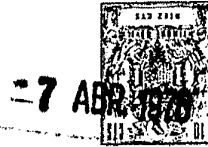


425855



A23C

F.C. 20-5-76

Nº 425.855

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de un...a

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: ALFA-LAVAL AKTIEBOLAGET

RESIDENCIA: ALFA-LAVAL AB, Postfack S-147 00

TUMBA, Suecia.

ENUNCIADO: UN METODO Y SU CORRESPONDIENTE INSTA-

LACION DE TRATAMIENTO DE LA LECHE U

OTROS LIQUIDOS

Prioridad: Patente sueca n.º 7310076-0 del 19-7-73

425855



1

La presente invención se refiere a un método de utilización del peróxido de hidrógeno con el propósito de mejorar la capacidad de conservación de la leche y otros líquidos que pueden actuar como sustratos para microorganismos. El método se caracteriza, en particular, por generar el peróxido en el mismo líquido que se trata, por medios enzimáticos.

5

10

Se han propuesto varias veces anteriormente métodos de tratamiento de leche, especialmente, por adición de peróxido de hidrógeno con objeto de aumentar su capacidad de conservación, incluso desde 1881 si se atiende a ciertas informaciones. Entre los compuestos químicos que pueden añadirse a los alimentos para inhibir el crecimiento de microorganismos, o para destruirlos, el peróxido de hidrógeno es el único aceptado por los comités de especialistas organizados por la International Dairy Federation y FAO.

15

20

No está clara la naturaleza exacta de la acción antibacteriana del peróxido de hidrógeno, pero se ha descubierto en estos últimos años (Oram, JD y Reiter B: La inhibición de streptococos por lactoperoxidasa, tiocianato y peróxido de hidrógeno, Biochem. J. 100 (1966) 373-381) que además del efecto tóxico directo a concentraciones por encima de 20 ppm aproximadamente, el peróxido de hidrógeno puede participar también a bajas concentraciones en un sistema antibacteriano presente de forma natural en la leche y actuar así en forma indirecta.

25

30

El método que supone la adición de peróxido de hidrógeno nunca ha tenido éxito, siendo probablemente la principal razón, sin embargo, la corta duración del efecto del aditivo. Al descomponerse rápidamente, por ejemplo, en

- 3 -
425855

7 APR



1 leche, la concentración del peróxido de hidrógeno cae pron-
to por debajo del nivel de la actividad bactericida. Por
eso ha sido necesario, en el caso del tratamiento descrito
5 con peróxido de hidrógeno, utilizar concentraciones inicia-
les lo suficientemente altas para que la concentración per-
manezca por encima del nivel crítico durante un periodo lo
suficientemente largo o utilizar una concentración inicial
más baja pero repetir el tratamiento a intervalos de pocas
horas.

10 Ninguno de los dos procedimientos es lo bastan-
te adecuado, sin embargo, ya que en el primer caso -y con
cierta extensión aún en el último- la concentración de peró-
xido de hidrógeno será a veces tan alta que algunas sustan-
cias, por ejemplo la leche, quedarán afectadas, algunas ve-
15 ces con una consiguiente disminución en su valor nutritivo.
Una acción perjudicial semejante debida a la concentración
demasiado elevada del peróxido de hidrógeno afectará algu-
nas sustancias como la leche, por ejemplo, en las que se
forma un sistema antibacteriano que aparece en forma natu-
20 ral. El último procedimiento, además, presupone un sistema
de dosificación que es difícil llevar a cabo en condiciones
prácticas.

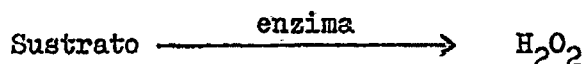
25 Las desventajas mencionadas asociadas a estos
primeros métodos de utilización del peróxido de hidrógeno
para mejorar la capacidad de conservación de la leche y
otros líquidos, que pueden actuar como sustratos para micro-
organismos, se eliminan por aplicación del método al que se
refiere la presente invención. Se ha demostrado, pues, por
experimentos con leche y caldos nutritivos que aplicando el
30 citado método pueden conseguirse condiciones tales que hagan

+25855



1. que la concentración del peróxido de hidrógeno, después de una elevación inicial desde cero, permanezca a un nivel sustancialmente constante justamente por encima del nivel más bajo requerido para inhibir el crecimiento bacteriano por acción directa o indirecta del peróxido de hidrógeno, siendo al mismo tiempo el mencionado nivel lo suficientemente bajo para causar solamente un mínimo de efecto químico sobre el líquido del que se trata, siendo probablemente este efecto más bien insignificante, al menos en el caso de la leche.

5
10
15. Como ya se ha dicho el método según la invención se caracteriza principalmente porque el peróxido de hidrógeno se genera en el líquido del que se trata por medios enzimáticos. Tal obtención enzimática del peróxido de hidrógeno puede llevarse a cabo por cualquiera de los diversos sistemas de enzimas conocidas como oxidoreductasas según el principio siguiente:



20
25 La realización práctica del procedimiento puede llevarse a cabo como se indica en los ejemplos dados a continuación. Se hacen también referencias a los dibujos en los que las Figs. 1 y 2 son diagramas que demuestran el desarrollo de la flora bacteriana en la leche, durante un número de días, con y sin adición de un sistema enzimático según la invención. La Fig. 3 representa, a modo de ejemplo, cómo puede instalarse una planta con dispositivos para la utilización del método según la invención.

30 Por ejemplo, es posible añadir al líquido, del que se trate, un enzima y una sustancia capaz de desprenderse

425855



1978

1 peróxido de hidrógeno bajo la influencia del enzima, siendo
las cantidades del enzima y de la sustancia añadida las ne-
cesarias para producir la concentración requerida de peróxi-
do de hidrógeno. Un sistema como el descrito puede compren-
5 der glucosa y glucosa-oxidasa, que libera peróxido de hidró-
geno en presencia de glucosa.

En la Fig. 1 las ordenadas representan los valo-
res del logaritmo del número de bacterias presente en cada
ml y las abcisas representan el tiempo en días. El diagrama
10 demuestra el desarrollo de la flora bacteriana en la leche
enfriada a una temperatura de 4°C y mezclada con 0,5 por
ciento de glucosa y 2 U de glucosa-oxidasa por ml. El dia-
grama muestra también, con el propósito de comparar, el de-
sarrollo en la leche enfriada a 4°C pero que no ha sido in-
15 cubada con el sistema enzimático.

Como se deduce del diagrama el recuento bacte-
riano cae durante el primer día a 1/100 aproximadamente y
permanece a este nivel durante los 10 días subsiguientes en
la leche que ha sido incubada con el sistema de enzimas,
20 mientras que el recuento de bacterias de la leche no trata-
da permanece sin cambio durante el primer día y después pre-
senta un fuerte cambio durante los siguientes días.

La Fig. 2 representa el desarrollo en dos mues-
tras de leche que se han mantenido a 4°C pero han sido incu-
25 badas con 1 U de glucosa-oxidasa por ml junto con un 0,1
por ciento de glucosa y 0,3 por ciento de glucosa respecti-
vamente.

Como puede deducirse del diagrama la caída en
el recuento bacteriano es menos drástica durante el primer
30 día que en el ejemplo de la Fig. 1 y esta cuenta permanece

425855



1 entonces constante a un nivel algo más alto que en el ejemplo anterior, aunque sólo durante 6 días en la muestra que contiene 0,1 por ciento de glucosa. Se alcanza un resultado mejor con 0,3 por ciento de glucosa.

5 Los ejemplos demuestran que puede protegerse la leche sin dificultad frente al crecimiento bacteriano durante varios días aplicando el método según la invención. Esto permite, por ejemplo, almacenar la leche en la granja durante un tiempo considerable, reduciendo así el número de transportes a la lechería y los costes correspondientes.

10 Se recomiendan las siguientes concentraciones dependiendo del periodo de tiempo durante el que deba protegerse la leche del crecimiento de bacterias:

0,1 - 2 U glucosa-oxidasa por ml. de leche

15 0,1 - 0,5 por ciento en peso de glucosa

Según otro ejemplo de esta ejecución particular de la invención, el líquido correspondiente se mezcla con un sistema enzimático que comprende:

20 20 U L-amino-ácido-oxidasa por ml.

0,5 por ciento en peso de glicina

25 En los ejemplos de aplicación señalados antes, la leche se enfría a 4°C de temperatura. El método resulta, naturalmente, más eficaz si la leche se mantiene fría. Como puede verse en los diagramas el recuento de bacterias es casi 100 veces menos que en la leche original incluso después de 10 días. El método puede aplicarse, sin embargo, a cualquier temperatura que se considere adecuada por razones económicas o de otro tipo. En estos casos la composición y concentración adecuadas del sistema de enzimas ha de ajustarse empíricamente a la temperatura deseada. Puede mencionarse

30

425855⁷



1 como ejemplo que la leche con 2 U de glucosa-oxidasa por ml y 0,5 por ciento de glucosa añadida puede mantenerse durante dos días a 22°C sin crecimiento de bacterias.

5 En los ejemplos anteriores de aplicación del método según la invención se mezcla la leche con un enzima y una sustancia que libera peróxido de hidrógeno bajo la influencia del enzima. Especialmente cuando se trata de leche es aconsejable en lugar de aquello utilizar un enzima que sea capaz de desprender peróxido de hidrógeno en presencia
10 de alguna sustancia que se encuentre en la leche. Un compuesto que cumple este requisito es la lactosa de la leche, que desprende peróxido de hidrógeno bajo la influencia del enzima galactosa-oxidasa. La concentración propuesta es

0,1 - 2 U galactosa-oxidasa por ml de leche

15 Aún se pueden alcanzar mejores resultados por adición de dos enzimas, β -galactosidasa y glucosa-oxidasa, de las que la β -galactosidasa dá lugar a un ruptura de la lactosa de la leche, produciendo glucosa, que se oxida entonces bajo la influencia de la glucosa-oxidasa añadida, dejando
20 peróxido de hidrógeno. Las concentraciones propuestas son

1 - 10 U β -galactosidasa por ml de leche

0,1 - 2 U glucosa-oxidasa por ml de leche

25 Esta forma de llevar a cabo la invención conduce a consumir parte de la lactosa de la leche pero como la lactosa total asciende a un 5 por ciento, sólo se descompondrá una pequeña proporción de ella durante un almacenamiento de pocos días al añadir, por ejemplo, galactosa-oxidasa

30 Otro método adecuado de aplicar la invención, especialmente en el tratamiento de leche con vistas a mejo-

425855



1 rar su capacidad de conservación, es utilizar un enzima que
esté normalmente presente en la leche para liberar el peró-
xido de hidrógeno. Un enzima tal es la xantin-oxidasa que,
5 junto con hipoxantina, dá peróxido de hidrógeno. Una adi-
ción adecuada para este caso es

0,5 por ciento en peso de hipoxantina

Según un método de aplicación de la invención
que es particularmente útil en el tratamiento de la leche y
otros alimentos líquidos con objeto de aumentar su capaci-
10 dad de conservación, se hace que los enzimas, que no apare-
cen normalmente en el líquido del que se trata, se unan a
una matriz, sobre la cual se hace pasar el líquido, por ejem-
plo por bombeo de circulación. Por este método se puede uti-
lizar repetidamente una cantidad dada de enzima, que en prin-
15 cipio no es sino una clase de catalizador, para cantidades
adicionales de leche, por ejemplo. Esto lleva, naturalmente
consigo una reducción considerable en el coste de este tra-
tamiento. La preparación de matrices con enzimas adheridos
como se ha dicho se ha descrito en la correspondiente lite-
20 ratura científica, por ejemplo, I.H. Silman y E. Katchals-
ki: Derivados de enzimas insolubles en agua, antígenos y
anticuerpos. Ann. Rev. Biochem. 35 (1966) 873.

Al aplicar la invención, el procedimiento gene-
ral consiste en mezclar el líquido correspondiente con una
25 cantidad suficiente de los reactivos mencionados para que
se genere el peróxido de hidrógeno en una cantidad tal por
unidad de tiempo que compense su descomposición en la leche
y para mantener una suficiente, pero no excesiva, concentra-
ción durante un periodo de tiempo predeterminado. Estas can-
30 tidades se han de determinar en cada caso individualmente,

425855



1 teniendo en cuenta factores tales como las condiciones de
temperatura, carácter y resistencia de la bacteria presen-
te, sensibilidad y función de los distintos componentes en
5 el líquido, etc. y naturalmente el objetivo previsto. Se
cree, sin embargo, que las cantidades y otras condiciones
mencionadas en los ejemplos son adecuadas para los casos
normales.

10 La invención supone asimismo la aplicación en
relación con la mejora de la capacidad de conservación de
líquidos obtenidos de la disolución o dispersión de mezclas
de sólidos o semisólidos o de preparaciones en agua, por
ejemplo. En estos casos los enzimas y/o las sustancias pre-
vistas para la generación de peróxido de hidrógeno se mez-
clan en las mezclas sólidas o semisólidas o en las prepara-
15 ciones en cuestión. Es obvio que sólo empiezan a reaccionar
cuando los productos a los que se han mezclado se añadan y
disuelvan o dispersen en el agua, por ejemplo.

20 En la Fig. 3 se muestra, a modo de ejemplo, cómo
se puede instalar una planta para conservación y preser-
vación de leche en una granja, y la cual vá provista de dis-
positivos para la utilización del método según la inven-
ción. El número 1 indica un descargador en el extremo del
suministro de una ordeñadora mecánica de tuberías. La le-
che se bombea con una bomba 2 por la tubería 13 y un refri-
25 gerador 3 a un depósito 4 de equilibrado provisto con un
dispositivo agitador 8. Desde el depósito de equilibrado se
bomba la leche con una bomba 12 a través de un filtro 5 a
una vasija 6 y de allí a un depósito de almacenamiento 7.
30 La vasija 6 lleva una matriz a la que se une un enzima o en-
zimas concurrentes, y se hace pasar la leche por dicha vasi



425855

1 ja de manera que se ponga en contacto con el enzima o enzimas. El depósito de almacenamiento 7 vá provisto de un dispositivo de agitación 9 y un refrigerante 10 para controlar la temperatura de la leche durante el almacenamiento.

5 En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes

REIVINDICACIONES

10 1. Un método y su correspondiente instalación de tratamiento de la leche u otros líquidos que pueden actuar como sustratos para microorganismos con peróxido de hidrógeno con objeto de incrementar la capacidad de conservación de tales líquidos, caracterizado por generación del peróxido de hidrógeno por medios enzimáticos en el líquido correspondiente.

15 2. Un método, según la reivindicación 1, caracterizado por mezclar el correspondiente líquido con un enzima y una sustancia que puede liberar peróxido de hidrógeno bajo la influencia de dicho enzima.

20 3. Un método, según la reivindicación 1, caracterizado por mezclar el líquido correspondiente con un enzima o enzimas concurrentes que pueden generar peróxido de hidrógeno en unión de una sustancia presente en el líquido.

25 4. Un método, según la reivindicación 1, caracterizado por mezclar el líquido correspondiente con una sustancia que puede generar peróxido de hidrógeno bajo la influencia de un enzima que está normalmente presente en el líquido.

30 5. Un método, según cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 y 3, caracterizado porque el enzima o enzimas se adhieren a una matriz y se hace pasar el líquido correspondiente por dicha matriz.

425855



1

6. Un método, según cualquiera de las anteriores reivindicaciones, caracterizado por refrigeración del líquido con lo que mejora la capacidad de conservación y/o puede reducirse la cantidad de enzima u otro reactivo añadido.

5

10

7. Un método, según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por mezclar el líquido correspondiente con cantidades tales de los citados reactivos que se genere el peróxido de hidrógeno en una cantidad tal por unidad de tiempo que compense su descomposición en el líquido y para mantener una suficiente, pero no excesiva concentración durante un periodo de tiempo predeterminado de manera que no tenga efectos perjudiciales sobre los distintos componentes de la leche u otros líquidos.

15

8. Un método, según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 4 y 6 - 7, caracterizado porque dichos reactivos se mezclan en una mezcla sólida o semisólida o preparación prevista para disolverse o dispersarse en un líquido, por ejemplo, agua.

20

9. Una instalación para la aplicación del método según la reivindicación 5 que comprende una vasija (6) que lleva una matriz a la que vá adherido un enzima o enzimas concurrentes, y que comprende además medios (12, 13) para hacer pasar el líquido que ha de tratarse a través de dicha vasija de manera que el líquido entre en contacto con el enzima o enzimas.

25

10. Una instalación, según la reivindicación 9, caracterizada porque también comprende medios (3, 10) para controlar la temperatura del líquido.

30

- 12 -
425855



1 11. Se reivindica por último como objeto sobre
el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita
UN METODO Y SU CORRESPONDIENTE INSTALACION DE TRATAMIENTO DE
LA LECHE U OTROS LIQUIDOS.

5 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la
presente Memoria descriptiva que consta de doce páginas me-
canografiadas y dibujos adjuntos.

10

Madrid, 30 de abril de 1.974

BERNARDO UNGRIA

F.P.



15

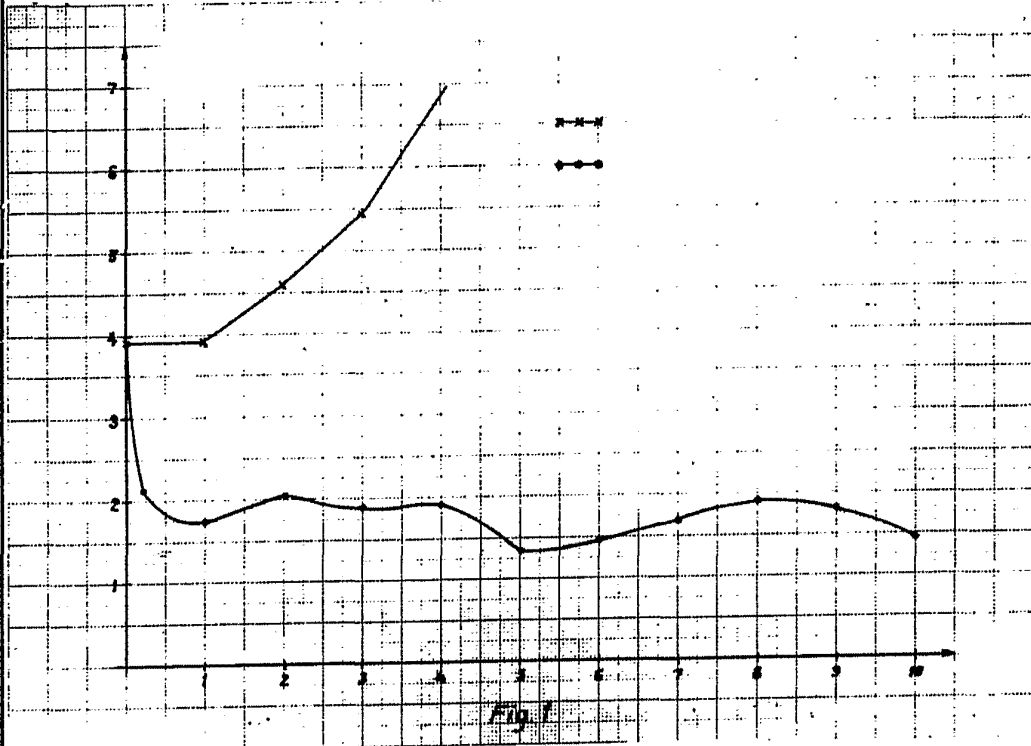
20

25

30

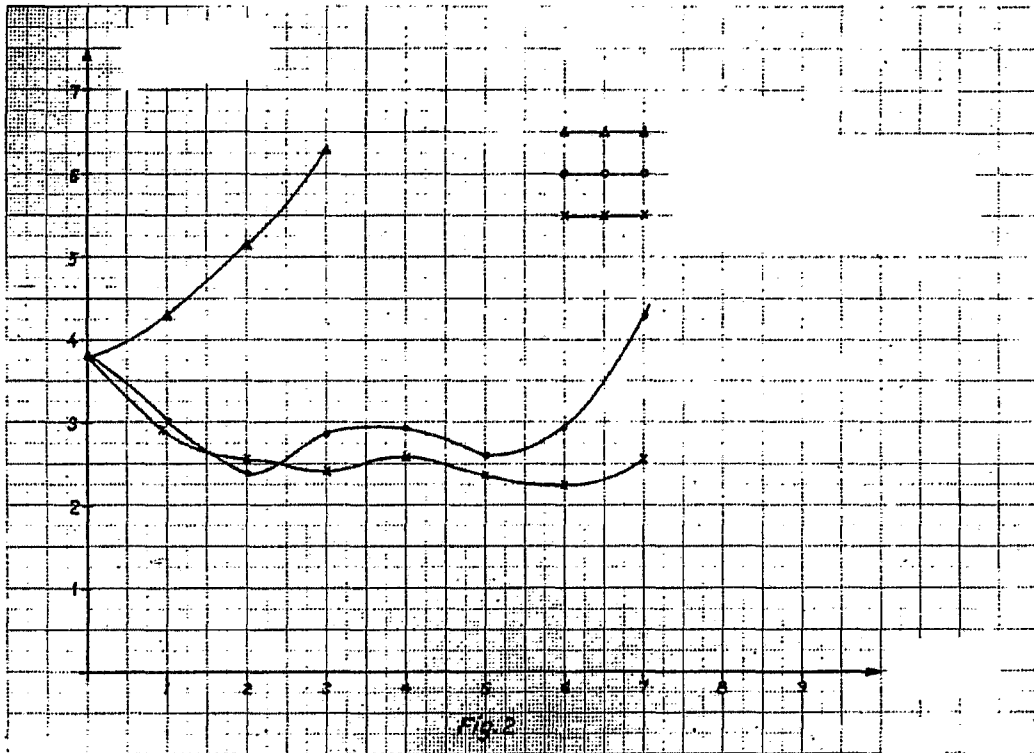


425855



ESCALA VARIABLE
Madrid, 30 de abril 1.974
BERNARDO UNZUETA
P.F.

425855^{F7} AB



ESCALA VARIABLE
Madrid, 30 de Abril de 1.974

BERNARDO UNGAIA
P.D.

425855

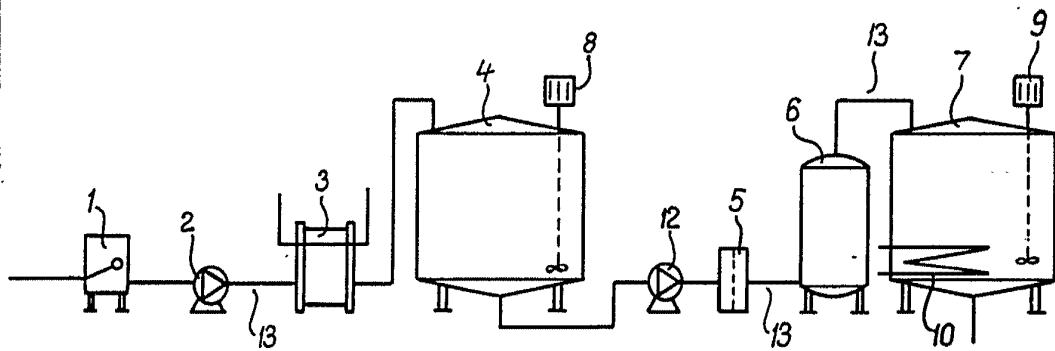


Fig.3

ESCALA VARIABLE
Madrid, 30 de abril de 1.974
BERNARDO UYERLA
P.D.