



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

República de Colombia
Bogotá, D.C.

INVENTARIO

PCT

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD DE

PATENTE DE INVENCION
PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

10-12624

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO: COMPOSICION PARA ANIMALES RESISTENTE AL
CALOR QUE COMPRENDE UNA MEZCLA ENZIMATICA

52. CLASIFICACION INTERNACIONAL: A23K 1/165, A23K 1/00,
C12N 9/98

71. SOLICITANTE: ADISSEO FRANCE S.A.S.

DOMICILIO: Immeuble Anthony Parc II, 10, Place du
Général de Gaulle, F-92160 Antony, FRANCIA

74. APODERADO: Dra. MARGARITA CASTELLANOS A.

22. BOGOTA, D.C., 05 FEB. 2010

Alm. Peder. C.
20-03-2010



No. 10-012624- -00000-0000

Fecha: 2010-02-05 15:13:30 Dep. 2020 DIR.NULVASCH
Tra. 11 PATENTEIYII Lve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 89**Industria y Comercio**
SUPERINTENDENCIA**LISTA DE CHEQUEO**
ADMISION A TRAMITE - NUEVAS CREACIONESPATENTE DE INVENCION ☐MODELO DE UTILIDAD ☐

Art. 33 Decisión 486/00

☐

Indicación que se solicita una patente

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Descripción de la invención

☐

Dibujos de ser estos pertinentes

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☐Incompleta ☐PATENTE DE INVENCION PCT ☒MODELO DE UTILIDAD PCT ☐Art. 33 Decisión 486/00
Circular Única☒

Indicación que se solicita una PCT

☒

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☒

Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)

☒

Dibujos de ser estos pertinentes

☒

Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☒Incompleta ☐DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita diseño industrial

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐Incompleta ☐ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita un esquema de trazado

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica de un esquema de trazado

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐Incompleta ☐

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTES
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

①

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I

☐

Capítulo II

②

SOLICITANTE (71)

Nombre: **ADISSEO FRANCE S.A.S.**

Dirección: Immeuble Antony Parc II
10, Place du Général de Gaulle
F-92160 Antony
FRANCIA

Nacionalidad o Domicilio: Antony - FRANCIA

Lugar de Constitución: FRANCIA

Teléfono:

Fax:

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

③

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: **MARGARITA CASTELLANOS A.**

Dirección: CALLE 94A No. 7A-09

Teléfono: 756 0770 Fax: 755 0158

E-mail: info@castellanosyco.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 39'779.654 TPA 70.819

④

INVENTOR (ES) (72)

PIERRE DALIBARD

46, Allée du Néfleur
91190 Gif Sur Yvette
FRANCIA

NICOLAS BESSE

135 Avenue Pierre Brossolette
92120 Montrouge
FRANCIA

FRANCIS PIERRE

Bloux
03310 Heris Les Bains
FRANCIA

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No.

PCT/FR 2008/000872

Fecha

20/06/2008

Publicación Internacional No.

WO 2009/019335 A2

Fecha

12/02/2009

⑥

Título (54)

COMPOSICION PARA ANIMALES RESISTENTE AL CALOR QUE COMPRENDE UNA
MEZCLA ENZIMATICA (Folios 93)

⑦

Clasificación Internacional (51)

A23K 1/165, A23K 1/00, C12N 9/98

⑧

Prioridad

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

SI ☒

NO ☐

FR

20/07/2007

07 05276

⑨

Comprobante de pago No.

10-8,773 y 10-8,776

Fecha

Febrero 4 de 2010

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

10 Anexos

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☐ Poderes, si fuere el caso, junto con la sustitución del mismo a mi favor
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☒ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Tarjeta Propietario, Extracto para la publicación y Forma PCT/IB/306 de Notificación de un Cambio

11 FIGURA CARACTERISTICA:

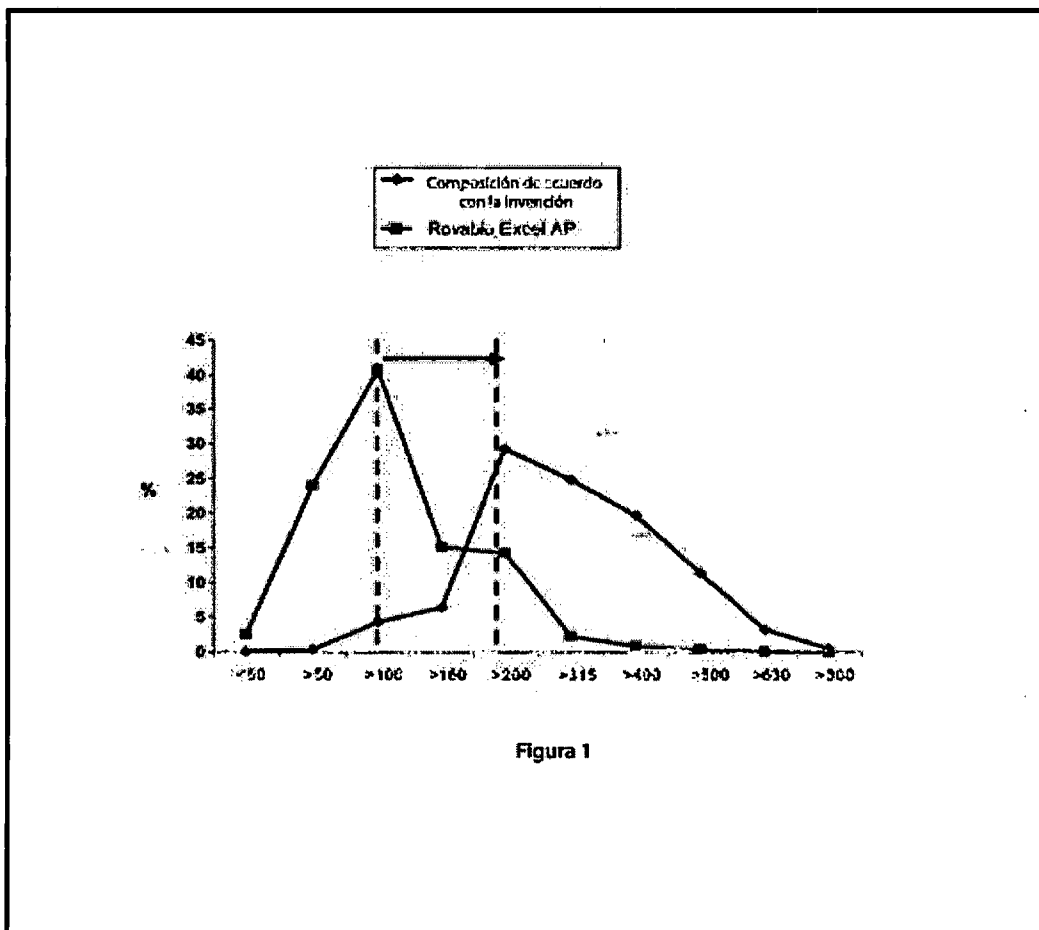


Figura 1

12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO

FIRMA:

Margarita Castellanos Abondano
C.C. No. 39'779.654 Usaquén - TPA 70.819 C.S.J.

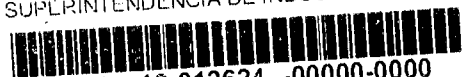
05 FEB. 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 8,773
FECHA : FEBRERO 4 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-012624- -00000-0000

Fecha: 2010-02-05 15:13:30 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Ira. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 89

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ALVARO CASTELLANOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	175518232	04/02/2010	11,514,610.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	554,000.00
		TOTAL :	\$ 554,000.00

SON: QUINIENTOS CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 8,776
FECHA : FEBRERO 4 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-012624- -00000-0000

Fecha: 2010-02-05 15:13:30 Dep. 2020 DIR.NULVASCH
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASLNACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 89

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
ALVARO CASTELLANOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754397	175518232	04/02/2010	11,514,610.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	78,000.00
		TOTAL :	\$ 78,000.00

SON: SETENTA Y OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
12 février 2009 (12.02.2009)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2009/019335 A2

- (51) Classification internationale des brevets :
A23K 1/165 (2006.01) C12N 9/08 (2006.01)
A23K 1/00 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2008/000872

(22) Date de dépôt international : 20 juin 2008 (20.06.2008)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0705276 20 juillet 2007 (20.07.2007) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : ADI-
SEO FRANCE S.A.S. [FR/FR]; 42, avenue Aristide
Briand, F-92160 Antony (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : DAL-
IBARD, Pierre [FR/FR]; 46, allée du Têleur, F-91190
Gif sur Yvette (FR). PIERRE, Francis [FR/FR]; Elouan,
F-03310 Heris les Bains (FR). BESSE, Nicolas [FR/FR];
135 avenue Pierre Brossolette, F-92120 Montrouge (FR).
- (74) Mandataire : DIDIER, Mireille; Cabinet Germain &
Maureau, E.P. 6153, F-69466 Lyon Cedex 06 (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BE, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG,
ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL,
IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, LA, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL,
PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SI, SZ, TT, UG, ZM,
ZW), caracien (AM, AZ, BY, EG, FZ, MD, PU, TJ, TM),
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HP, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL,

[Suite sur la page suivante]

- (54) Title: HEAT-RESISTANT COMPOSITION FOR ANIMALS, COMPRISING AN ENZYMATIC MIXTURE

(54) Titre : COMPOSITION THERMORÉSISTANTE POUR ANIMAUX COMPRENANT UN MÉLANGE ENZYMATIQUE

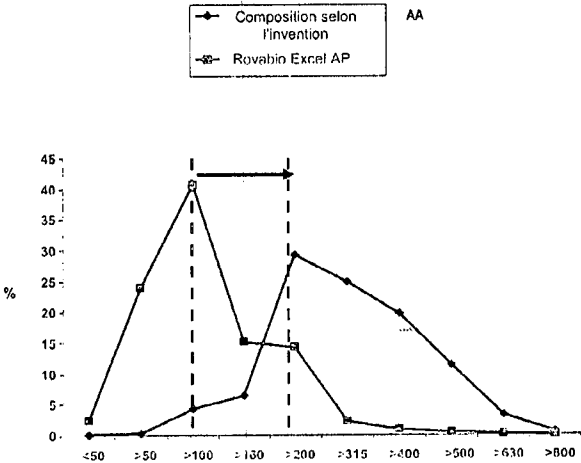


Figure 1
AA a composition according to the invention

(57) Abstract: The invention relates to a heat-resistant composition for animals in the form of a granular powder, comprising: a) a liquid mixture of at least two enzymes; b) a medium selected from the group comprising wheat flour, starch, gypsum, maltodextrin, and corn cobs; and c) a coating agent selected from the group comprising cellulose and the derivatives thereof, chitin, carrageenan, sodium alginate, vegetable gums, gums obtained using a fermentation process, and starches and derivatives.

[Suite sur la page suivante]

WO 2009/019335 A2

Composition Thermorésistante pour animaux comprenant un mélange enzymatique

5 La présente invention concerne une composition sous forme de poudre comprenant un mélange d'enzymes.

Les enzymes sont utilisées depuis longtemps dans diverses applications industrielles, et notamment en nutrition animale. Dans ce cas, les enzymes améliorent la digestibilité des sources végétales et donc permettent
10 aux animaux d'élevage de digérer leurs aliments plus efficacement.

Les enzymes sont produites par une grande variété d'organismes : plantes, animaux, et surtout microorganismes, c'est-à-dire tout organisme mono ou pluricellulaire, en particulier choisi parmi les bactéries, les levures et les champignons.

15 La demande de brevet EP1007743 décrit notamment un mélange d'enzymes obtenues à partir de *Penicillium funiculosum*, mis en forme sous forme liquide ou sous forme de poudre et destiné à l'alimentation animale.

Les enzymes sont ajoutées aux aliments sous forme liquide par pulvérisation ou elles sont incorporées dans les aliments en mélangeuse puis
20 les aliments sont granulés dans une presse. Une partie importante des aliments pour animaux subissent un traitement thermique pour des raisons d'hygiène (qualité microbiologique) ou de facilité de consommation par les animaux (présentation sous forme de miette ou en granulé). Ces traitement thermiques reposent sur l'utilisation de vapeur à température plus ou moins
25 élevée et associée éventuellement à une agglomération (presse à granuler).

Il s'avère néanmoins que les enzymes sont des protéines qui sont par nature sensibles à la température. On constate une perte d'activité enzymatique lorsque des hautes températures sont utilisées.

Un objet de la présente invention est de proposer une composition
30 sous forme de poudre comprenant un mélange enzymatique qui soit thermorésistante.

Description de l'invention

La présente invention concerne une composition thermorésistante pour animaux sous forme de poudre granuleuse comprenant :

- 5 a) un mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes,
 b) un support choisi dans le groupe consistant en la farine de blé, l'amidon, le gypse, la maltodextrine et les rafles de maïs, et
 c) un enrobant choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes
10 végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés.

Selon un mode de réalisation, le mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes est obtenu à partir de la fermentation d'un seul microorganisme. Selon un autre mode de réalisation le mélange sous forme
15 liquide d'au moins deux enzymes est obtenu à partir de la fermentation de deux microorganismes différents. Avantageusement le mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes est un moût de fermentation filtré et concentré obtenu à partir d'au moins un microorganisme.

- 20 Selon un autre mode de réalisation la composition comprend :
 a) de 15 à 50 % en poids dudit mélange d'au moins deux enzymes,
 b) de 25 à 60 % en poids dudit support,
 c) de 25 à 60 % en poids dudit enrobant.

25 Selon un mode de réalisation, les au moins deux enzymes sont choisies dans le groupe consistant en une xylanase, une β -glucanase, une cellulase, une pectinase, une phytase et une protéase. Avantageusement, les au moins deux enzymes sont choisies dans le groupe consistant en la phytase, l'endo-1,4- β -xylanase, l' α -arabinofuranosidase, la β -xylosidase, la feruloyl estérase, l'endo-
30 1,5 α -arabinanase, l'endo-1,3(4)- β -glucanase, la laminarinase, l'endo-1,4- β -glucanase, la cellobiohydrolase, la β -glucosidase, la polygalacturonase, la pectine estérase, la rhamnogalacturonase, l'aspartic protéase, la métallo protéase, l'endo-1,4- β -mannanase, la β -mannosidase et l' α -galactosidase.

35 Selon un mode de réalisation de l'invention, le microorganisme est *Penicillium funiculzeum* déposé à l'IMI (International Mycological Institute, Bakeham Lane,

Englefield Green, Egham, Surrey, TW20 9TY, UK) le 24 mars 1998 sous le numéro IMI 378536.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'enrobant est la
5 carboxyméthylcellulose ou l'éthylcellulose.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la composition est susceptible d'être obtenue par le procédé comprenant les étapes suivantes :

- a) coséchage des composés suivants :
 - 10 - un support choisi dans le groupe consistant en la farine de blé, l'amidon, le gypsum, la maltodextrine et les rafles de maïs, et
 - un mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes, de façon à obtenir une base intermédiaire,
- b) granulation par imprégnation de la base intermédiaire avec un
15 enrobant choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés,
- c) enrobage de la base intermédiaire imprégnée avec un enrobant
20 choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés, et
- d) séchage.

La présente invention concerne également un additif nutritionnel pour animaux
25 sous forme de poudre comprenant :

- a) un mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes,
- b) un support choisi dans le groupe consistant en la farine de blé, l'amidon, le gypsum, la maltodextrine et les rafles de maïs, et
- c) un enrobant choisi dans le groupe consistant en la cellulose et
30 ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés.

La présente invention concerne aussi un aliment pour animaux caractérisé en ce qu'il comprend une base nutritionnelle pour animaux et un additif nutritionnel
35 selon la revendication 10.

Enfin, la présente invention concerne l'utilisation d'un enrobant choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés pour préparer un additif nutritionnel pour animaux comprenant un mélange d'au moins deux enzymes obtenues à partir de la fermentation d'un seul microorganisme. Avantageusement, l'enrobant est la carboxyméthylcellulose.

Composition

La présente invention concerne donc une composition thermorésistante pour animaux sous forme de poudre granuleuse.

Par "composition thermorésistante", on entend une composition qui résiste à la chaleur. Une des propriétés importantes de la composition selon la présente invention est d'être résistante à la chaleur. En effet, la composition selon la présente invention va subir un traitement thermique destiné d'une part à obtenir une qualité microbiologique et d'autre part à mettre en forme la composition afin d'être plus facilement utilisable par les éleveurs et consommable par les animaux. On parle de procédé de pelletisation. La pelletisation est une agglomération d'aliments sous forme de petits granulés. Ces granulés ne sont pas friables, à la différence des agglomérats. Après pelletisation, on obtient des pellets. Les pellets sont des granulés de taille de 1,5 à 6 mm de diamètre et de 1,5 à 4 cm de longueur. Pour la pelletisation, on utilise par exemple des presses à granuler dont le fonctionnement est basé sur l'utilisation de vapeur à température plus ou moins élevée. Par exemple, la composition résiste à une température supérieure à 20°C, 25°C ou 90°C.

Par "poudre granuleuse", on entend une poudre qui présente une certaine granulométrie.

Selon la présente invention, les exigences granulométriques de la composition obtenue sont les suivantes :

Taille des particules	Pourcentage dans le mélange
Supérieur à 800 µm	< ou = à 1%
Entre 400 et 160 µm	> ou = à 40%, de préférence < ou = à 50%
Inférieur à 200 µm	< ou = à 15%, de préférence > ou = à 12%
Inférieur à 100 µm	< ou = à 10%, de préférence < ou = à 5%

De manière avantageuse, le diamètre médian des particules du produit se situe entre 150 et 400 µm. Par "diamètre médian", on entend la taille des particules du produit à laquelle 50 % de l'échantillon a une taille inférieure et 50 % de l'échantillon a une taille inférieure.

La composition de la présente invention est destinée aux animaux. Autrement dit, la composition selon la présente invention est adaptée à l'utilisation en nutrition animale.

Par "animal", on entend plus particulièrement les animaux d'élevage et notamment les animaux de pacage (notamment les bovins élevés pour la viande, le lait, le fromage et le cuir ; les ovins élevés pour la viande, la laine et le fromage ; les caprins ; les porcins), les lapins, les volailles (les poulets, les poules, les dindes, les canards, les oies et autres), les animaux aquatiques (par exemple les poissons, les crevettes, les huîtres et les moules), les animaux de loisir et de compagnie (notamment le cheval, le chien, le chat). Les bovins, ou bovinés, constituent une sous-famille des bovidés, mammifères ruminants polygastriques, qui comprend plusieurs espèces importantes d'animaux d'élevage (races laitières, races à viande et races mixtes).

On entend par "composition adaptée à l'utilisation en la nutrition animale", une composition dont les caractéristiques sont telles qu'elle convient pour la nutrition animale. Les caractéristiques essentielles à une utilisation en nutrition animale sont notamment le pH et la température auxquels la composition comprenant le mélange d'enzymes est active. En effet, le pH du système digestif des animaux est acide et il est donc essentiel que les enzymes reste active à ce pH, ce afin de conserver leurs activités.

Selon un mode de réalisation de la présente invention, la composition conserve les activités enzymatiques attendues à un pH acide, par exemple inférieur à 7, de préférence inférieur à 5.

5 La présente invention concerne donc une composition thermorésistante pour animaux sous forme de poudre granuleuse comprenant :

- a) un mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes,
- b) un support choisi dans le groupe consistant en la farine de blé, l'amidon, le gypse, la maltodextrine et les rafles de maïs, et
- 10 c) un enrobant choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés.

Les enzymes sont produites par une grande variété d'organismes : plantes, animaux, et surtout microorganismes. Par "microorganisme", on
15 entend tout organisme mono ou pluricellulaire, en particulier choisi parmi les bactéries, les levures et les champignons. De manière avantageuse, les levures sont choisies parmi par exemple *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica* et *Schwanniomyces occidentalis*. Les champignons sont par exemple choisis parmi les *Aspergillus*, les *Trichoderma*
20 et les *Penicillium*, préférentiellement parmi *Penicillium funiculosum*, *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus kawachii* et *Trichoderma koningii*.

Selon un mode de réalisation, le mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes est obtenu à partir de la fermentation d'un seul
25 microorganisme. Avantageusement le mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes est un moût de fermentation filtré et concentré obtenu à partir d'un seul microorganisme.

Selon un autre mode de réalisation de la présente invention, le microorganisme utilisé provient d'une souche de microorganisme à l'état isolée
30 non modifiée génétiquement produisant au moins deux activités enzymatiques. Alternativement, il peut s'agir d'un organisme hôte transformé avec un polynucléotide, une cassette d'expression et/ou un vecteur.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le microorganisme est une souche de *Penicillium funiculosum* dans laquelle on exprime ou sur-
35 exprime une enzyme. Dans un autre mode de réalisation, l'organisme hôte est une souche de *Debaryomyces hansenii* dans laquelle on exprime ou sur-

exprime une enzyme. Dans un autre mode encore de réalisation, l'organisme hôte est une souche de *Ruminococcus gnavus* dans laquelle on exprime ou sur-exprime une enzyme.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le microorganisme est
5 *Penicillium funiculosum* déposé à l'IMI (International Mycological Institute, Bakeham Lane, Englefield Green, Egham, Surrey, TW20 9TY, UK) le 24 mars 1998 sous le numéro IMI 378536.

Selon un autre mode de réalisation, la composition comprend de
10 15 à 50 % en poids dudit mélange d'au moins deux enzymes, préférentiellement de 20 à 40% en poids.

Selon un autre mode de réalisation de la présente invention, la composition thermorésistante pour animaux sous forme de poudre granuleuse comprend un mélange sous forme liquide d'au moins trois enzymes, quatre enzymes, huit enzymes ou dix enzymes.

15 Selon un mode de réalisation, les au moins deux enzymes sont choisies dans le groupe consistant en une xylanase, une β -glucanase, une cellulase, une pectinase, une phytase et une protéase. Avantagusement, les au moins deux enzymes sont choisies dans le groupe consistant en la phytase, l'endo-1,4- β -xylanase, l' α -arabinofuranosidase, la β -xylosidase, la feruloyl
20 estérase, l'endo-1,5 α -arabinanase, l'endo-1,3(4)- β -glucanase, la laminarinase, l'endo-1,4- β -glucanase, la cellobiohydrolase, la β -glucosidase, la polygalacturonase, la pectine estérase, la rhamnogalacturonase, l'aspartic protéase, la métallo protéase, l'endo-1,4- β -mannanase, la β -mannosidase et l' α -galactosidase.

25 La présente composition comprend également un support. Le support est choisi dans le groupe consistant en la farine de blé, l'amidon, le gypse, la maltodextrine et les rafles de maïs. Le support est présent dans la composition à une teneur comprise entre 25 et 60 % en poids de la composition thermorésistante sous forme de poudre granuleuse.

30 La présente composition comprend enfin un enrobant. L'enrobant est choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés. Les gommes végétales sont des exsudats de plantes qui se solidifient par dessiccation. A titre indicatif
35 des gommes pouvant être utilisées dans la présente invention, on peut citer les

gommes suivantes : gomme arabique, gomme Karaya, gomme adragante, gomme guar, gomme xanthane.

Par "amidons et dérivés", on entend tout polysaccharide formé de l'association de deux polymères : l'amylose et l'amylopectine. Selon la présente invention, l'amidon peut se trouver sous forme de poudre ou sous forme d'empois. A titre indicatif, il peut s'agir d'amidon natif de blé, d'amidon natif de maïs, d'amidon natif de riz ou de fécula de pomme de terre. Il peut également s'agir des mêmes amidons traités physiquement, par exemple pré-gélatinisés.

Selon un mode de réalisation de l'invention, l'enrobant est la carboxyméthylcellulose ou l'éthylcellulose.

L'enrobant est présent dans la composition thermorésistante sous forme de poudre granuleuse à une teneur comprise entre 25 et 60 % en poids, de préférence entre 30 et 55% en poids.

Selon un autre objet de la présente invention, la composition est susceptible d'être obtenue par le procédé comprenant les étapes suivantes :

a) coséchage des composés suivants :

- un support choisi dans le groupe consistant en la farine de blé, l'amidon, le gypse, la maltodextrine et les rafles de maïs, et

- un mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes,

de façon à obtenir une base intermédiaire,

b) granulation par imprégnation de la base intermédiaire avec un enrobant choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés,

c) enrobage de la base intermédiaire imprégnée avec un enrobant choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés, et

d) séchage.

L'enrobant, identique ou différent, est utilisé au cours de deux étapes successives du procédé. Ceci conduit à une poudre présentant un aspect nouveau, dans laquelle l'enrobant se trouve à la fois à l'intérieur et à l'extérieur de la poudre granuleuse. Ceci confère à la poudre des propriétés avantageuses.

La composition sous forme de poudre présente une bonne coulabilité. Un exemple de protocole de mesure permettant d'évaluer la

coulabilité de la poudre est la détermination de l'angle de talus. Cette méthode repose sur la détermination de l'angle à la base du cône d'éboulement obtenu en faisant passer l'échantillon à travers un entonnoir spécial placé à une hauteur conventionnelle, au-dessus d'une plaque parfaitement plane et horizontale. Cette méthode nécessite l'appareillage suivant : verrerie et matériel de laboratoire, entonnoir en acier inoxydable, dont la base a un diamètre (d) intérieur de 6 mm (l'entonnoir se fixant sur le support), plaque en acier inoxydable gravée de 4 droites formant entre elles un angle de 45° et passant à l'aplomb du centre de l'entonnoir, support en acier inoxydable fixé à la plaque. La méthode consiste à ajuster la hauteur (H) entre la plaque et la base de l'entonnoir à 40 mm, vérifier l'aplomb de centre de l'entonnoir avec le point de croisement des droites gravées, verser la poudre dans l'entonnoir, arrêter l'alimentation quand le sommet du cône touche la base de l'entonnoir, tracer sur chaque ligne gravée, un trait à la base du cône de silice formé, éliminer la silice et mesurer la distance séparant deux traits d'une même ligne pour chacune d'elles.

L'angle du Talus d'éboulement exprimé en degrés est donné par la formule :

$$\alpha = \text{Arctg} \frac{2H}{D - d}$$

dans laquelle :

- H : la hauteur du cône en mm (H = 40)
- d : diamètre intérieur de la base de l'entonnoir en mm (d = 6 mm)
- D : moyenne arithmétique des 4 mesures en mm
- α : angle de Talus en degré.

Selon la présente invention, la composition sous forme de poudre présente un angle de repos compris entre 20° et 50°, de préférence entre 20° et 45°.

Un autre exemple de protocole de mesure permettant d'évaluer la coulabilité de la poudre est la mesure de la compressibilité, selon la formule suivante :

$$\text{Compressibilité} = \frac{\%(\text{densité tassée} - \text{densité non tassée})}{\text{densité tassée}}$$

Selon la présente invention, la composition sous forme de poudre présente un index de compressibilité compris entre 0 et 40%, de préférence entre 0 et 20%.

Les compositions sous forme de poudre de la présente invention peuvent en outre comprendre un principe actif différent du mélange d'enzymes ou plusieurs principes actifs.

Par "principe actif", on entend toutes substances possédant une activité physiologique établie chez l'animal. Entrent notamment dans la catégorie de principe actif selon l'invention les compléments alimentaires. Les compléments alimentaires pour animaux sont des produits destinés à être ingérés, en complément de l'alimentation courante, afin de pallier l'insuffisance des apports journaliers en certains composés. Il est par exemple connu, de manière générale, de compléter les rations alimentaires des animaux d'élevage avec des principes actifs, de manière à augmenter la performance zootechnique des animaux élevés. Il peut notamment s'agir de vitamines, de sels minéraux, d'acides aminés, d'oligo-éléments, d'hormones ou d'antibiotiques.

Procédé de préparation de la composition sous forme de poudre granuleuse

Le procédé de préparation de la composition susmentionnée comprend les étapes suivantes :

- a) coséchage des composés suivants :
 - au moins un support choisi dans le groupe consistant en la farine de blé, l'amidon, le gypse, la maltodextrine et les rafles de maïs, et
 - au moins un mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes obtenues à partir d'un seul microorganisme moyennant quoi on obtient une base intermédiaire,
- b) granulation par imprégnation de la base intermédiaire avec un enrobant choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés,
- c) enrobage de la base intermédiaire imprégnée avec un enrobant choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés, et
- d) séchage.

La première étape du procédé consiste donc en un coséchage du mélange enzymatique qui se trouve sous forme liquide avec le support selon

l'invention. Cette étape peut être réalisée en continu, sur une tour de séchage par atomisation. Le coséchage se déroule à une température non dégradante. La poudre doit être maintenue à une température inférieure à 45°C. Cette étape conduit à ce qu'une partie importante du mélange enzymatique sous
5 forme liquide soit retenue sur le support. On obtient une poudre microgranulée de dimension comprise entre 50 et 250µm. L'humidité de la poudre est inférieure à 20%.

La deuxième étape du procédé consiste en une granulation par imprégnation de la base intermédiaire avec un enrobant choisi dans le groupe
10 consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés. Il s'agit en l'espèce d'une granulation humide qui consiste à effectuer dans un mélangeur, également appelé granulateur, équipé d'un système d'addition de liquide, une densification des particules associée à une granulation pour donner la
15 cohésion aux particules. Cette étape peut être réalisée en continu ou en discontinu.

La troisième étape du procédé consiste à déposer un film suffisant d'un enrobant choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les
20 amidons et dérivés. Cet enrobant peut être le même que celui utilisé lors de l'étape de granulation ou il peut être différent. Cette étape peut être réalisée en en continu ou en discontinu, par exemple sur un sécheur à lit fluidisé. La quantité d'enrobant dépend de la granulométrie finale du produit souhaitée.

La quatrième étape consiste à sécher le produit final. Ce séchage
25 peut être réalisé en continu sur un lit fluidisé ou en batch, de manière à ce que la teneur en eau du produit soit inférieure à 10%, préférentiellement à 8%.

Il est possible d'ajouter une étape intermédiaire entre la deuxième et la troisième étape. Cette étape consiste à sécher la poudre granulée de
manière continue ou de manière discontinue.

30 Il est également possible d'ajouter une étape de tamisage entre la deuxième et la troisième étape ou après l'étape optionnelle de séchage de la poudre granulée.

Procédé de pelletisation

35 Selon la présente invention, le procédé de pelletisation comprend les étapes suivantes :

- a) on alimente d'une part la composition thermorésistante sous forme de poudre granuleuse et d'autre part la base nutritionnelle dans un alimentateur,
- b) on chauffe le mélange à une température comprise entre 60 et 100°C, de préférence entre 70°C et 90°C,
- c) on pelletise ladite composition dans une presse à granuler, et
- d) les pellets obtenus sont coupés à la longueur désirée,
- e) on procède au séchage et refroidissement des pellets obtenus à l'étape d).

Additif nutritionnel pour animaux

La présente invention concerne également un additif nutritionnel sous forme de poudre comprenant :

- a) un mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes,
- b) un support choisi dans le groupe consistant en la farine de blé, l'amidon, le gypse, la maltodextrine et les rafles de maïs, et
- c) un enrobant choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés.

Aliment pour animaux

La présente invention concerne également un aliment pour animaux caractérisé en ce qu'il comprend une base nutritionnelle pour animaux et un additif nutritionnel tel que ci-dessus défini.

La base nutritionnelle comprend par exemple un mélange de blé, du tourteau de soja, des graines de soja extrudées, de l'huile de palme, du carbonate de calcium, du phosphate bicalcique, du sel, un prémix contenant de la méthionine.

Utilisation

Un objet de la présente invention concerne également l'utilisation de la carboxyméthylcellulose pour préparer un additif nutritionnel pour animaux comprenant un mélange d'au moins deux enzymes obtenues à partir de la fermentation d'un seul microorganisme.

Un autre objet de la présente invention est l'utilisation de la carboxyméthylcellulose pour préparer un additif nutritionnel pour animaux

13

destinée à améliorer les performances de croissance des animaux, par exemple améliorer l'indice de consommation.

5 **Description des figures**

La figure 1 représente les granulométries respectives d'une poudre de l'art antérieur et d'une poudre selon la présente invention; en abscisses, le diamètre en μm ; en ordonnées, le pourcentage dans le produit.

10

Exemple 1

Une composition selon l'invention a été préparée selon le procédé de la présente invention. Elle se présente sous forme de poudre et contient 55% de carboxyméthylcellulose, 25% de farine de blé et 20% de moût de fermentation filtré concentré obtenu à partir de la fermentation de *Penicillium funiculosum* IMI 378536 qui contient 19 activités enzymatiques.

20 1. Coséchage

475 kg/h de solution enzymatique à 23,7% MS (matière sèche) sont pulvérisés à 165 bars et coséchés en continu sur farine à raison de 113 kg/h à basse température. La répartition dans l'extrait sec est donc la suivante : 55% enzyme pur et 45 % du support, en l'espèce de la farine.

25 - 146°C : température air entrée

- 49 °C : température air sortie

- 40 °C : température air du lit statique

- 35 °C : température air du vibro fluidiseur (première section)

- 27 °C : température air du vibro fluidiseur (deuxième section)

30 La poudre micro granulée obtenue à ce stade présente un caractère de poudre sans fines inférieur à 63 μm , ce qui en fait un produit apte à être manipulé dans une deuxième phase.

La granulométrie moyenne en D(v, 0,5) est 117 microns et l'humidité de 7,5%.

Le produit obtenu en fin de cette première étape est appelé base intermédiaire.

35

2. Granulation par imprégnation

Elle est faite dans un mélangeur de la façon suivante :

- 30 secondes de mélange préalable des ingrédients, c'est-à-dire de 0,77 kg d'extrait sec de CMC par kg d'extrait sec de base intermédiaire,
- 5 - 120 secondes d'addition d'eau à raison de 0,13 kg d'eau par kg d'extrait sec et base intermédiaire, sous agitation,
- 120 secondes de mélange terminal.

L'objectif de cette étape est d'obtenir des particules de l'ordre de 150 à 200 µm en moyenne, avec une humidité de 14%, tout en maintenant le produit
10 à moins de 45°C afin de ne pas détériorer les activités enzymes.

3. Séchage intermédiaire sur lit fluidisé

On sèche le produit sur sécheur à lit fluidisé à une température de 55°C en entrée et une température de 25°C en sortie, afin de ne pas détériorer les
15 activités enzymes. La base intermédiaire avant enrobage est alors à 7 ou 8% d'humidité.

4. Enrobage

On pulvérise entre 7 et 7,5% d'une solution de CMC de basse viscosité
20 réchauffée avant pulvérisation à une température variant entre 60 et 70°C.

La quantité de solution déposée est de 0,25 kg d'extrait sec de CMC par kg d'extrait sec de produit à enrober.

La poudre obtenue à ce stade a une granulométrie moyenne de 300 à 400 µm et une humidité de 10 à 11%.

25 Le produit final est alors sécher en continu sur un lit fluidisé ou en batch, l'objet dans ce cas est de ramener le produit à une teneur en eau inférieure à 10% et préférentiellement à inférieure 8%.

Le produit final obtenu a une teneur en eau de 7,6% et une densité de 450 g/l.
30

5. Mesure de granulométrie

La granulométrie a été mesurée respectivement pour les compositions suivantes :

La première composition est le produit ROVABIO™ EXCEL AP qui se présente
35 sous forme de poudre.

La seconde composition a été préparée selon le procédé décrit ci-dessus. Il s'agit donc d'une composition selon l'invention qui contient 55% de carboxyméthylcellulose, 25% de farine de blé et 20% de moût de fermentation filtré concentré obtenu à partir de la fermentation de *Penicillium funiculosum* IMI 378536.

La granulométrie des compositions est reprise dans le tableau ci-dessous :

Taille des particules	% dans le produit ROVABIO™ EXCEL AP	% dans le produit de la 2 nd e composition
> 800 µm	0%	0,5%
< à 800µm et > 630 µm	0,1%	3,2%
< à 630µm et > 500 µm	0,4%	11,4%
< à 500µm et > 400µm	0,9%	19,7%
< à 400µm et > 315 µm	2,2%	24,9%
< à 315µm et > 200 µm	14,3%	29,2%
< à 200µm et > 160	15,1%	6,4%
< à 160µm et > 100 µm	40,6%	4,3%
< 100 µm	26,5%	0,4%
Diamètre médian	135µm	350 µm
Indice de dispersion	0,5	0,4

On constate que la granulométrie de la deuxième composition présente l'avantage de comporter une quantité de petites particules inférieure à celle du produit ROVABIO™ EXCEL AP (composition sous forme de poudre granuleuse de l'art antérieur). Cette faible quantité de petites particules évite les problèmes de perte de produits, de cross-contamination entre le système de production et les produits eux-mêmes, d'utilisation de systèmes de filtration et de ventilation et d'effets indésirables sur la santé.

Voir figure 1.

6. Autres mesures

- La compressibilité du produit ROVABIO™ EXCEL AP est de 22,1%, alors que
5 la compressibilité de la seconde composition est de 3,4%.

Exemple 2

Objectif

- L'objectif est de tester à la granulation quatre préparations enzymatiques
ajoutées dans une base d'aliment volaille croissance.
10 3 températures de traitement en sortie de conditionneur (80, 85 et 90°C) sont
appliquées pour chaque préparation enzymatique.

Matériels et Méthodes

15 1. Aliment et enzymes

- 180 kg d'aliment farine volaille croissance sont utilisés pour réaliser ces essais.
Quatre compositions sous forme de poudre sont testées. Chaque compositions
répondant ou non aux critères de la composition selon la présente invention est
appelé item d'essai.
20 La première composition est le produit ROVABIO™ EXCEL AP qui se présente
sous forme de poudre et contient 19 activités enzymatiques. Ce produit se
compose de 20% de farine de blé et de 80% de moût de fermentation filtré
concentré obtenu à partir de la fermentation de *Penicillium funiculosum* IMI
378536 qui contient 19 activités enzymatiques.
25 La seconde composition a été préparée selon le procédé décrit à l'exemple 1.
Elle se présente sous forme de poudre de granulométrie ci-dessus mentionnée
et contient 55% de carboxyméthylcellulose, 25% de farine de blé et 20% de
moût de fermentation filtré concentré obtenu à partir de la fermentation de
Penicillium funiculosum IMI 378536 qui contient 19 activités enzymatiques.
30 La troisième composition a été préparée selon le procédé décrit à l'exemple 1.
Elle se présente sous forme de poudre de granulométrie ci-dessus mentionnée
et contient 35% de carboxyméthylcellulose, 45% de farine de blé et 20% de
moût de fermentation filtré concentré obtenu à partir de la fermentation de
Penicillium funiculosum IMI 378536 qui contient 19 activités enzymatiques.
35 La quatrième composition a été préparée selon le procédé décrit à l'exemple 1.

17

Elle se présente sous forme de poudre de granulométrie ci-dessus mentionnée et contient 35% de carboxyméthylcellulose, 45% de farine de blé et 20% de moût de fermentation filtré concentré obtenu à partir de la fermentation de *Penicillium funiculocum* IMI 378536 qui contient 19 activités enzymatiques.

5

2. Mélanges

Deux mélanges de 60 kg d'aliment volaille croissance sont préparés à l'aide d'une mélangeuse à pâles à axe horizontal tournant à 60 tr/mn. La durée de chaque mélange est de 2 minutes. Chaque lot mélangé est vidangé dans un bac rectangulaire avant sa mise en sacs. Un échantillon d'environ 1 kg représentatif de chaque mélange est prélevé par regroupement de 20 échantillons obtenus par quartage dans le bac rectangulaire. Voir le tableau des mélanges ci-dessous.

15

MELANGE	TYPE D'ALIMENT	Composition sous forme de poudre et taux d'incorporation	Qté de préparation enzymatique incorporée dans chaque mélange	Qté d'aliment blanc incorporé dans chaque mélange
A	Volaille croissance	ROVABIO™ EXCEL AP à 50g/T	3 g	59 998 kg
B		Composition selon l'invention (55% CMC) à 50g/T	3 g	59 998 kg
C		Composition selon l'invention (35% CMC) à 50g/T	2 g	39 998 kg
D		Composition selon l'invention (35% CMC) à 50g/T	2 g	39 998 kg

3. Granulation

Les essais de granulation sont réalisés sur une presse de laboratoire à filière plate (Presse KAHL 14-175 de 3 KW). Pour un d'aliment farine poulet de chair croissance, la filière de presse choisie pour les essais aura des canaux de 4 mm de diamètre et de 24 mm d'épaisseur (taux de compression: 6).

20

4. Séchage – Refroidissement

Pour chaque essai de granulation, un sécheur refroidisseur de laboratoire est utilisé pour sécher et refroidir les échantillons de granulés chauds recueillis en sortie de filière.

- 5 Le temps de séchage refroidissement est au minimum de 5 minutes pour une charge en granulés chauds d'environ 3.5 kg par refroidisseur.
Un échantillon d'environ 500g représentatif de chaque fabrication est prélevé.

5. Mesures et prélèvements destinés au contrôle de la granulation

- 10 Les mesures et les prélèvements sont réalisés pendant le régime stabilisé de la presse (débit constant, Puissance Electrique Consommée et Températures stables).

Les mesures d'humidités et de temps de séjour en filière sont réalisées à partir d'échantillons prélevés pendant la phase stabilisée de chaque essai.

- 15 Les caractérisations et paramètres de conduite de pressage sont relevés et enregistrés pendant les essais.

6. Méthodes analytiques

6.1 β -glucanase par la méthode au DNS

- 20 L'essai se base sur l'hydrolyse enzymatique de β -glucane de l'orge, un β -1,3(4)-glucane. Les produits de la réaction sont déterminés par colorimétrie en mesurant l'augmentation des groupes réducteurs à l'aide d'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS). La concentration en sucre réducteur disponible après hydrolyse enzymatique est déterminée à l'aide une courbe de glucose étalon
25 dont l'absorbance est mesurée à 540 nm. L'activité enzymatique calculée est ensuite exprimée en équivalents glucose.

- Une solution contenant 1 ml d'une solution de β -glucane de l'ordre à 1% (m/V) dans un tampon acétate de sodium 0,1 M à pH 5,0 et 1 ml de solution de l'enzyme à la dilution appropriée est incubée à 50°C pendant 10 minutes. La
30 réaction enzymatique est stoppée par l'ajout de 2 ml d'une solution de DNS (1% (m/V) d'acide 3,5-dinitrosalicylique, 1,6% (m/V) de NaOH, 30% (m/V) de tartrate de potassium et sodium (+) dans de l'eau distillée). La solution est homogénéisée puis placée dans un bain-marie bouillant à 95°C minimum et ensuite refroidie dans un bain à la température ambiante (pendant 5 minutes).

- 35 Dix ml d'eau ultrapure sont ajoutés à la solution et l'absorbance est mesurée à 540 nm dans une cellule en verre ayant une longueur de trajet optique de 1 cm.

19

L'absorbance est corrigée avec celle obtenue pour une solution de référence à laquelle le DNS est ajouté avant la solution enzymatique.

Les résultats sont convertis en μ moles de sucre réducteur par comparaison avec une gamme de solutions étalons allant de 0,00 à 0,04% (m/V) de glucose, traitées au DNS comme dans le cas des essais.

Une unité d'activité d'endo-1,3(4)- β -glucanase est définie comme la quantité d'enzyme qui produit 1 μ mole d'équivalent glucose par minute et par gramme de produit, dans les conditions de l'essai (pH 5,0 et 50°C).

10 6.2 Xylanase par la méthode au DNS

L'essai se base sur l'hydrolyse enzymatique de xylane de bouleau, un polymère de xylose contenant des ponts β -D-1,4. Les produits de la réaction sont déterminés par colorimétrie en mesurant l'augmentation des groupes réducteurs à l'aide d'acide 3,5-dinitrosalicylique. La concentration en sucre réducteur disponible après hydrolyse enzymatique est déterminée à l'aide d'une courbe de xylose étalon dont l'absorbance est mesurée à 540 nm. L'activité enzymatique calculée est ensuite exprimée en équivalents xylose.

Une solution contenant 1 ml d'une solution de xylane de bouleau à 1% (m/V) dans un tampon acétate de sodium 0,1 M à pH 5,0 et 1 ml de solution de l'enzyme à la dilution appropriée est incubée à 50°C pendant 10 minutes. La réaction enzymatique est stoppée par l'ajout de 2 ml d'une solution de DNS (1% (m/V) d'acide 3,5-dinitrosalicylique, 1,6% (m/V) de NaOH, 30% (m/V) de tartrate de potassium et sodium (+) dans de l'eau distillée). La solution est homogénéisée puis placée dans un bain-marie bouillant à 95°C minimum et ensuite refroidie dans un bain à la température ambiante (pendant 5 minutes). Dix ml d'eau ultrapure sont ajoutés à la solution et l'absorbance est mesurée à 540 nm dans une cellule en verre ayant une longueur de trajet optique de 1 cm. L'absorbance est corrigée avec celle obtenue pour une solution de référence à laquelle le DNS est ajouté avant la solution enzymatique.

Les résultats sont convertis en μ moles de sucre réducteur par comparaison avec une gamme de solutions étalons allant de 0,00 à 0,04% (m/V) de xylose, traitées au DNS comme dans le cas des essais.

Une unité d'activité d'endo-1,4- β -xylanase est définie comme la quantité d'enzyme qui produit 1 μ mole d'équivalent xylose par minute et par gramme de produit, dans les conditions de l'essai (pH 5,0 et 50°C).

6.3 Xylanase par la méthode viscosimétrie

Cette méthode est spécifique à la détermination de l'activité endo-1,4-β-xylanase dans les aliments. L'endo-1,4-β-xylanase hydrolyse les ponts xylosidiques du xylan. L'essai est basé sur l'hydrolyse enzymatique des ponts xylosiques d'une solution d'arabinose de blé, polysaccharide de β-1,4-xylan substitué avec de l'arabinose. L'activité enzymatique est proportionnelle à la réduction de viscosité d'une solution d'arabinoxylan de blé en présence de l'enzyme à doser.

Une unité d'activité d'endo-1,4-β-xylanase est définie comme la quantité d'enzyme qui hydrolysera le substrat, réduisant la viscosité de la solution, pour donner un changement de la fluidité relative de 1 unité sans dimensions par minute dans les conditions de l'analyse : pH 5,5 et 30 °C.

Résultats des essais

1. Consignes de réglages

Les consignes de régulation de la presse sont les suivantes:

- Débit : environ 41 kg/h
- Températures de traitement en sortie conditionneur : 80, 85 et 90°C
- Températures subies en sortie de filière
- Pression de vapeur : 1.6 bars
- Réglage de la hauteur de coupe des couteaux : 10 mm

2. Bilan des activités enzymatiques

	A	B	C	D
Taux de CMC	0	55%	35%	35%
Xylanase D11S	3810	4027	5344	5304
Xylanase visco	31053	30293	32273	31153
B-glucanase D11S	4676	5265	6300	6081

Tableau : activité enzymatique (unités/g)

On constate que les différentes formulations permettent de préserver les principales activités enzymatiques de référence du concentré enzymatique initial.

3. Taux de récupération en activité xylanase mesurée par viscosimétrie sur les aliments après passage en presse à différentes températures

	Taux de CMC	Température de traitement presse		
		80°C	85°C	90°C
A	0	76%	68%	54%
B	55%	100%	85%	82%
C	35%	99%	90%	81%
D	35%	96%	86%	93%

- 5 On constate que l'activité xylanase du produit standard (A) est affectée par la montée en température des conditions de granulation (jusqu'à 46% de pertes à 90°C). Les différentes formulations testées permettant de limiter la perte d'activité à moins de 20%.

10 **Exemple 3**

Objectif

Etude de l'effet nutritionnel de Rovabio™ Excel AP et d'une composition selon la présente invention sur la valeur d'EMA_N (Energie métabolisable apparente avec correction azotée, ou AME_N) d'un aliment à base de blé chez le poulet

- 15 entre 12 et 22 jours

Matériel et méthodes

1. Schéma expérimental

Les animaux utilisés sont des poussins mâles de souche Ross PM3.

- 20 7 régimes de 12 répétitions de 1 poulet par cage soit 84 cages au total

Les essais sont réalisés en randomisation aléatoire contrôlée

Les items d'essai contiennent des activités enzymatiques potentiellement capables d'améliorer la digestibilité d'un aliment à base de blé et de maïs chez

- 25 le poulet.

Régimes		1	2	3	4	5	6	7
Bases	Starter	BMS (blé maïs soja)						
	Croissance	Blé mélange						
Produits		Témoin	Excel AP	Composition selon l'invention	Composition selon l'invention	Excel AP	Composition selon l'invention	Excel AP
Dose	g/t d'aliment	/	50	50	50	50	50	50
Poids aliment à préparer (kg granulés)		20	20	20	20	20	20	20
Poids aliment à traiter (kg farine)		100	100	100	100	100	100	100
Effectif		12	12	12	12	12	12	12

Tableau : schéma expérimental

2. Plan d'alimentation

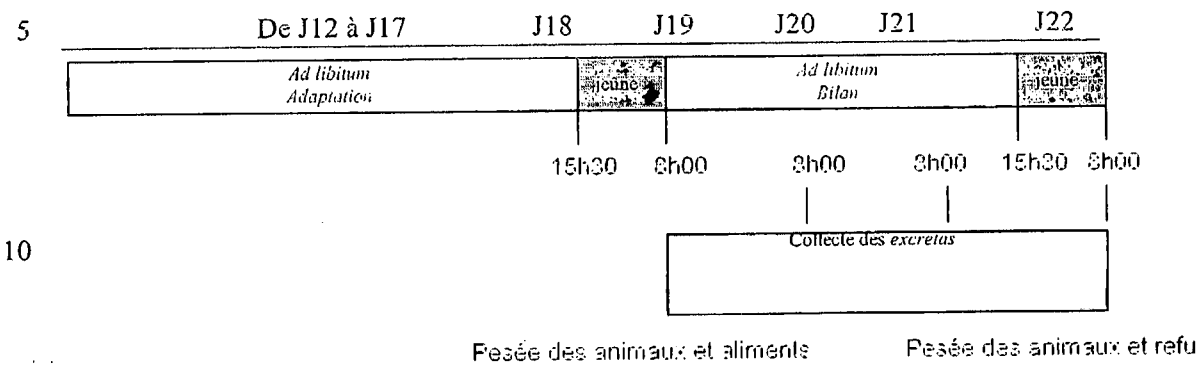
- 5 Le plan d'alimentation a été le suivant pendant la durée de l'essai.

	J0-J12	J12 à J18	J19 à J22
Période	Starter	Adaptation	Bilan
Modalité	Ad libitum	Ad libitum	Ad libitum
Type d'aliment	Pré-expérimental	Expérimental	Expérimental
Base	Blé Maïs / Maïs	Blé Soja / Maïs Soja	Blé Soja / Maïs Soja

Tableau : aliments utilisés au cours de l'étude

3. Déroulement de l'expérience

La chronologie des principales interventions est présentée ci-dessous :



Résultats

15 1. Aliments

Régimes	Aliment	Traitement	Xylanase visco (U/kg)		
			Titre théorique	Titre mesuré	Recovery (%)
1	Blé	témoin	0	0	/
2	Blé	Excel AP1	1553	827	53%
3	Blé	Composition 1 selon l'invention	1647	1116	68%
4	Blé	Composition 2 selon l'invention	2170	2408	111%
5	Blé	Excel AP2	1954	1647	84%
6	Blé	Composition 3 selon l'invention	2039	1602	79%
7	Blé	Excel AP3	1824	1570	86%

Tableau : Analyse de récupération enzymatique xylanase mesurée sur les aliments expérimentaux

20 Les valeurs d'activité enzymatique xylanase visco sont supérieures à la recommandation de 1100 U/kg d'aliment pour les aliments sauf pour le régime 2.

2. Digestibilité de l'énergie

	Régimes Items Dose Base	1 Témoïn / Blé	2 AP1 50 g/t	3 Inv 1 50 g/t	4 Inv 2 50 g/t	5 AP2 50 g/t	6 Inv 3 50 g/t	7 AP3 50 g/t
AMEn* kcal/kg MS	Moyennes	3184 a	3238 ac	3231 ac	3300 c	3230 bc	3233 ac	3200 ab
	Ecart type	112,8	109,8	127,7	123,6	69,7	92,9	110,9
	CV	3,54	3,39	3,95	3,75	2,12	2,87	3,47
	Nb valeurs	12	12	12	12	12	10	12
	Delta		54,0	46,2	115,9	95,5	43,9	15,8
AMEn* kcal/kg	Moyennes	2913 a	2961 ac	2954 ac	3013 c	2998 bc	2958 ac	2929 ab
	Ecart type	102,1	100,4	115,3	111,6	63,7	84,7	100,1
	CV	3,51	3,39	3,92	3,70	2,12	2,86	3,42
	Nb valeurs	12	12	12	12	12	10	12
	Delta		48,8	41,0	105,6	95,6	45,2	15,1

Tableau : Résultats de digestion de l'énergie par régime

* : Energie malabolisable apparente

- 5 Tous les items testés ont permis d'améliorer la digestibilité de l'énergie de l'aliment testé mais avec des efficacités variables
Les améliorations d'AMEn sont d'un niveau modéré, atteignant +105 kcal/kg MS environ pour la composition 2 selon l'invention.
Les deux types de compositions ont eu le même effet sur l'AME mesurée. Une
- 10 seconde analyse a donc été réalisée par produit.

	Items Dose Base	Témoïn / Blé	Excel AP 50 g/t	Invention 50 g/t
AMEn kcal/kgMS	Moyennes	3184 a	3244 ab	3256 b
	Ecart type	112,8	97,8	118,3
	CV	3,54	3,02	3,63
	Nb valeurs	12	48	36
	Delta		59,3	71,6
AMEn kcal/kg	Moyennes	2913 a	2966 ab	2978 b
	Ecart type	102,1	88,9	107,3
	CV	3,51	3,00	3,60
	Nb valeurs	12	48	36
	Delta		53,5	65,0

Tableau : Résultats de digestion de l'énergie par produit

Cette seconde analyse montre que globalement les items T-Flex ont amélioré la digestibilité de l'énergie de l'aliment testé. Par contre l'amélioration obtenue avec les items Excel AP est non significative malgré une tendance forte (p=0.06).

3. Performances de croissance

	Régimes Items Dose Base	1 Témoin / Blé	2 AP1 50 g/l	3 Inv 1 50 g/l	4 Inv 2 50 g/l	5 AP2 50 g/l	6 Inv 3 50 g/l	7 AP3 50 g/l
Poids début Adaptation (g)	Moyennes	322	324	324	324	324	323	323
	Ecart type	22,1	21,2	21,1	22,2	20,6	21,6	22,4
	CV	6,9	6,5	6,5	6,9	6,4	6,7	6,9
Poids fin Bilan (g)	Moyennes	663	686	685	676	681	681	675
	Ecart type	79,4	65,5	50,6	50,2	40,4	45,7	35,7
	CV	12,0	9,5	7,4	7,4	5,9	6,7	5,3
Gain de poids J12-J22 (g)	Moyennes	341	362	361	352	356	358	352
	Ecart type	62,6	49,3	37,7	37,4	33,9	32,2	34,5
	CV	18,4	13,7	10,5	10,6	9,5	9,0	9,8
Consom J12-J22 (g)	Moyennes	665	672	674	649	656	671	658
	Ecart type	104,6	75,0	64,7	51,7	45,9	62,6	49,8
	CV	15,7	11,2	9,6	8,0	7,0	9,3	7,6
IC* J12-J22	Moyennes	1,96 a	1,86 b	1,87 b	1,85 b	1,85 b	1,88 b	1,87 b
	Ecart type	0,108	0,066	0,076	0,107	0,073	0,073	0,071
	CV	5,510	3,558	4,038	5,774	3,958	3,898	3,793
	Delta (%)		-5,1	-4,7	-5,8	-6,0	-4,5	-4,7

Tableau : Résultats de croissance de J12 à J22

10 * : Indice de Consommation

Contrairement à ce qui a été observé pour la digestibilité de l'énergie, les items testés ont pratiquement tous eu un effet significatif sur les performances de croissance (indice de consommation) sur la période totale d'étude (12 à 22 jours). Les compositions selon l'invention (Inv 1, Inv 2 et Inv 3) et les compositions RovabioTM Excel AP (AP1, AP2 et AP3) ont apporté pratiquement la même amélioration d'indice.

15

REVENDECATIONS

1. Composition thermorésistante susceptible d'être obtenue par le procédé comprenant les étapes suivantes :

- a) coséchage des composés suivants :
 - un support choisi dans le groupe consistant en la farine de blé, l'amidon, le gypsum, la maltodextrine et les rafles de maïs, et
 - un mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes, de façon à obtenir une base intermédiaire,
- b) granulation par imprégnation de la base intermédiaire avec un enrobant choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés,
- c) enrobage de la base intermédiaire imprégnée avec un enrobant choisi dans le groupe consistant en la cellulose et ses dérivés, la chitine, la carraghénine, l'alginate de sodium, les gommes végétales, les gommes obtenues par fermentation et les amidons et dérivés, et
- d) séchage.

2. Composition thermorésistante selon la revendication 1, dans laquelle le mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes est obtenu à partir de la fermentation d'un seul microorganisme.

3. Composition thermorésistante selon la revendication 1, dans laquelle le mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes est obtenu à partir de la fermentation de deux microorganismes différents.

4. Composition thermorésistante selon la revendication 1, comprenant :
- a) de 15 à 50 % en poids dudit mélange d'au moins deux enzymes,
 - b) de 25 à 60 % en poids dudit support,
 - c) de 25 à 60 % en poids dudit enrobant.

5. Composition thermorésistante selon la revendication 1, selon laquelle l'enrobant est la carboxyméthylcellulose.

6. Composition thermorésistante selon la revendication 1 ou 2, dans laquelle le mélange sous forme liquide d'au moins deux enzymes est un moût de

fermentation filtré concentré obtenu à partir de la fermentation d'au moins un microorganisme.

7. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle les au moins deux enzymes sont choisies dans le groupe consistant en une xylanase, une β -glucanase, une cellulase, une pectinase, une phytase et une protéase.

8. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle les au moins deux enzymes sont choisies dans le groupe consistant en la phytase, l'endo-1,4- β -xylanase, l' α -arabinofuranosidase, la β -xylosidase, la feruloyl estérase, l'endo-1,5 α -arabinanase, l'endo-1,3(4)- β -glucanase, la laminarinase, l'endo-1,4- β -glucanase, la cellobiohydrolase, la β -glucosidase, la polygalacturonase, la pectine estérase, la rhamnogalacturonase, l'aspartic protéase, la métallo protéase, l'endo-1,4- β -mannanase, la β -mannosidase et l' α -galactosidase.

9. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes dans laquelle un microorganisme est *Penicillium funiculosum* déposé à l'IMI (International Mycological Institute, Bakeham Lane, Englefield Green, Egham, Surrey, TW20 9TF, UK) le 24 mars 1993 sous le numéro IMI 378536.

10. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes dans laquelle l'enrobant est la carboxyméthylcellulose ou l'éthylcellulose.

11. Aliment pour animaux caractérisé en ce qu'il comprend une base nutritionnelle pour animaux et une composition selon l'une revendications précédentes.

12. Utilisation d'une composition selon l'une quelconque des revendications précédentes pour la préparation d'un additif nutritionnel pour animaux sous forme de poudre granuleuse.

13. Utilisation d'une composition selon l'une quelconque des revendications précédentes pour la préparation d'un aliment pour animaux caractérisé en ce qu'il comprend une base nutritionnelle pour animaux et un additif nutritionnel.

COMPOSICIÓN PARA ANIMALES RESISTENTE AL CALOR QUE
COMPRENDE UNA MEZCLA ENZIMÁTICA

La presente invención se relaciona con una composición en forma de polvo que
5 comprende una mezcla de enzimas.

Durante mucho tiempo las enzimas han sido utilizadas en varias aplicaciones
industriales, en particular en nutrición animal. En este caso, las enzimas mejoran
la digestibilidad de las fuentes de plantas y así permiten que los animales de
10 granja digieran sus alimentos más eficientemente.

Las enzimas son producidas por una gran variedad de organismos: plantas,
animales y en particular micro-organismos, es decir cualquier organismo mono o
multicelular, en particular escogidos de bacterias, levaduras y hongos.

15

La solicitud de Patente EP 1 007 743 describe en particular una mezcla de
enzimas obtenidas de *Penicillium funiculosum* formulada en forma líquida o en
forma de polvo y prevista para la alimentación de animales.

20 Las enzimas se agregan a los alimentos en forma líquida por aspersión o se
incorporan en los alimentos en un mezclador y luego los alimentos se granulan
en un molino para peletización. Una parte significativa de los alimentos para

animales se somete a un tratamiento térmico por razones de higiene (calidad microbiológica) o para facilitar el consumo por los animales (presentación en forma de miga o gránulos). Estos tratamientos con calor se basan en el uso de vapor a temperaturas más o menos altas, opcionalmente en combinación con una aglomeración (molino para peletización).

Sin embargo, como resulta ser el caso las enzimas son proteínas de naturaleza sensible a la temperatura. Por lo tanto se observa una pérdida de la actividad enzimática cuando se usan temperaturas altas.

Un objetivo de la presente invención es proporcionar una composición en forma de polvo que comprende una mezcla enzimática que es resistente al calor.

15 **Descripción de la invención**

La presente invención se relaciona con una composición resistente al calor, para animales, en la forma de polvo granular que comprende:

- 20 a) una mezcla en forma líquida de por lo menos dos enzimas,
- b) un soporte escogido del grupo que consiste de harina de trigo, almidón, yeso, malto-dextrinas y mazorcas de maíz, y

c) un agente de recubrimiento escogido del grupo que consiste de celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación y almidones y derivados.

- 5 De acuerdo con una implementación, la mezcla en forma líquida de por lo menos dos enzimas se obtiene de la fermentación de sólo un micro-organismo. De acuerdo con otra implementación, la mezcla en forma líquida de por lo menos dos enzimas se obtiene de la fermentación de dos micro-organismos diferentes. Ventajosamente, la mezcla en forma líquida de por lo menos dos enzimas es un
- 10 mosto de fermentación filtrado y concentrado obtenido a partir de por lo menos un micro-organismo.

De acuerdo con otra implementación, la composición comprende:

- a) de 15 a 50 % en peso de dicha mezcla de por lo menos dos enzimas,
- 15 b) de 25 a 60 % en peso de dicho soporte,
- c) de 25 a 60% en peso de dicho agente de recubrimiento.

- De acuerdo con una implementación, las por lo menos dos enzimas se escogen del grupo que consiste de una xilanas, una β -glucanasa, una celulasa, una
- 20 pectinasa, una fitasa y una proteasa. Ventajosamente, las por lo menos dos enzimas se escogen del grupo que consiste de fitasa, endo-1,4- β -xilanas, α -arabinofuranosidasa, β -xilosidasa, feruloil esterasa, endo-1,5- α -arabinanasa,

endo-1,3(4)- β -glucanasa, laminarinasa, endo-1,4- β -glucanasa, celobiohidrolasa, β -glucosidasa, poligalacturonasa, pectina esterasa, ramnogalacturonasa, aspártico proteasa, metaloproteasa, endo-1,4- β -mananasa, β -manosidasa y α -galactosidasa.

5

De acuerdo con una implementación de la invención, el micro-organismo es *Penicillium funiculosum*, depositado en el IMI (International Mycological Institute, Bakeham Lane, Englefield Green, Egham, Surrey, TW20 9TY, UK) en Marzo 24 de 1998 bajo el numero IMI 378536.

10

De acuerdo con una implementación de la invención, el agente de recubrimiento es carboximetilcelulosa o etilcelulosa.

De acuerdo con una implementación de la invención, la composición se puede obtener por el proceso que comprende las siguientes etapas:

15

a) co-secar los siguientes compuestos:

- un soporte escogido del grupo que consiste de harina de trigo, almidón, yeso, maltodextrina y mazorca de maíz, y

20

- una mezcla en forma líquida de por lo menos dos enzimas,

Hasta obtener una base intermedia,

b) granular por impregnación de la base intermedia con un agente de

recubrimiento escogido del grupo que consiste de celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación, y almidones y derivados,

c) recubrir la base intermedia impregnada con un agente de recubrimiento

5 escogido del grupo que consiste de celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación, y almidones y derivados, y

d) Secar.

10 La presente invención también se refiere a un aditivo nutricional para animales en forma de polvo que comprende:

a) una mezcla en forma líquida de por lo menos dos enzimas,

b) un soporte escogido del grupo que consiste de harina de trigo, almidón, yeso, malto-dextrinas y mazorcas de maíz, y

15 c) un agente de recubrimiento escogido del grupo que consiste de celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación y almidones y derivados.

La presente invención también se refiere a un pienso, caracterizado porque
20 comprende una base nutricional para animales y un aditivo nutricional como se reivindica en la reivindicación 10.

Finalmente, la presente invención se refiere al uso de un agente de

recubrimiento escogido del grupo que consiste de celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación y almidones y derivados en la preparación de un aditivo nutricional para animales que comprende una mezcla de por lo menos dos enzimas
5 obtenidas a partir de la fermentación de un sólo micro-organismo. Ventajosamente, el agente de recubrimiento es carboximetilcelulosa.

Composición

10 La presente invención por lo tanto se refiere a una composición resistente al calor para animales en forma de un polvo granular.

Por "Composición resistente al calor" se entiende que significa una composición que es resistente al calor. Una de las propiedades importantes de la composición
15 de acuerdo con la presente invención es la ser resistente al calor. Esto se debe a que la composición de acuerdo con la presente invención será sometida a un tratamiento térmico previsto, de otro lado, para producir una calidad microbiológica y por otra parte, para formular la composición con el propósito de que sea usada más fácilmente por criadores y consumidas por los animales. Se
20 usa el término "proceso de peletización". La peletización es una aglomeración de alimentos en forma de pequeños gránulos. Estos gránulos no son desmenuzables, a diferencia de los aglomerados. Después de la peletización, se

obtienen los pellets. Los pellets son gránulos con un tamaño de 1.5 a 6 mm de diámetro y de 1.5 a 4 cm de largo. Para la peletización se hace uso, por ejemplo, de molinos para peletizar, cuya operación se basa en el uso de vapor a temperatura más o menos alta. Por ejemplo, la composición resiste una

5 temperatura mayor de 80°C, 85°C o 90°C.

Por “polvo granular” se entiende que significa un polvo que tiene un cierto tamaño de partícula.

10 De acuerdo con la presente invención, los requerimientos de tamaño de partícula de la composición obtenida son como sigue:

Tamaño de las partículas	Porcentaje en la mezcla
Mayor que 800 µm	< o = a 1%
Entre 400 y 160 µm	> o = a 40%, preferiblemente < o = a 50%
Menor que 200 µm	< o = a 15%, preferiblemente > o = a 12%
Menor que 100 µm	< o = a 10%, preferiblemente < o = a 5%

Ventajosamente, la mediana del diámetro de las partículas del producto está

15 entre 150 y 400 µm. Por “mediana del diámetro” se entiende que significa el tamaño de las partículas del producto en las que el 50% de la muestra tiene un tamaño más pequeño y 50% de la muestra tiene un tamaño más grande.

La composición de la presente invención está prevista para animales. En otras palabras, la composición de acuerdo con la presente invención es adecuada para uso en nutrición animal.

- 5 Por "animal" se entiende que significa más particularmente animales de granja y especialmente animales de pastoreo (en particular bovinos criados para carne, leche, queso y cuero; ovinos criados para carne, lana y queso; caprinos; o porcinos) conejos, aves de corral (pollos, gallinas, pavos, patos, gansos y otros), animales acuáticos (por ejemplo peces, gambas, ostras y mejillones) o animales
- 10 de entretenimiento y acompañamiento (en particular caballos, perros o gatos). Los Bovinos o Bovinae constituyen una subfamilia de los Bovidae, mamíferos rumiantes multi-estómago, que comprenden varias especies importantes de animales de granja (de leche, de carne y mezclados)
- 15 Por "composición adecuada para uso en nutrición animal" se entiende que significa una composición que tiene características tales que la hacen adecuada para nutrición animal. Las características esenciales para uso en nutrición animal son en particular el pH y la temperatura a los cuales la composición que comprende la mezcla de enzimas es activa. Esto es porque el pH del sistema
- 20 digestivo de los animales es ácido y es por lo tanto esencial que las enzimas sigan siendo activas en este pH para conservar sus actividades.
- De acuerdo con una implementación de la presente invención, la composición

conserva las actividades enzimáticas esperadas a un pH ácido, por ejemplo a pH menor de 7, preferiblemente menor que 5

La presente invención se relaciona así con una composición resistente al calor para animales en la forma de un polvo granular que comprende:

- a) una mezcla en la forma líquida de por lo menos dos enzimas,
- b) un soporte escogido del grupo que consiste de harina de trigo, almidón, yeso, malto-dextrinas y mazorcas de maíz, y
- c) un agente de recubrimiento escogido del grupo que consiste de celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación y almidones y derivados.

Las enzimas son producidas por una gran variedad de organismos: plantas, animales, y especialmente micro-organismos. Por "micro-organismo" se entiende que significa cualquier organismo mono o multi-celular escogido en particular de bacterias, levaduras y hongos. Ventajosamente las levaduras se escogen de, por ejemplo, *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica* y *Schwanniomyces occidentalis*. Los hongos se escogen, por ejemplo, de especies *Aspergillus*, especies *Trichoderma* y especies *Penicillium*, preferiblemente de *Penicillium funiculosum*, *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus kawachii* y *Trichoderma koningii*.

De acuerdo con una implementación, la mezcla en forma líquida de por lo

menos dos enzimas se obtiene a partir de la fermentación sólo un micro-organismo. Ventajosamente, la mezcla en una forma líquida de por lo menos dos enzimas es un mosto de fermentación filtrado y concentrado obtenido de un solo micro-organismo.

5

De acuerdo con otra implementación de la presente invención, el micro-organismo usado se origina a partir de una cepa no modificada genéticamente del micro-organismo en el estado aislado que produce por lo menos dos actividades enzimáticas. Alternativamente, este puede ser un organismo
10 huésped transformado con un polinucleótido un casete de expresión y/o un vector.

En una implementación de la invención, el micro-organismo es una cepa de *Penicillium funiculosum* en la que se expresa o sobre-expresa una enzima. En
15 otra implementación el organismo huésped es una cepa de *Debaryomyces castellii* en la que se expresa o sobre-expresa una enzima. En aún otra implementación el organismo huésped es una cepa de *Ruminococcus gnavus* en la que se expresa o sobre-expresa una enzima.

20 De acuerdo con una implementación de la invención, el micro-organismo es *Penicillium funiculosum* depositado en el IMI (International Mycological Institute, Bakeham Lane, Englefield Green, Egham, Surrey, TW20 9TY, UK) en marzo 24

1998 bajo el numero IMI 378536.

De acuerdo con otra implementación, la composición comprende de 15 a 50% en peso de dicha mezcla de por lo menos dos enzimas, preferiblemente de 20 a 5 40% en peso.

De acuerdo con otra implementación de la presente invención, la composición resistente al calor en forma de polvo granular para animales comprende una mezcla en forma líquida de por lo menos tres enzimas, cuatro enzimas, ocho 10 enzimas o diez enzimas.

De acuerdo con una implementación, las por lo menos dos enzimas se escogen del grupo que consiste de una xilanasa, una β -glucanasa, una celulasa, una pectinasa, una fitasa y una proteasa. Ventajosamente, las por lo menos dos 15 enzimas se escogen del grupo que consiste de fitasa, endo-1,4- β -xilanasa, α -arabinofuranosidasa, β -xilosidasa, feruloil esterasa, endo-1,5- α -arabinanasa, endo-1,3(4)- β -glucanasa, laminarinasa, endo-1,4- β -glucanasa, celobiohidrolasa, β -glucosidasa, poligalacturonasa, pectina esterasa, ramnogalacturonasa, aspártico proteasa, metaloproteasa, endo-1,4- β -mananasa, β -manosidasa y α - 20 galactosidasa.

La presente composición también comprende un soporte. El soporte se escoge

del grupo que consiste de harina de trigo, almidón, yeso, malto-dextrinas y mazorcas de maíz. El soporte está presente en la composición en un contenido de entre 25 y 60 % en peso de la composición resistente al calor en la forma de polvo granular.

5

Finalmente, la presente composición comprende un agente de recubrimiento. El agente de recubrimiento se escoge del grupo que consiste de celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación y almidones y derivados.

10

Las gomas de plantas son exudados que se solidifican por desecación. Se puede hacer mención como indicación de las gomas que se pueden usar en la presente invención, a las siguientes gomas: goma arábica, goma karaya, goma tragacanto, goma guar o goma xantan.

15

Por "almidones y derivados" se entiende que significa cualquier polisacárido formado por la combinación de dos polímeros: amilosa y amilopectina. De acuerdo con la presente invención, el almidón puede estar en la forma de polvo o en la forma de pasta. A manera de indicación puede ser almidón nativo de

20 trigo, almidón nativo de maíz, almidón nativo de arroz, o harina de papa. Los mismos almidones tratados físicamente, por ejemplo pre-gelatinizados, también pueden estar involucrados.

De acuerdo con una implementación de la invención, el agente de recubrimiento es carboximetilcelulosa o etilcelulosa.

- El agente de recubrimiento está presente en la composición resistente al calor en
- 5 la forma de polvo granular en un contenido de entre 25 y 60% en peso, preferiblemente entre 30 y 58% en peso.

De acuerdo con otra materia objeto de la presente invención, la composición se puede obtener por el proceso que comprende las siguientes etapas:

- 10 a) co-secar los siguientes compuestos:
- un soporte escogido del grupo que consiste de harina de trigo, almidón, yeso, maltodextrina y mazorcas de maíz, y
 - una mezcla en forma líquida de por lo menos dos enzimas,
- Hasta obtener una base intermedia,
- 15 b) granular por impregnación de la base intermedia con un agente de recubrimiento escogido del grupo que consiste de celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación, y almidones y derivados,
- c) recubrir la base intermedia impregnada con un agente de recubrimiento
- 20 escogido del grupo que consiste de celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación, y almidones y derivados, y

d) Secar

El agente de recubrimiento, que es idéntico o diferente, se usa durante dos etapas sucesivas del proceso. Esto produce un polvo que muestra un aspecto
 5 novedoso, en el que el agente de recubrimiento se encuentra en ambos lados adentro y afuera del polvo granular. Esto le confiere propiedades ventajosas sobre el polvo.

La composición en forma de polvo presenta buena fluidez. Un ejemplo del
 10 protocolo de medida que hace posible evaluar la fluidez del polvo, es la determinación del ángulo de reposo. Este método se basa en la determinación del ángulo de la base del cono del material que cae, obtenido al pasar la muestra a través de un embudo especial colocado a una altura convencional encima de una placa perfectamente plana y horizontal. Este método requiere del siguiente
 15 equipo: equipo y material de vidrio de laboratorio, embudo de acero, la base del cual tiene un diámetro (d) de menos de 6 mm (el embudo está unido al soporte), placa de acero inoxidable tallada con 4 líneas rectas que forman, entre ellas una con otra, un ángulo de 45° y que son perpendiculares al centro del embudo, y un soporte hecho de acero inoxidable que se une a la placa. El método consiste en
 20 ajustar la altura (H) entre la placa y la base del embudo a 40 mm, confirmando la perpendicularidad del centro del embudo con el punto de cruce de las líneas rectas talladas, poniendo el polvo en el embudo, suspender la alimentación

cuando la punta del cono toca la base del embudo, dibujar sobre cada línea tallada una marca en la base del cono de sílice que se forma, quitar la sílice y medir la distancia que separa las dos marcas sobre la misma línea para cada una de ellas. El ángulo de reposo del material que cae, expresado en grados, se da por la fórmula:

$$\alpha = \text{Arctg} \frac{2H}{D-d}$$

Donde:

H: es la altura del cono en mm (H = 40)

10 d: es el diámetro interno de la base del embudo en mm (d = 6 mm)

D: es la media aritmética de 4 medidas en mm

α : es el ángulo de reposo en grados

De acuerdo con la presente invención, la composición en forma de polvo presenta un ángulo de reposo entre 20° y 50°, preferiblemente entre 20° y 45°.

Otro ejemplo del protocolo de medida que hace posible evaluar la fluidez del polvo es la medida de la compresibilidad, de acuerdo con la siguiente fórmula:

20 Compresibilidad =
$$\frac{\%(\text{densidad aparente compactada por percusión} - \text{densidad aparente})}{\text{Densidad aparente compactada por percusión}}$$

De acuerdo con la presente invención, la composición en forma de polvo presenta un índice de compresibilidad entre 0 y 40%, preferiblemente entre 0 y

20%.

Las composiciones en forma de polvo de la presente invención pueden adicionalmente comprender un principio activo además de la mezcla de enzimas
5 o de algunos principios activos.

Por "Principio activo" se entiende cualquier sustancia que tenga una actividad fisiológica establecida en el animal. Los suplementos alimenticios, en particular, entran en la categoría de principio activo de acuerdo con la invención. Los
10 suplementos alimenticios para los animales son productos destinados a ser ingeridos como suplemento de la dieta diaria, con el propósito de superar la deficiencia en las contribuciones diarias de ciertos compuestos. Por ejemplo, se conoce, generalmente, que suplementar la ingesta de alimentos en los animales de granja con principios activos mejora el rendimiento de la cría de animales
15 domésticos. Estos pueden, en particular ser, vitaminas, sales minerales, aminoácidos, oligoelementos, hormonas o antibióticos.

Proceso para la preparación de la composición de polvo en forma granular

20 El proceso para la preparación de la composición antes mencionada comprende las siguientes etapas:

a) co-secar los siguientes compuestos:

- por lo menos un soporte escogido del grupo que consiste de harina de trigo, almidón, yeso, maltodextrina y mazorcas de maíz, y
 - al menos una mezcla en forma líquida de al menos dos enzimas
- 5 obtenidas de un solo microorganismo, por lo cual se obtiene una base intermedia,

b) granular por impregnación la base intermedia con un agente de recubrimiento seleccionado del grupo que consiste de celulosa y sus derivados, quitina,

10 carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación, almidones y derivados,

c) recubrir la base intermedia impregnada con un agente de recubrimiento seleccionado del grupo que consiste de celulosa y sus derivados, quitina,

15 carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación, almidones y derivados, y

d) secar.

20 La primera etapa del proceso consiste, por lo tanto, de un co-secado de la mezcla enzimática, que se presenta en forma líquida, con el soporte de acuerdo con la invención. Esta etapa puede realizarse en forma continua en una torre de

secado por atomización. El co-secado se lleva a cabo a una temperatura a la que no se descomponga. El polvo debe mantenerse a una temperatura inferior a 45°C. Esta etapa produce una parte importante de la mezcla enzimática en forma líquida que se retiene en el soporte. Se obtiene un polvo micro-granulado
5 con un tamaño entre 50 y 250 μm . El contenido de agua del polvo es inferior a 20%.

La segunda etapa del proceso consiste de granulación por impregnación de la base intermedia con un agente de recubrimiento seleccionado del grupo que
10 consiste de celulosa y sus derivados, quitina, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación, almidones y derivados. Es un tipo de granulación húmeda, que consiste en llevar a cabo, en un mezclador, también conocido como granulador, equipado con un sistema de adición de líquidos, una densificación de partículas en combinación con la granulación, para dar cohesión
15 a las partículas. Esta etapa puede llevarse a cabo de forma continua o por lotes.

La tercera etapa del proceso consiste en depositar una película satisfactoria de un agente de recubrimiento seleccionado del grupo que consiste de celulosa y sus derivados, quitina, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación,
20 almidones y derivados. Este agente de recubrimiento puede ser el mismo o diferente al utilizado en la etapa de granulación. Esta etapa puede llevarse a cabo en forma continua o por lotes, por ejemplo, en un secador de lecho

fluidizado. La cantidad de agente de recubrimiento depende del tamaño final de de partícula deseado para el producto.

La cuarta etapa consiste en el secado del producto final. El secado puede
5 realizarse de forma continua en un lecho fluidizado o por lotes, de modo que el contenido de agua del producto sea inferior a 10%, preferiblemente menos de 8%.

Es posible añadir una etapa intermedia entre la segunda y la tercera etapa. Esta
10 etapa consiste en secar el polvo granulado, en forma continua o por lotes.

También es posible añadir una etapa de tamizado entre la segunda y la tercera etapa o después de la etapa opcional de secado del polvo granulado.

15 Proceso de peletización

De acuerdo con la presente invención el proceso de peletización comprende las siguientes etapas:

- a) una composición resistente al calor en forma de polvo granulado, por una
20 parte, y la base nutricional, por otro lado, se alimentan a un alimentador;
- b) la mezcla se calienta a una temperatura entre 60 y 100°C, preferiblemente entre 70 y 90°C;

- c) dicha composición se peletiza en una prensa de granulación, y
- d) los pellets obtenidos se cortan de acuerdo con la longitud deseada,
- e) se obtienen los pellets en esta etapa,
- d) se secan y se enfrían.

5

Aditivo nutricional para animales

La presente invención también se refiere a un aditivo nutricional en forma de polvo que comprende:

- a) una mezcla en forma líquida de al menos dos enzimas,
- 10 b) un soporte escogido del grupo que consiste de harina de trigo, almidón, yeso, maltodextrina y mazorcas de maíz, y
- c) un agente de recubrimiento escogido del grupo que consiste de celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación, almidones y derivados.

15 Pienso

La presente invención también se refiere a un pienso, caracterizado porque comprende una base nutricional para animales y un aditivo nutricional como se definió anteriormente.

- La base nutricional comprende, por ejemplo, una mezcla de trigo, torta de soya,
- 20 semillas de soya extruidas, aceite de palma, carbonato de calcio, fosfato dicálcico, sal o una pre-mezcla que contiene metionina.

Uso

Una materia objeto de la presente invención también se refiere al uso de carboximetilcelulosa para la preparación de un aditivo nutricional para animales
5 que comprende una mezcla de por lo menos dos enzimas obtenidas de la fermentación de un solo microorganismo.

Otra materia objeto de la presente invención es el uso de carboximetilcelulosa para la preparación de un aditivo nutricional para animales el cual tiende a
10 mejorar el rendimiento del crecimiento de los animales, por ejemplo, mejorar la conversión del pienso.

Descripción de las figuras

15 La figura 1 representa los respectivos tamaños de partículas de un polvo del arte previo y de un polvo de acuerdo con la presente invención; en la abcisa, el diámetro en μm ; en la ordenada, el porcentaje en el producto.

Ejemplo 1

20

Se preparó una composición de acuerdo con la invención y de acuerdo con el proceso de la presente invención. Se proporcionó en forma de polvo y

comprende 55% de carboximetilcelulosa, 25% de harina de trigo y 20% de un mosto de fermentación filtrado concentrado, obtenido de la fermentación de *Penicillium funiculosum* IMI 378536, que comprende 19 actividades enzimáticas.

5 1. Co- secado

Se rociaron 475 kg/h de solución enzimática de DM 28.7% (material seco) a 165 bar y se co-secaron continuamente sobre la harina a la tasa de 113 kg/h a baja temperatura. La distribución en el extracto seco es por lo tanto como sigue: 55% de enzima pura y 45% de soporte, en el caso de harina final.

- 10 - 146°C: temperatura de entrada de aire
- 49°C: temperatura de salida de aire
- 40°C: temperatura de aire del lecho estático
- 35°C: temperatura del aire del vibro-fluidizador (primera sección)
- 27°C: temperatura del aire del vibro-fluidizador (segunda sección)

15

El polvo microgranulado obtenido en esta etapa presenta el caracter de un polvo sin finos menores de 63 μm , lo que hace que el producto se pueda manejar en una segunda fase.

El tamaño medio de la particula en D(v, 0.5) es 117 micrones y el contenido de
20 agua es 7.5%.

El producto obtenido al final de esta primera etapa se conoce como base intermedia.

2. Granulación por impregnación

Se lleva a cabo en un mezclador de la siguiente manera:

- 30 segundos de premezclado de los ingredientes, es decir, de 0.77 kg de CMC de materia seca por kg de base intermedia de materia seca,
- 5 - 120 segundos de adición de agua a una tasa de 0.18 kg de agua por kg of base intermedia de materia seca, con agitación,
- 120 segundos de mezclado final.

El propósito de esta etapa es obtener partículas del orden de 150 a 200 μm , en
10 promedio, con un contenido de agua de 14%, mientras se mantiene el producto a menos de 45°C con el fin de no dañar las actividades enzimáticas.

3. Secado intermedio en lecho fluidizado

El producto se seca en un secador de lecho fluidizado a una temperatura de
15 entrada de 55°C y una temperatura de salida de 25°C, a fin de no dañar las actividades enzimáticas. La base intermedia antes del recubrimiento, por lo tanto, tiene un contenido de agua de 7 u 8%.

4. Recubrimiento

20 Se rocía una solución de CMC entre 7 y 7,5% de baja viscosidad recalentada antes de rociar a una temperatura que varía entre 60 y 70°C. La cantidad de solución depositada es de 0,25 kg de materia seca de CMC por

kg de materia seca del producto a recubrir.

El polvo obtenido en esta etapa tiene un tamaño medio de partícula de 300 a 400 μm y un contenido de agua de 10 a 11%.

5

El producto final se seca continuamente en un lecho fluidizado o de manera discontinua, el propósito en este caso es llevar el producto hasta un contenido de agua inferior a 10% y, preferiblemente de menos de 8%.

10 El producto final obtenido tiene un contenido de agua de 7,6% y una densidad de 450 g / l.

5. Medición del tamaño de partícula

El tamaño de partícula se midió respectivamente para las siguientes composiciones:

15

La primera composición es el producto Rovabio™ Excel AP, que se proporciona en forma de polvo.

La segunda composición se preparó de acuerdo con el proceso descrito anteriormente. Por tanto, es una composición según la invención que comprende

20

55% de carboximetilcelulosa, 25% de harina de trigo y 20% del mosto de fermentación filtrado concentrado, obtenido de la fermentación de *Penicillium funiculosum* IMI 378536.

Los tamaños de las partículas de las composiciones están indicados en la siguiente tabla:

Tamaño de las partículas	% en el producto Rovabio™ Excel AP	% en el producto de la 2ª composición
> 800 µm	0%	0.5%
< que 800 µm y > 630 µm	0.1%	3.2%
< que 630 µm y > 500 µm	0.4%	11.4%
< que 500 µm y > 400 µm	0.9%	19.7%
< que 400 µm y > 315 µm	2.2%	24.9%
< que 315 µm y > 200 µm	14.3%	29.2%
< que 200 µm y > 160	15.1%	6.4%
< que 160 µm y > 100 µm	40.6%	4.3%
< 100 µm	26.5%	0.4%

Mediana del diámetro	135 μm	350 μm
Índice de dispersión	0.5	0.4

Se encuentra que el tamaño de partícula de la segunda composición presenta la ventaja de contener una cantidad de partículas pequeñas que son más bajas que las del producto Rovabio™ Excel AP (composición en forma de polvo granular del arte previo). Esta cantidad baja de partículas pequeñas previene problemas de pérdida de productos, de contaminación cruzada entre el sistema de producción y los productos en sí mismos, de uso de los sistemas de filtración y ventilación y de efectos indeseables para la salud.

10 Ver la figura 1.

6. Otras medidas

La compresibilidad del producto Rovabio™ Excel AP es 22.1%, mientras que la compresibilidad de la segunda composición es 3.4%.

15 **Ejemplo 2**

Objetivo

El objetivo es ensayar en la granulación cuatro preparados enzimáticos adicionados a una base alimenticia para "crecimiento" de aves de corral.

20 Se aplican 3 de tratamientos de temperatura a la salida del aire (80, 85 y 90°C)

para cada preparación enzimática.

Materiales y métodos

5 1. Alimentos y enzimas

200 kg de pienso para crecimiento de aves de corral se utilizan para llevar a cabo estos ensayos.

Se ensayaron cuatro composiciones en forma de polvo. Cada composición, que
10 corresponde o no corresponde a los criterios de la composición de acuerdo con la presente invención, se refiere como ítem de ensayo.

La primera composición es el producto Rovabio™ Excel AP, que se proporciona en forma de polvo y comprende 19 actividades enzimáticas. Este producto está
15 compuesto de 20 % de harina de trigo y de 80% de mosto de fermentación filtrado concentrado obtenido de la fermentación de *Penicillium funiculosum* IMI 378536, que comprende 19 actividades enzimáticas.

La segunda composición se preparó de acuerdo con el proceso descrito en el
20 ejemplo 1.

Se proporciona en forma de polvo con el tamaño de partícula mencionado anteriormente y comprende 55% de carboximetilcelulosa, 25% de harina de trigo

y 20% de mosto de fermentación filtrado concentrado obtenido de fermentación de *Penicillium funiculosum* IMI 378536, que comprende 19 actividades enzimáticas.

- 5 La tercera composición se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.

Se proporciona en forma de polvo con el tamaño de partícula mencionado anteriormente y comprende 35% de carboximetilcelulosa, 45% de harina de trigo
10 y 20% de mosto de fermentación filtrado concentrado obtenido de fermentación de *Penicillium funiculosum* IMI 378536, que comprende 19 actividades enzimáticas.

La cuarta composición se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el
15 ejemplo 1.

Se suministra en forma de polvo con el tamaño de partícula mencionado anteriormente y comprende 35% de carboximetilcelulosa, 45% de harina de trigo y 20% del mosto de fermentación filtrado concentrado, que se obtiene de la fermentación de *Penicillium funiculosum* IMI 378536, que comprende 19
20 actividades enzimáticas.

2. Mezclas

Dos mezclas de 60 kg de pienso para crecimiento de aves de corral se preparan utilizando un mezclador de paletas con un eje horizontal que gira a 60 rev / min.

La duración de cada mezclado es de 2 minutos. Cada lote mezclado se vacía en un tanque rectangular hasta antes de ser empaquetado. Una muestra

5 representativa de aproximadamente 1 kg de cada mezcla se retira, al reunir 20 muestras obtenidas por cuarteo en el tanque de forma rectangular.

Ver la tabla de mezclas más adelante.

MEZCLA	TIPO DE ALIMENTACIÓN	Composición en forma de polvo y el grado de incorporación	Cantidad de preparación enzimática incorporada en cada mezcla	Cantidad de alimento blanco incorporado en cada mezcla
A	Crecimiento de aves de corral	Rovabio™ Excel AP a 50 g/T	3 g	59.998 kg
B		Composición de acuerdo con la invención (55% CMC) a 50 g/T	3 g	59.998 kg
C		Composición de acuerdo con la invención (35% CMC) a 50 g/T	2 g	39.998 kg
D		Composición de acuerdo con la invención (35% CMC) a 50 g/T	2 g	39.998 kg

10 3. Granulación

Los ensayos de granulación se llevaron a cabo en un molino de laboratorio para peletización que tiene un troquel plano (molino para peletización de 3 kW, Kahl 14 - 175).

- 5 Para un pienso para el crecimiento de pollos de engorde para asar, el troquel del molino de peletización seleccionado para los ensayos tendrá canales con un diámetro de 4 mm y un espesor de 24 mm (razón de compresión: 6).

4. Secado-enfriamiento

10

Para cada ensayo de granulación un secador-enfriador de laboratorio se utilizó para secar y enfriar las muestras de gránulos colectados a la salida del troquel.

15

El tiempo de secado-enfriamiento es de al menos 5 minutos para una carga de gránulos calientes de aproximadamente 3.5 kg por enfriador.

Se apartó, una muestra de aproximadamente 500 g, representativa de cada operación de fabricación.

20

5. Mediciones y muestreos dirigidos a monitorear la granulación

Las mediciones y los muestreos se llevaron a cabo durante la operación estabilizada del molino para peletización (rendimiento constante, energía eléctrica consumida estable y temperaturas estables).

- 5 Las mediciones de contenidos de agua y tiempos de residencia del troquel se llevaron a cabo empezando con las muestras que se apartaron durante la fase estabilizada de cada ensayo.

10 Las caracterizaciones y los parámetros para llevar a cabo la molienda de granulación se observan y registran durante los ensayos.

6. Métodos analíticos

6.1 β -Glucanasa por el método DNS

15

La prueba se basa en la hidrólisis enzimática de β -glucano de cebada, un β -1,3 (4)-glucano. Los productos de reacción se determinan por colorimetría, el incremento en los grupos reducidos debe medirse utilizando ácido 3,5-dinitro salicílico (DNS). La concentración de azúcar reductora disponible después de la

20 hidrólisis enzimática se determina utilizando una curva estándar de glucosa, la absorbancia de la glucosa debe medirse a 540 nm. La actividad enzimática calculada se expresa luego en equivalentes de glucosa.

Se incuba a 50° C por 10 minutos, una solución que contiene 1 ml de solución de β -glucano del orden del 1% (p / V) en una solución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 M a pH 5,0 y 1 ml de solución de la enzima en la dilución apropiada. La reacción enzimática se detiene mediante la adición de 2 ml de una solución

5 DNS (1% p / V) de ácido 3,5-dinitro salicílico, 1,6% (p / V) de NaOH y 30% (p / V) de tartrato de sodio y potasio dextro-rotatorio en agua destilada). La solución se homogeniza, luego se coloca en un baño de agua a reflujo, a mínimo 95° C y después se enfría en un baño a temperatura ambiente (durante 5 minutos). Se adicionan diez ml de agua ultra pura a la solución y la absorbancia se mide a 540

10 nm, en una celda de vidrio que tiene una longitud de trayectoria óptica de 1 cm. La absorbancia se corrige con aquella obtenida para una solución de referencia, a la cual se le adiciona DNS antes de la solución enzimática.

Los resultados se convierten a μ moles de azúcar reductora mediante

15 comparación con un rango de soluciones estándar que cubren desde 0,00 hasta 0,04% (p / V) de glucosa tratada con DNS como en el caso de los ensayos.

Una unidad de actividad de endo-1,3(4)- β -glucanasa se define como la cantidad de enzima, la cual produce 1 μ mol de glucosa equivalente, por minuto y por

20 gramo del producto, bajo las condiciones de la prueba (pH 5,0 y 50° C).

6.2 Xilanasa por el método DNS

La prueba se basa en la hidrólisis enzimática de xilano de abedul, un polímero de xilosa que contiene puentes β -D-1,4. Los productos de la reacción se determinan por colorimetría, el incremento en los grupos reductores debe medirse utilizando ácido 3,5-dinitro salicílico. La concentración de azúcar reductora disponible después de la hidrólisis enzimática se determina utilizando una curva estándar de xilosa, la absorbancia de la xilosa debe medirse a 540 nm. La actividad enzimática calculada se expresa luego en equivalentes de xilosa.

- 10 Se incuba a 50° C por 10 minutos, una solución que contiene 1 ml de solución de xilano de abedul al 1% (p / V) en una solución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 M a pH 5,0 y 1 ml de solución de la enzima en la dilución apropiada. La reacción enzimática se detiene mediante la adición de 2 ml de una solución DNS (1% (p / V) de ácido 3,5-dinitro salicílico, 1,6% (p / V) de NaOH y 30% p / V) de tartrato de sodio y potasio dextro-rotatorio en agua destilada). La solución se homogeniza, luego se coloca en un baño de agua a reflujo, a mínimo 95° C y después se enfría en un baño a temperatura ambiente (durante 5 minutos). Se adicionan diez ml de agua ultra pura a la solución y la absorbancia se mide a 540 nm, en una celda de vidrio que tiene una longitud de trayectoria óptica de 1 cm.
- 20 La absorbancia se corrige con aquella obtenida para una solución de referencia, a la cual se le adiciona DNS antes de la solución enzimática.

Los resultados se convierten a μ moles de azúcar reductora mediante comparación con un rango de soluciones estándar que cubren desde 0,00 hasta 0,04% (p / V) de xilosa tratada con DNS como en el caso de los ensayos.

- 5 Una unidad de actividad de endo-1,4- β -xilanasa se define como la cantidad de enzima, la cual produce 1 μ mol de xilosa equivalente, por minuto y por gramo del producto, bajo las condiciones de la prueba (pH 5,0 y 50° C).

6.3 Xilanasa por el método viscométrico

10

Este método es específico para la determinación de la actividad de la endo-1,4- β -xilanasa en alimentos. La endo-1,4- β -xilanasa hidroliza los puentes del xilósido del xilano. La prueba se basa en la hidrólisis enzimática de los puentes de la xilosa de una solución de arabinosa de trigo, un polisacárido β -1,4-xilano
15 sustituido con arabinosa.

La actividad enzimática es proporcional a la reducción en la viscosidad de una solución de arabinoxilano de trigo, en presencia de la enzima que va a ser determinada cuantitativamente.

20

Una unidad de endo-1,4- β -xilanasa se define como la cantidad de enzima, la cual hidrolizará el sustrato, reduciendo la viscosidad de la solución, para

proporcionar un cambio en la fluidez relativa de 1 unidad sin dimensiones, por minuto, bajo las condiciones del análisis: pH 5,5 y 30° C.

Resultados de los ensayos

5

1. Puntos fijos para ajustes

Los puntos fijos para la regulación del molino de peletización son los siguientes:

10

Rendimiento: aproximadamente 41 kg/h

Temperaturas de tratamiento a la salida del acondicionador: 80, 85 y 90°

C

Temperaturas experimentadas a la salida del troquel

Presión de vapor: 1,6 bar

15

Ajuste de la altura de cortado de las cuchillas: 10 mm

2. Balance de las actividades enzimáticas

	A	B	C	D
Nivel de CMC	0	55%	35%	35%
Xilanasa, DNS	3810	4027	5344	5304
Xilanasa, visco	31 053	30 293	32 273	31 153
β-Glucanasa, DNS	4676	5265	6300	6081

Tabla: Actividad enzimática (unidad / g)

Se encuentra que las diversas formulaciones hacen posible retener las principales actividades enzimáticas de referencia del concentrado enzimático inicial.

- 5
3. Grado de recuperación de la actividad de la xilanasa medida por viscometría en los alimentos, después de pasar a través del molino de peletización a diferentes temperaturas.

		Temperaturas de tratamiento en el molino de peletización		
	Nivel de CMC	80°C	85°C	90°C
A	0	76%	68%	54%
B	55%	100%	85%	82%
C	35%	99%	90%	81%
D	35%	96%	86%	83%

- 10
- Se encuentra que la actividad de la xilanasa del producto estándar (A) se afecta por la elevación de la temperatura de las condiciones de granulación (pérdidas de hasta 46% a 90° C). Las diversas formulaciones probadas hacen posible limitar la pérdida en la actividad a menos del 20%.

- 15
- Ejemplo 3**

Objetivo

El estudio de los efectos nutricionales de Rovabio™ Excel AP y de una composición de acuerdo con la presente invención, en el valor AME_N (energía metabolizable aparente corregida con nitrógeno) de un alimento basado en trigo, para pollos de entre 12 y 22 días.

5

Materiales y métodos

1. Esquema experimental

- 10 Los animales utilizados son pollos machos de la variedad Ross PM3
7 dietas con 12 repeticiones de 1 pollo por jaula, i.e. un total de 84 jaulas.
Los ensayos son ensayos controlados distribuidos al azar.

- Los ítems de los ensayos comprenden las actividades enzimáticas
15 potencialmente capaces de mejorar la digestibilidad de un alimento basado en trigo y maíz, en pollos.

20

Dietas		1	2	3	4	5	6	7
Bases	Inicio	WCS (trigo maíz soya)						
	Crecimiento	Mezcla de trigo						
Productos				de la Composición con acuerdo invención	de la Composición con acuerdo invención		de la Composición con acuerdo invención	
Dosis	g/t de alimento	/	50	50	50	50	50	50
Peso del alimento que se va a preparar (kg gránulos)		20	20	20	20	20	20	20
Peso del alimento que se va a tratar (kg comida)		100	100	100	100	100	100	100
Número de sujetos en los ensayos		12	12	12	12	12	12	12

Tabla: Esquema experimental

5 2. Plan de alimentación

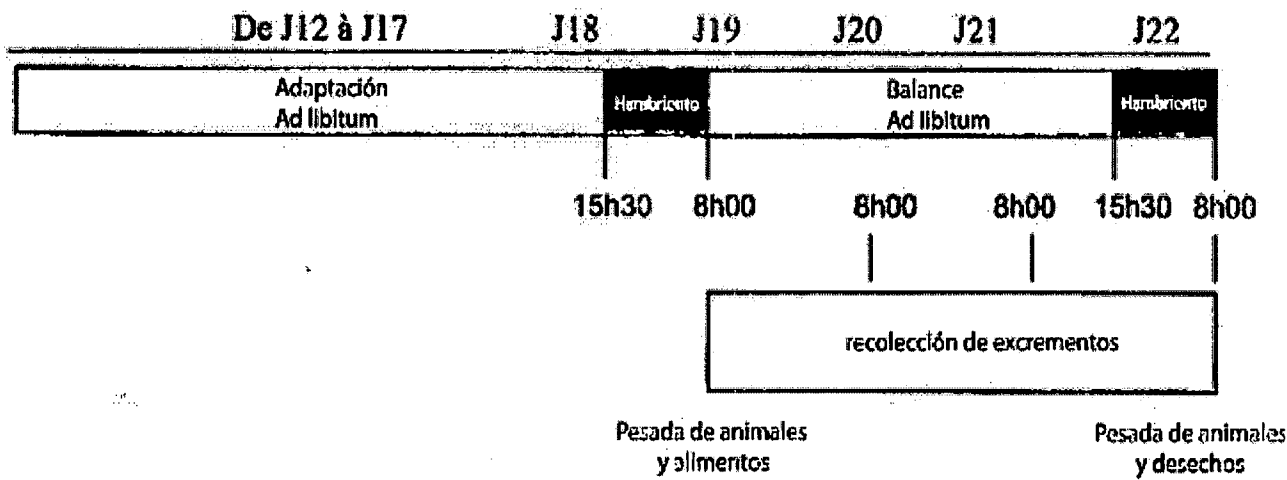
El plan de alimentación fue, a lo largo del ensayo, como sigue.

	D0-D12	D12 a D18	D19 a D22
Período	Inicio	Adaptación	Balance
Forma	Ad libitum	Ad libitum	Ad libitum
Tipo de alimento	Pre-experimental	Experimental	Experimental
Base	Trigo Maíz/Maíz	Trigo Soya/Maíz Soya	Trigo Soya/Maíz Soya

Tabla: Alimentos utilizados durante el estudio

3. Avance del experimento

5 La secuencia de tiempo de las operaciones principales se presenta a continuación:



Resultados

10

1. Alimentos

Dietas	Alimento	Tratamiento	Xilanasa, visco (U/kg)		
			Contenido teórico	Contenido medido	Recuperación (%)
1	Trigo	Control	0	0	/
2	Trigo	Excel AP1	1553	827	53%
3	Trigo	Composición 1 de acuerdo con la invención	1647	1116	68%
4	Trigo	Composición 2 de acuerdo con la invención	2170	2408	111%
5	Trigo	Excel AP2	1954	1647	84%
6	Trigo	Composición 3 de acuerdo con la invención	2039	1602	79%
7	Trigo	Excel AP3	1824	1570	86%

Tabla: Análisis de la recuperación enzimática de la xilanasa, medida en los alimentos experimentales

- 5 Los valores de la actividad enzimática de la xilanasa, visco, son más grandes que la recomendación de 1100 U/kg de alimento para los alimentos, excepto para la dieta 2.

2. Energía de digestibilidad

	Dietas Ítems	1 Control	2 AP1	3 Inv 1	4 Inv 2	5 AP2	6 Inv 3	7 AP3
	Dosis	/	50 g/t	50 g/t	50 g/t	50 g/t	50 g/t	50 g/t
	Base	Trigo						
AME _N [*] kcal/kg DM	Promedios	3184a	3238ac	3231ac	3300c	3280bc	3233ac	3200ab
	Desviación estándar	112.8	109.8	127.7	123.6	69.7	92.9	110.9
		3.54	3.39	3.95	3.75	2.13	2.87	3.47
	CV							
	No. de valores	12	12	12	12	12	10	12
	Delta		54.0	46.2	115.9	95.5	48.9	15.8
AME _N [*] kcal/kg	Promedios	2913a	2961 ac	2954ac	3018c	2998bc	2958ac	2928ab
	Desviación estándar	102.1	100.4	115.8	111.6	63.7	84.7	100.1
		3.51	3.39	3.92	3.70	2.12	2.86	3.42
	CV							
	No. de valores	12	12	12	12	12	10	12
	Delta		48.8	41.0	105.6	85.6	45.2	15.1

Tabla: Resultados de la energía de digestión por dieta

*: Energía metabolizable aparente

Todos los ítems probados hicieron posible mejorar la energía de digestibilidad de los alimentos probados, pero con efectividad variable.

Las mejoras en AME_N son de un nivel moderado, alcanzando +105 kcal/kg DM aproximadamente para la composición 2 de acuerdo con la invención.

Los dos tipos de composición han tenido el mismo efecto en la AME medida. Un segundo análisis se llevó, por lo tanto, a cabo por producto.

	Ítems	Control	Excel AP	Invención
	Dosis	/	50 g/t	50 g/t
	Base	Trigo		
AME _N kcal/kg DM	Promedios	3134 a	3244 ab	3256 b
	Desviación estándar	112.8	97.8	118.3
	CV	3.54	3.02	3.63
	No. de valores	12	48	36
	Delta		59.3	71.6
AME _N kcal/kg	Promedios	2913 a	2966 ab	2978 b
	Desviación estándar	102.1	88.9	107.3
	CV	3.51	3.00	3.60
	No. de valores	12	48	36
	Delta		53.5	65.0

Tabla: Resultados de energía de digestión por producto

Este segundo análisis muestra que, tomados como un todo, los ítems T-Flex de acuerdo con la invención han mejorado la energía de digestibilidad de los

alimentos probados. Por otra parte, la mejora obtenida con los ítems Excel AP no es significativa, a pesar de una tendencia fuerte ($p = 0,06$).

3. Rendimientos del crecimiento

5

	Dietas Ítems	1 Con- trol	2 AP1	3 Inv 1	4 Inv 2	5 AP2	6 Inv 3	7 AP3
	Dosis	/	50 g/t	50 g/t	50 g/t	50 g/t	50 g/t	50 g/t
	Base	Trigo						
Peso al comi- enzo de la adapta- ción (g)	Promedios	322	324	324	324	324	323	323
	Desviación estándar	22.1	21.2	21.1	22.2	20.8	21.6	22.4
	CV	6.9	6.5	6.5	6.9	6.4	6.7	6.9
Peso al final del balan- ce (g)	Promedios	663	696	685	676	681	681	675
	Desviación estándar	79.4	65.5	50.6	50.2	40.4	45.7	35.7
	CV	12.0	9.5	7.4	7.4	5.9	6.7	5.3
Peso ganad o D12- D22 (g)	Promedios	341	362	361	352	356	358	352
	Desviación estándar	62.8	49.8	37.7	37.4	33.9	32.2	34.5
	CV	18.4	13.7	10.5	10.6	9.5	9.0	9.8

Consumo D12- D22 (g)	Promedios	665	672	674	649	656	671	658
	Desviación estándar	104.6	75.0	64.7	51.7	45.9	62.6	49.8
	CV	15.7	11.2	9.6	8.0	7.0	9.3	7.6
FC* D12- D22	Promedios	1.96 a	1.86 b	1.87 b	1.85 b	1.85 b	1.88 b	1.87 b
	Desviación estándar	0.108	0.066	0.076	0.107	0.073	0.073	0.071
	CV	5.510	3.558	4.038	5.774	3.958	3.898	3.793
	Delta %		-5.1	-4.7	-5.8	-6.0	-4.5	-4.7

Tabla: Resultados para crecimiento de D12 a D22

*: Conversión de alimento

En contraste con lo que se observó para la energía de digestibilidad, los ítems probados, todos prácticamente tuvieron un efecto significativo en los rendimientos del crecimiento (conversión de alimento) durante el período total de estudio (12 a 22 días). Las composiciones de acuerdo con la invención (Inv 1, Inv 2 e Inv3) y las composiciones de Rovabio™ Excel AP (AP1, AP2 y AP3) contribuyeron prácticamente a la misma mejora en conversión.

5. Conclusión

Todos los ítems probados en el alimento basado en trigo tuvieron un efecto significativo en la AME del alimento probado. Las mejoras obtenidas son

LO QUE SE REIVINDICA ES:

1. Una composición resistente al calor que puede obtenerse mediante el proceso que comprende las siguientes etapas:
 - 5 a) co-secado de los siguientes compuestos:
 - un soporte seleccionado a partir del grupo que consiste de harina de trigo, almidón, yeso, maltodextrina y mazorcas de maíz,
 - Y
 - una mezcla en forma líquida de al menos dos enzimas,
 - 10 para obtener una base intermedia,
 - b) granulación mediante impregnación de la base intermedia con un agente de recubrimiento seleccionado de un grupo que está compuesto por celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación y almidones y derivados,
 - 15 c) recubrimiento de la base intermedia impregnada con un agente de recubrimiento seleccionado a partir de un grupo que está compuesto por celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación y almidones y derivados, y
 - d) secado.

20

2. La composición resistente al calor como se reivindica en la reivindicación 1, en la cual la mezcla en forma líquida de al menos dos enzimas se obtiene a partir de la fermentación de solo un microorganismo.
3. La composición resistente al calor como se reivindica en la reivindicación 1, en la cual la mezcla en forma líquida de al menos dos enzimas se obtiene a partir de la fermentación de dos microorganismos diferentes.
4. La composición resistente al calor como se reivindica en la reivindicación 1, que contiene:
- 10 a) de 15 a 50% en peso de dicha mezcla de al menos dos enzimas,
b) de 25 a 60% en peso de dicho soporte,
c) de 25 a 60% en peso de dicho agente de recubrimiento.
5. La composición resistente al calor como se reivindica en la reivindicación 1, de acuerdo con la cual el agente de recubrimiento es carboxi-metilcelulosa.
- 15 6. La composición resistente al calor como se reivindica en la reivindicación 1 ó 2, en la cual la mezcla en forma líquida de al menos dos enzimas es un mosto de fermentación filtrado concentrado, obtenido de la fermentación de al menos un microorganismo.
- 20

7. La composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual al menos dos enzimas se seleccionan a partir del grupo que contiene una xilanasa, una β -glucanasa, una celulasa, una pectinasa, una fitasa y una proteasa.

5

8. La composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual al menos dos enzimas se seleccionan a partir del grupo que contiene fitasa, endo-1,4- β -xilanasa, α -arabinofuranosidasa, β -xilosidasa, feruloil esterasa, endo-1,5- α -arabinanasa, endo-1,3(4)- β -glucanasa, laminarinasa, endo-1,4- β -glucanasa, celobiohidrolasa, β -glucosidasa, poligalacturonasa, pectina esterasa, ramnogalacturonasa, aspártico proteasaica, metaloproteasa, endo-1,4- β -mananasa, β -manosidasa y α -galactosidasa.

10

15

9. La composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual el microorganismo es *Penicillium funiculosum* depositado en el IMI (International Mycological Institute, Bakeham Lane, Englefield Green, Egham, Surrey, TW20 9TY, UK), el 24 de marzo de 1998, bajo el número IMI 378536.

20

10. La composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual el agente de recubrimiento es carboximetilcelulosa o

etilcelulosa.

11. Un pienso, caracterizado porque comprende una base nutricional para animales y una composición como se reivindica en una de las reivindicaciones
5 precedentes.

12. La utilización de una composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes en la preparación de un aditivo nutricional para animales en forma de polvo granular.

10

13. La utilización de una composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes en la preparación de un pienso, caracterizado porque el alimento contiene una base nutricional para animales y un aditivo nutricional.

15

20



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

SUPERINTENDENCIA PATENTE DE INVENCION PCT X MODELO DE UTILIDAD DISEÑO INDUSTRIAL

(21) N° de solicitud:

(22) Fecha de solicitud:

(51) Clasificación Internacional:

(71) Solicitante(s) **ADISSEO FRANCE S.A.S.**

(72) Inventor(es) **PIERRE DALIBARD, FRANCIS PIERRE, NICOLAS BESSE**

(74) Apoderado: **DRA. MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**

(30) Prioridad

(31) No. Prioridad
07 05276

(32)

Fecha
20/07/2007

(33) País
FR

(85) Fecha inicio fase nacional:

(87) Publicación internacional

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha: **12/02/2009**

Fecha de presentación de la solicitud: **20/06/2008**

N° publicación: **WO 2009/019335 A2**

No. de solicitud **PCT/FR 2008/000872**

(54) Título: **COMPOSICION PARA ANIMALES RESISTENTE AL CALOR QUE COMPRENDE UNA MEZCLA ENZIMATICA**

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: (30) Prioridad (31) N° Prioridad (32) Fecha (33) Pais 07 05276 20/07/2007 FR		(51) Int. Cl.: (71) Solicitante(s) ADISSEO FRANCE S.A.S. (72) Inventor(es) PIERRE DALIBARD FRANCIS PIERRE NICOLAS BESSE (74) Apoderado: MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 20/06/2008 N° de solicitud PCT/FR 2008/000872		(87) Publicación internacional Fecha: 12/02/2009 N° publicación: WO 2009/019335 A2	
(54) Titulo: COMPOSICION PARA ANIMALES RESISTENTE AL CALOR QUE COMPRENDE UNA MEZCLA ENZIMATICA			

Reivindicación(es):

1. Una composición resistente al calor que puede obtenerse mediante el proceso que comprende las siguientes etapas:
- a) co-secado de los siguientes compuestos:
- un soporte seleccionado a partir del grupo que consiste de harina de trigo, almidón, yeso, maltodextrina y mazorcas de maíz,
 - Y
 - una mezcla en forma líquida de al menos dos enzimas,
- para obtener una base intermedia,
- b) granulación mediante impregnación de la base intermedia con un agente de recubrimiento seleccionado de un grupo que está compuesto por celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación y almidones y derivados,
- c) recubrimiento de la base intermedia impregnada con un agente de recubrimiento seleccionado a partir de un grupo que está compuesto por celulosa y sus derivados, quitina, carragenina, alginato de sodio, gomas de plantas, gomas obtenidas por fermentación y almidones y derivados, y
- d) secado.
2. La composición resistente al calor como se reivindica en la reivindicación 1, en la cual la mezcla en forma líquida de al menos dos enzimas se obtiene a partir de la fermentación de solo un microorganismo.
3. La composición resistente al calor como se reivindica en la reivindicación 1, en la cual la mezcla en forma líquida de al menos dos enzimas se obtiene a partir de la fermentación de dos microorganismos diferentes.
4. La composición resistente al calor como se reivindica en la reivindicación 1, que contiene:
- a) de 15 a 50% en peso de dicha mezcla de al menos dos enzimas,
- b) de 25 a 60% en peso de dicho soporte,
- c) de 25 a 60% en peso de dicho agente de recubrimiento.
5. La composición resistente al calor como se reivindica en la reivindicación 1, de acuerdo con la cual el agente de recubrimiento es carboxi-metilcelulosa.
6. La composición resistente al calor como se reivindica en la reivindicación 1 ó 2, en la cual la mezcla en forma líquida de al menos dos enzimas es un mosto de fermentación filtrado concentrado, obtenido de la fermentación de al menos un microorganismo.

7. La composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual al menos dos enzimas se seleccionan a partir del grupo que contiene una xilanasa, una β -glucanasa, una celulasa, una pectinasa, una fitasa y una proteasa.
8. La composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual al menos dos enzimas se seleccionan a partir del grupo que contiene fitasa, endo-1,4- β -xilanasa, α -arabinofuranosidasa, β -xilosidasa, ferulil esterasa, endo-1,5- α -arabinanasa, endo-1,3(4)- β -glucanasa, laminarinasa, endo-1,4- β -glucanasa, celobio-hidrolasa, β -glucosidasa, poligalacturonasa, pectina estearasa, ramnogalacturonasa, aspártico proteasaica, metaloproteasa, endo-1,4- β -mananasa, β -manosidasa y α -galactosidasa.
9. La composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual el microorganismo es *Penicillium funiculosum* depositado en el IMI (International Mycological Institute, Bakeham Lane, Englefield Green, Egham, Surrey, TW20 9TH, UK), el 24 de marzo de 1998, bajo el número IMI 378536.
10. La composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual el agente de recubrimiento es carboximetilcelulosa o etilcelulosa.
11. Un pienso, caracterizado porque comprende una base nutricional para animales y una composición como se reivindica en una de las reivindicaciones precedentes.
12. La utilización de una composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes en la preparación de un aditivo nutricional para animales en forma de polvo granular.

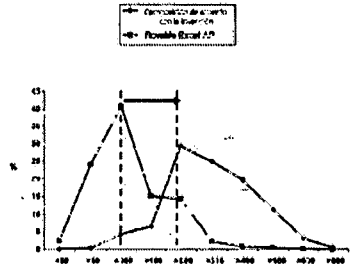


Figure 1

Expéditeur : le BUREAU INTERNATIONAL

PCTNOTIFICATION DE L'ENREGISTREMENT
D'UN CHANGEMENT

(règle 92bis.1 et instruction administrative 422 du PCT)

Destinataire :

DIDIER, Mireille
Cabinet Germain & Maureau
B.P. 6153
F-69466 Lyon Cedex 08
FRANCE

Date d'expédition (jour/mois/année) 30 novembre 2009 (30.11.2009)	NOTIFICATION IMPORTANTE
Référence du dossier du déposant ou du mandataire BR061379/NJC/FCA	
Demande internationale n° PCT/FR2008/000872	Date du dépôt international (jour/mois/année) 20 juin 2008 (20.06.2008)

1. Les renseignements suivants étaient enregistrés en ce qui concerne :

☒ le déposant ☐ l'inventeur ☐ le mandataire ☐ le représentant commun

Nom et adresse ADISSEO FRANCE S.A.S. 42, avenue Aristide Briand F-92160 Antony FRANCE	Nationalité (nom de l'Etat) FR	Domicile (nom de l'Etat) FR
	n° de téléphone	
	n° de télécopieur	
	Address électronique	

2. Le Bureau international notifie au déposant que le changement indiqué ci-après a été enregistré en ce qui concerne :

☐ la personne ☐ le nom ☒ l'adresse ☐ la nationalité ☐ le domicile

Nom et adresse ADISSEO FRANCE S.A.S. Immeuble Antony Parc II 10, place du Général de Gaulle F-92160 Antony FRANCE	Nationalité (nom de l'Etat) FR	Domicile (nom de l'Etat) FR
	n° de téléphone	
	n° de télécopieur	
	Address électronique ☐ Autorisation de recourir au courrier électronique	

3. Observations complémentaires, le cas échéant :

4. Une copie de cette notification a été envoyée

☒ à l'office récepteur☐ à l'administration chargée de la recherche internationale☐ [à l'] [aux] administration(s) indiquée(s) pour la recherche supplémentaire☐ à l'administration chargée de l'examen préliminaire international☒ aux offices désignés concernés☐ aux offices élus concernés☐ autre destinataire :

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse	Fonctionnaire autorisé Benyahia Tewfik
n° de télécopieur +41 22 338 67 20	e-mail pt03.pct@wipo.int n° de téléphone +41 22 338 74 03



Bogotá,
2020

Doctor(a)
MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO

REFERENCIA	Radicación No.	10 12624
	Solicitud internacional	PCT/FR2008/000872
	Fecha inicio fase nacional	20/02/2010
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	3537

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

2. El solicitante debe presentar un nuevo título que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el título relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular Única 5.2.9)

3. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal