

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 376 945**

21 Número de solicitud: 201000046

51 Int. Cl.:

C12F 3/00 (2006.01)

C12P 7/56 (2006.01)

G01N 30/02 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación: **15.01.2010**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **21.03.2012**

Fecha de la concesión: **24.09.2012**

45 Fecha de anuncio de la concesión: **04.10.2012**

45 Fecha de publicación del folleto de la patente:
04.10.2012

73 Titular/es:

**UNIVERSIDADE DE VIGO
CAMPUS UNIVERSITARIO DE VIGO S/N
36310 VIGO, Pontevedra, ES**

72 Inventor/es:

**GULLÓN ESTÉVEZ, BEATRIZ;
ALONSO GONZÁLEZ, JOSÉ LUIS;
PARAJÓ LIÑARES, JUAN CARLOS;
MARTÍNEZ SABAJANES, MARTINA;
GULLÓN ESTÉVEZ, PATRICIA y
GARROTE VELASCO, GIL**

74 Agente/Representante:

No consta

54 Título: **PROCESO BASADO EN INTERCAMBIO IÓNICO PARA LA RECUPERACIÓN EN CORRIENTES SEPARADAS DE ÁCIDO LÁCTICO Y CARBOHIDRATOS OLIGOMÉRICOS A PARTIR DE MEDIOS FERMENTATIVOS.**

57 Resumen:

La presente invención, titulada Proceso basado en intercambio iónico para la recuperación en corrientes separadas de ácido láctico y carbohidratos oligoméricos a partir de medios fermentativos, reivindica un procedimiento aplicable a la separación de compuestos de interés comercial (ácido láctico y compuestos oligoméricos derivados de pectinas con capacidad prebiótica) a partir de medios obtenidos por hidrólisis y fermentación de bagazo de manzana. La hidrólisis se realiza por medio de enzimas, y la fermentación transcurre por acción de bacterias lácticas. Estas etapas pueden llevarse a cabo sucesiva o simultáneamente. Antes de la fermentación deben añadirse al medio los nutrientes adecuados para permitir el metabolismo de las bacterias lácticas. Los medios fermentados se tratan con resinas de intercambio iónico en ciclos de carga-regeneración, de modo que el ácido láctico se liga selectivamente a la resina durante el ciclo de carga (liberando un efluente enriquecido en compuestos oligoméricos derivados de carbohidratos), mientras que el ciclo de regeneración proporciona un efluente

enriquecido en ácido láctico. La capacidad prebiótica de los compuestos oligoméricos derivados de carbohidratos que se obtienen en el proceso se confirma experimentalmente por medio de fermentaciones anaeróbicas en medios inoculados con heces fecales, en los que se observa la producción de ácidos grasos de cadena corta.

ES 2 376 945 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Proceso basado en intercambio iónico para la recuperación en corrientes separadas de ácido láctico y carbohidratos oligoméricos a partir de medios fermentativos.

5

Sector de la técnica

La invención plantea la aplicación de una técnica básica de la Química y de la Ingeniería Química (intercambio iónico) a la separación de componentes de valor comercial (ácido láctico y compuestos oligoméricos con capacidad prebiótica derivados de pectinas) presentes en medios generados por hidrólisis y fermentación de bagazo de manzana (subproducto sólido que se obtiene al exprimir la manzana en la producción de zumo y sidra). Por las aplicaciones alimentarias del producto final y por tratarse del desarrollo de un proceso de separación, el objeto de esta patente también está relacionado con áreas de la técnica como la Tecnología de los Alimentos, la Ingeniería de los Alimentos y la Ingeniería de Procesos.

15

Estado de la técnica

El bagazo de manzana tiene una composición compleja. Entre sus componentes más importantes se incluyen extractos (ricos en monosacáridos y disacáridos), polisacáridos (hemicelulosas, celulosa, almidón y pectinas), lignina, proteínas, componentes inorgánicos y otras fracciones de poca importancia para los fines de esta invención. Información relevante sobre la composición del bagazo de manzana se ha publicado en el siguiente trabajo: Gullón, B.; Falqué, E.; Alonso, J. L.; Parajó, J. C., Evaluation of apple pomace as a raw material for alternative applications in food industries, Food Technol. Biotechnol. 2007, 45 (4), 426-433.

20

La abundancia de polisacáridos y de azúcares libres en el bagazo de manzana lo hace atractivo como materia prima para procesos basados en la hidrólisis de los polisacáridos (convirtiéndolos en oligómeros o monómeros de azúcares) y en la fermentación de los productos de hidrólisis (llevada a cabo de forma simultánea o consecutiva a la propia etapa de hidrólisis). La susceptibilidad de los polisacáridos presentes en el bagazo de manzana a la hidrólisis por enzimas con actividades celulásica, celobiásica y amilolítica se comprobó en la referencia de Gullón y colaboradores (2007) citada con anterioridad, trabajo que también proporciona información sobre otros aspectos de interés, como la cinética de las reacciones de hidrólisis y los rendimientos de conversión en glucosa y otros azúcares. A partir de los resultados de la hidrólisis, el mismo trabajo concluía que el bagazo de manzana es una materia prima prometedora para la producción de ácido láctico.

25

30

La producción estereoespecífica de ácido láctico por vía fermentativa a partir de bagazo de manzana empleando mezclas de enzimas comerciales (ricas en actividades celulásica y celobiásica) y bacterias lácticas (*Lactobacillus rhamnosus* CECT-288) se estudió en el siguiente artículo: Gullón, B.; Alonso, J. L.; Parajó, J. C., Experimental evaluation of alternative fermentation media for L-lactic acid production from apple pomace, J. Chem. Technol. Biotechnol. 2008, 83, 609-617. Las etapas de hidrólisis y fermentación se llevaron a cabo simultáneamente, según el modo de operar conocido como Sacarificación y Fermentación Simultáneas. Para permitir la fermentación, los medios se suplementaron con distintos nutrientes, incluyendo medios complejos descritos en la bibliografía (como el Man Rogosa Sharpe), o fuentes complejas como extracto de levadura y licores de procesamiento de maíz por vía húmeda (denominados "Corn Steep Liquor" en la bibliografía). En distintos experimentos de Sacarificación y Fermentación Simultáneas se evaluaron los efectos de tipo y concentración de nutrientes sobre los perfiles de concentración de los compuestos de interés (incluyendo distintos monosacáridos, ácido láctico y ácido acético), desarrollándose modelos empíricos que proporcionaban una interpretación generalizada de la producción de ácido láctico y permitían una evaluación comparativa del comportamiento del extracto de levadura y de los licores de procesamiento de maíz por vía húmeda como agentes para la aportación de nutrientes.

35

40

45

En un trabajo relacionado con este tema (Gullón, B.; Garrote, G.; Alonso, J. L.; Parajó, J. C., Production of L-lactic acid and oligomeric compounds from apple pomace by Simultaneous Saccharification and Fermentation: A response surface methodology assessment, J. Agric. Food Chem. 2007, 55, 5580-5587) se señalaban las siguientes características ventajosas del bagazo de manzana como materia prima para la producción de ácido láctico: alto contenido en glucosa y fructosa libres, alto contenido en polisacáridos, presencia de otros compuestos (como monosacáridos distintos de la glucosa y de la fructosa, ácido cítrico, ácido málico) que pueden ser metabolizados por las bacterias lácticas, y presencia de iones metálicos que podrían disminuir el coste de la suplementación de los medios fermentativos. Este trabajo demostró la posibilidad de cogenerar ácido láctico y compuestos oligoméricos derivados de polisacáridos procesando bagazo de manzana a través de Sacarificación y Fermentación Simultáneas, proporcionando una evaluación de los efectos de las variables de operación más influyentes sobre la productividad volumétrica de ácido láctico y sobre las concentraciones de los productos más importantes (ácido láctico y oligómeros derivados de carbohidratos) obtenidos en condiciones seleccionadas. El trabajo concluye que operando en determinadas condiciones de hidrólisis-fermentación (45°C, pH 5-6, 1.7 g células/L, carga de celulasas = 1 Unidad de Papel de Filtro/g bagazo, carga de celobiasa = 0.25 Unidades Internacionales/g bagazo, 10 horas de procesamiento, 12 g líquido/g bagazo) se obtenían medios conteniendo 27.8 g ácido láctico/L. Por otro lado, los balances de materia indicaban que a partir de 100 kg bagazo se podrían producir 36.6 kg de ácido láctico juntamente con 18.3 kg de oligosacáridos (éstos últimos con potencial aplicación como ingredientes para alimentos funcionales). Además, permanecían en el medio fermentativo compuestos formados por ácidos urónicos (también con potencial utilidad en el campo alimentario) en cantidad equivalente a 8 kg/100 kg bagazo procesado.

50

55

60

65

Como resumen de lo anterior, cabe indicar que la bibliografía muestra la hidrólisis-fermentación de bagazo de manzana puede llevarse a cabo en condiciones que permiten obtener medios conteniendo (entre otros componentes) ácido láctico y compuestos oligoméricos derivados de polisacáridos (celulosa, hemicelulosas y pectinas), en cantidades que dependen de las condiciones de operación.

5 La recuperación de ácido láctico por intercambio iónico ha sido estudiada en la bibliografía (Moldes, A. B.; Alonso, J. L.; Parajó, J. C. Recovery of lactic acid from simultaneous saccharification and fermentation media using anion exchange resins. *Bioproc. Biosyst. Eng.* 2003, 25, 357-363; González, M. I.; Álvarez, S.; Riera, F. A.; Álvarez, R., Purification of lactic acid from fermentation broths by ion-exchange resins. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2006, 45 (9), 3243-10 3247); pero la separación de oligómeros y ácido láctico por medio de cambio iónico es novedosa, y constituye uno de los focos de la presente invención.

Además, distintos estudios experimentales demuestran la capacidad prebiótica de los compuestos oligoméricos derivados de polisacáridos. En particular, se ha publicado que oligosacáridos procedentes de pectinas (denominados 15 pectooligosacáridos) son prebióticos potenciales. Algunos Trabajos representativos en este campo son: Manderson, K.; Pinart, M.; Tuohy, K. M.; Grace, W. E.; Hotchkiss, A. T.; Widmer, W.; Yadhav, M. P.; Gibson, G. R.; Rastall, R. A., *In vitro* determination of prebiotic properties of oligosaccharides derived from an orange juice manufacturing by-product stream, *Appl. Environm. Microbiol.* 2005, 71 (12), 8383-8389; Olano-Martín, E.; Gibson, G. R.; Rastall, R. A., Comparison of the *in vitro* bifidogenic properties of pectins and pectic-oligosaccharides. *J. Appl. Microbiol.* 2002, 20 93, 505-511; Mandalari, G.; Nueno Palop, C.; Tuohy, K.; Gibson, G. R.; Bennet, R. N.; Waldrom, K. W.; Bisignano, G.; Narbad, A.; Faulds, C. B., *In vitro* evaluation of the prebiotic activity of a pectic oligosaccharide-rich extract enzymatically derived from bergamot peel, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2007, 73, 1173-1179. La confirmación de la capacidad prebiótica de los compuestos oligoméricos aislados a partir de los medios fermentativos por medio de cambio iónico es otro de los focos de la presente invención.

25 Descripción detallada de la invención

El Proceso considerado se refiere al tratamiento de los medios que resultan de la hidrólisis-fermentación del bagazo de manzana (obtenidos en condiciones adecuadas para que contengan ácido láctico y compuestos oligoméricos derivados de polisacáridos), e incluye la separación (por filtración, prensado, ultrafiltración o centrifugación) de las fases 30 sólida y líquida, y el tratamiento de esta última mediante resinas de intercambio aniónico para la obtención de dos corrientes; una enriquecida en ácido láctico y la otra en compuestos oligoméricos derivados de polisacáridos, según se describe a continuación.

35 El Proceso consta de:

- a) una etapa de filtración, prensado, centrifugación o ultrafiltración de los medios que resultan del proceso de hidrólisis-fermentación del bagazo de manzana, que contienen ácido láctico y compuestos oligoméricos derivados de polisacáridos, de modo que se obtenga una fase líquida exenta de sólidos en suspensión, 40
- b) una etapa de carga, en la que la fase líquida exenta de sólidos en suspensión obtenida en el apartado anterior, conteniendo ácido láctico y compuestos oligoméricos derivados de polisacáridos, se hace circular a través de un lecho que contiene una resina comercial de intercambio aniónico, inicialmente cargada con un anión adecuado (por ejemplo, cloruro), que pueda desplazarse por lactato, de modo que la resina quede cargada de iones lactato. La etapa finaliza cuando la fase resina se satura, o bien cuando alcanza condiciones cercanas a la saturación. El efluente obtenido en esta etapa contiene una disolución enriquecida en compuestos oligoméricos derivados de polisacáridos, de modo que se facilita su posterior recuperación. Contiene además iones en disolución, debido al propio proceso de intercambio, 45
- c) una etapa de lavado para reemplazar la disolución retenida en la columna que contiene la resina por agua para recuperar los productos retenidos en los espacios intersticiales del lecho y mejorar la pureza del ácido láctico obtenido en la etapa siguiente, 50
- d) una etapa de regeneración, en el que se hace fluir una disolución conteniendo un anión adecuado (por ejemplo, ión cloruro, aportado por ácido clorhídrico) a través del lecho que contiene la resina lavada cargada de lactato que se obtuvo en el paso anterior, de modo que los aniones presentes en la disolución desplazan a los iones lactato, obteniéndose un efluente enriquecido en ácido láctico. 55
- e) Una etapa de desalinización por diafiltración o cambio iónico para eliminar el cloruro sódico contenido en la disolución de oligómeros con el objetivo de obtener un producto susceptible de ser usado como ingrediente prebiótico. 60

Un posible modo de realización del Proceso se describe en el Ejemplo que se incluye a continuación.

65 Ejemplo

Se parte de bagazo de manzana, que se somete a Sacarificación y Fermentación Simultáneas en modo semicontinuo con alimentación intermitente usando un biorreactor Biostat B de 1.5 litros operando en las siguientes condiciones:

temperatura de operación, 45°C; velocidad de agitación, 150 rpm; relación líquido sólido, 12 g/g; extracto de levadura para aporte de nutrientes, en concentración equivalente a 0.1 g/g azúcares potenciales (definidos como los azúcares que aparecerían en el medio si se convirtiesen en monosacáridos todos los polisacáridos del bagazo); carga de celulasas, 1 Unidad de Papel de Filtro del preparado comercial “Celluclast 1.5 L” /g bagazo; carga de celobiasa, 0.25 Unidades Internacionales del preparado comercial “Novozym” /g bagazo; agua en la cantidad necesaria para alcanzar la relación líquido sólido deseada; microorganismo empleado en la fermentación láctica, *Lactobacillus rhamnosus* CECT-288; duración del proceso de hidrólisis-fermentación, 45 horas; número de ciclos de adición de sólidos: 3, con recuperación intermedia de sólidos sin convertir por centrifugación y recirculación de licores para generar nuevos medios de hidrólisis-fermentación aportando bagazo de manzana fresco. El medio resultante final se centrifugó para separar la fase líquida de los sólidos en suspensión, y se analizó por los métodos descritos en los artículos de Gullón y colaboradores citados con anterioridad, determinándose la siguiente composición: ácido láctico, 60.5 g/L; monosacáridos, 4.65 g/L; unidades de glucosa formando parte de oligosacáridos, 9.5 g/L; unidades de xilosa formando parte de oligosacáridos, 5.7 g/L; unidades de arabinosa formando parte de oligosacáridos, 6.15 g/L; unidades de ácidos urónicos formando parte de oligosacáridos (medidas como concentración equivalente en ácido galacturónico), 12.5 g/L. Utilizando una bomba peristáltica, se hizo circular esta disolución a través de un lecho formado por resina comercial de intercambio aniónico Amberlite IRA 96 (en forma cloruro), conteniendo inicialmente agua en los espacios intersticiales (lo que provoca un efecto de dilución). Se obtuvieron muestras del efluente de salida del lecho, que se analizaron por los mismos métodos empleados para caracterizar la composición del medio de hidrólisis-fermentación. Operando en condiciones de separación optimizadas, se llegó a un efluente con la siguiente composición: ácido láctico, 2.2 g/L; monosacáridos, menos de 0.1 g/L; unidades de glucosa formando parte de oligosacáridos, 4.7 g/L; unidades de xilosa formando parte de oligosacáridos, 4.1 g/L; unidades de arabinosa formando parte de oligosacáridos, 3.8 g/L; unidades de ácidos uránicos formando parte de oligosacáridos (medidas como concentración equivalente en ácido galacturónico), 5.3 g/L. Después de lavar la resina, se procedió a recuperar el ácido láctico haciendo pasar a través de la columna una disolución 1 N de HCl. El efluente procedente de la etapa de regeneración mostró la siguiente composición: ácido láctico, 30 g/L; monosacáridos, menos de 0.1 g/L; unidades de glucosa formando parte de oligosacáridos, 0.2 g/L; unidades de xilosa formando parte de oligosacáridos, 0.2 g/L; unidades de arabinosa formando parte de oligosacáridos, 0.2 g/L; unidades de ácidos uránicos formando parte de oligosacáridos (medidas como concentración equivalente en ácido galacturónico), 2.1 g/L. Se observa que la disolución obtenida tras la etapa de carga posee una proporción entre ácido láctico y unidades constituyentes de oligómeros de 10:90 g/g, mucho menor el valor que alcanza la misma proporción en la disolución procedente de la etapa de regeneración (92:8 g/g), aspecto indicativo de una separación selectiva de los componentes en función de su naturaleza química.

A fin de confirmar el carácter prebiótico de los productos contenidos en el efluente procedente de la etapa de carga, la disolución se desalinizó mediante diafiltración y se liofilizó. Se formularon medios de cultivo conteniendo 10 g de sólidos liofilizados /L, 5 g de extracto de levadura /L y 5 g de peptona /L, que se inocularon con heces fecales humanas y se incubaron a 37°C sin agitación en condiciones de anaerobiosis. Al inicio de los experimentos y al cabo de 12, 24 y 96 horas se realizaron recuentos de células al microscopio (que confirmaron la viabilidad de las fuentes de carbono empleadas para el crecimiento celular) y se realizaron análisis de las muestras por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia, confirmándose el consumo completo de oligosacáridos y la presencia en los medios de ácidos grasos de cadena corta, que confirman la capacidad prebiótica de los sólidos liofilizados obtenidos según el proceso descrito en esta solicitud.

REIVINDICACIONES

5 1. El proceso de separación de ácido láctico y compuestos oligoméricos derivados de carbohidratos presentes en medios de hidrólisis-fermentación obtenidos a partir de bagazo de manzana, consistente en: una etapa de filtración, prensado, centrifugación o ultrafiltración, que permita obtener una fase líquida exenta de sólidos; una etapa de cambio iónico (etapa de carga) en que la fase líquida exenta de sólidos obtenida anteriormente se hace circular a través de un lecho fijo conteniendo una resina intercambiadora de iones (cargada inicialmente con un anión adecuado para ser intercambiado por lactato) hasta que la resina queda saturada de lactato o hasta que el lactato alcanza una concentración
10 en fase resina cercana a la de saturación; una etapa de lavado para reemplazar por agua la disolución retenida en la columna que contiene la resina; y una etapa de regeneración, en el que se hace fluir a través del lecho que contiene la resina lavada cargada de lactato que se obtuvo en el paso anterior una disolución conteniendo un anión adecuado para desplazar a los iones lactato, obteniéndose un efluente enriquecido en este compuesto.

15 2. La utilización de los productos resultantes de liofilizar el efluente obtenido en la etapa de carga (directamente tal como se obtiene, o tras desalinización) como ingredientes alimentarios con propiedades prebióticas, aplicables a la alimentación humana o animal.



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201000046

②② Fecha de presentación de la solicitud: 15.01.2010

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	GULLON B et al. B ioresource T echnology. V ol. 9 9, No. 2 , P áginas: 30 8-319. I-Lactic acid production from apple pomace by sequential hydrolysis and fermentation. ISSN 0960-8524, todo el documento.	1,2
A	GULLÓN, B. et al.: "Evaluation of Apple Pomace as a Raw Material for Alternative Applications in Food Industries", Food Technol. Biotechnol. (2007) 45 (4) pp.: 426-433, ISSN 1330-9862, todo el documento.	1,2
A	GULLÓN, B. et al.: "Production of L-lactic Acid and Oligomeric Compounds from Apple Pomace by Simultaneous Saccharification and Fermentation: A Response Surface Methodology Assessment" (2007) J. Agric. Food Chem., 55, pp.: 5580-5587, todo el documento.	1,2
A	GONZÁLEZ, M.I. et al.: "Purification of Lactic Acid from Fermentation Broths by Ion-Exchange Resins", Ind. Eng. Chem. Res. 2006, 45, pp.: 3243-3247, todo el documento.	1,2
A	MEHRLÄNDER, K. et al.: "Structural Characterization of Oligosaccharides and Polysaccharides from Apple Juices Produced by Enzymatic Pomace Liquefaction", (2002) J. Agric. Food Chem., 50, pp.: 1230-1236, todo el documento.	1,2
A	GULLÓN, B. et al.: "Sequential hydrolysis and fermentation of apple pomace to lactic acid", The 29th Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals (Abril 29 - Mayo 2, 2007) Domingo, Abril 29, 2007 1B-29. -Abstract-	1,2

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
06.03.2012

Examinador
A. Maquedano Herrero

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C12F3/00 (2006.01)

C12P7/56 (2006.01)

G01N30/02 (2006.01)

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

C12F, C12P, G01N

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, XPESP, BIOSIS, CA

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 06.03.2012

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1, 2	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1, 2	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	GULLON B e t al . B ioresource Technology. V ol. 99 , No. 2 , Páginas: 308-319. l-Lactic acid production from apple pomace by sequential hydrolysis and fermentation. ISSN 0960-8524, todo el documento.	
D02	GULLÓN, B. et al.: "Evaluation of Apple Pomace as a Raw Material for Alternative Applications in Food Industries", Food Technol. Biotechnol. (2007) 45 (4) pp.: 426-433, ISSN 1330-9862, todo el documento.	
D03	GULLÓN, B. et al.: "Production of L-lactic Acid and Oligomeric Compounds from Apple Pomace by Simultaneous Saccharification and Fermentation: A Response Surface Methodology Assessment" (2007) J. Agric. Food Chem., 55, pp.: 5580-5587, todo el documento.	
D04	GONZÁLEZ, M.I. et al.: "Purification of Lactic Acid from Fermentation Broths by Ion-Exchange Resins", Ind. Eng. Chem. Res. 2006, 45, pp.: 3243-3247, todo el documento.	
D05	MEHRLÄNDER, K. et al.: "Structural Characterization of Oligosaccharides and Polysaccharides from Apple Juices Produced by Enzymatic Pomace Liquefaction", (2002) J. Agric. Food Chem., 50, pp.: 1230-1236, todo el documento.	
D06	GULLÓN, B. et al.: "Sequential hydrolysis and fermentation of apple pomace to lactic acid", The 29th Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals (Abril 29 - Mayo 2, 2007) Domingo, Abril 29, 2007 1B-29. -Abstract-	

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 reivindica un procedimiento para separar ácido láctico y oligosacáridos presentes en bagazo de manzana sometido a hidrólisis y fermentación. El procedimiento incluye etapas de filtración, prensado, centrifugación (o ultrafiltración) para eliminar los sólidos y, posteriormente, una etapa de intercambio iónico. Se reivindica, asimismo, el uso de los productos resultantes de este procedimiento (lactato y oligosacáridos) como ingredientes alimentarios con propiedades prebióticas en alimentación humana o animal.

D01-D06 representan el estado de la técnica anterior. En ninguno de esos documentos, salvo en D05, se utiliza la técnica de intercambio iónico para separar ácido láctico y oligosacáridos. En D05 se utiliza dicha técnica para obtener oligosacáridos de jugos de manzana no fermentados. No se menciona el ácido láctico ni la fermentación microbiana. En los otros documentos D01-D04 y D06 se menciona la existencia tanto de ácido láctico como de oligosacáridos en bagazo de manzana hidrolizado y fermentado, pero, en ningún momento, se propone la utilización del intercambio iónico como técnica para la obtención de ácido láctico y oligosacáridos. Tampoco parece obvio, a la luz de lo descrito en estos documentos, que un experto en la materia pudiera llegar a realizar la invención descrita en la solicitud.

Por todo ello, se considera que las reivindicaciones 1 y 2 de la solicitud cumplen los requisitos de novedad en el sentido del artículo 6.1 de la Ley 11/1986 y de actividad inventiva en el sentido del artículo 8.1 de la Ley 11/1986.