobado que el velo está en máximo estado de agregación y que posee máxima actividad.

3. Uso del procedimiento, según reivindicaciones 1 y 2, para prevenir o tratar alteraciones producidas por bacterias lácticas en vinos de crianza biológica, sin afectar a las levaduras de velo de flor.

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 201100895

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 29.07.2011

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) **Int. Cl. :** ***C12H1/00*** (2006.01)
C12G1/00 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	LASANTA, C., et al. Use of lysozyme for the prevention and treatment of heterolactic fermentation in the biological aging of sherry wines. 2010. *Food Control*. Vol. 21, páginas 1442-1447.	1-3
A	WO 0006692 A1 (CANADIAN INOVATECH, INC) 10.02.2000	1-3
A	GERBAUX, V., et al. Use of lysozyme to inhibit malolactic fermentation and to stabilize wine after malolactic fermentation. 1997. *Am. J. Enol. Vitic*. Vol. 48(1), páginas 49-54.	1-3

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	Examinador	Página
14.02.2012	I. Rueda Molíns	1/4

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

C12H, C12G

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, TXT

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 14.02.2012

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-3	**SI**
	Reivindicaciones		**NO**
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	1-3	**SI**
	Reivindicaciones		**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	LASANTA, C., et al. Use of lysozyme for the prevention and treatment of heterolactic fermentation in the biological aging of sherry wines. *Food Control*. Vol.21, páginas 1442-1447.	2010
D02	WO 0006692 A1 (CANADIAN INOVATECH, INC)	2000
D03	GERBAUX, V., et al. Use of lysozyme to inhibit malolactic fermentation and to stabilize wine after malolactic fermentation. *Am. J. Enol. Vitic*. Vol. 48(1), páginas 49-54.	1997

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

NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA (Artículos 6 y 8 LP11/1986)

La solicitud de patente reivindica un procedimiento para la aplicación industrial de las lisozimas en el proceso de elaboración de vinos de crianza biológica, que comprende cuatro fases: A) Comprobación de la presencia del velo de flor y su actividad mediante un oxímetro. B) Preparación de la lisozima. C) Difusión de la lisozima en el conjunto del vino, evitando que entre en contacto directo con el velo de flor. D) Siembra de levaduras, en caso de que no exista velo de flor, o la concentración de oxígeno sea superior a 4-5 ppm.

Los documentos D01, D02 y D03 divulgan el empleo de lisozimas en vinos para la eliminación de bacterias lácticas. En ninguno de estos documentos se detalla un procedimiento para la aplicación industrial de las lisozimas como el reivindicado en la solicitud de patente. Por tanto, las reivindicaciones 1-3 presentan novedad y actividad inventiva según lo establecido en los Artículos 6 y 8 LP11/1986.