

108



Sing

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

06-109239

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO

PROCESO PARA SEMBRAR UN MEDIO CON MICROORGANISMOS

EN FORMA DE TABLETA

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

DANISCO A/S

DOMICILIO

COPENHAGEN K 1001, DINAMARCA

74. APODERADO

EMILIO FERRERO

C.C. 438.019 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D. C.,

Poder, Cusón
F.N. 28-11-2006

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Rad: 06-109239- -00000-0000

Fec. 2006-10-26 17:41:42 Dep 2020 NUECREACIONESⁿ

Tra 11 PATENTEIYII

Evr: 370 FASENACIONALI

Act 411 PRESENTACION

Folios: 53

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE**PCT****ENTRADA EN FASE NACIONAL****SOLICITUD DE:****1**☒ Patente de Invención.☐ Patente de Modelo de Utilidad.☒ Capítulo I.☐ Capítulo II.**2****SOLICITANTE
(71)**Nombre **DANISCO A/S**
sociedad constituida y existente bajo las leyes
de DinamarcaDirección Langebrogade 1,
P O. Box 17,
Copenhagen K 1001,
DinamarcaDomicilio Copenhagen K 1001,
Dinamarca**IDENTIFICACIÓN**

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

3**REPRESENTANTE
O APODERADO**Nombre **EMILIO FERRERO**
Dirección Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono 347 36 11
Fax: 211 86 50
E-mail clientes@camyp.com
Domicilio Bogotá, Colombia**IDENTIFICACIÓN**

C C

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 438.019 T.P 31.929**4****INVENTOR (ES)
(72)**1. **Jean-Philippe OBERT**
17, rue Saintonge,
86530 Availles-en-Chatellerault,
Francia2. **Piotr KOLAKOWSKI**
Jaroslawa Iwaszkiewicza Street, 43/3
10-089 Olsztyn,
Polonia**5****PCT (86)**Solicitud Internacional No. PCT/IB2005/001458Fecha: 27 de abril de 2005Publicación Internacional No. WO 2005/104861 A1Fecha: 10 de noviembre de 2005**6****TÍTULO (54)****PROCESO PARA SEMBRAR UN MEDIO CON MICROORGANISMOS EN
FORMA DE TABLETA****7****Clasificación Internacional (51) A23C 009/123****8****Prioridad**SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

FR

(32) Fecha

28 de abril de 2004

(31) Número de Solicitud

0404508**9****Comprobante de pago No.: 06-75,960****Fecha: 3 de octubre de 2006**

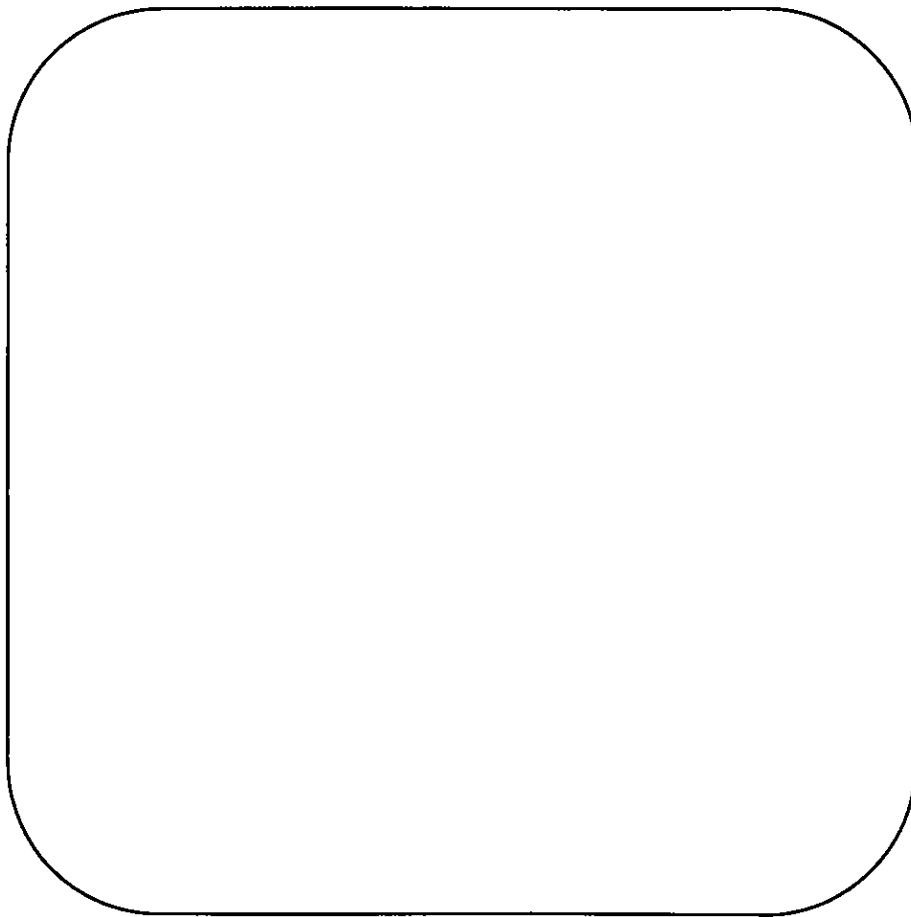
10

An xos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 463 000 oo
- ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☐ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ 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 efectuado por la IPEA
- ☐ Traducción del examen preliminar 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
- ☒ Otros VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE:

EMILIO FERRERO

FIRMA:

C.C. 438 019 de Usaquén T.P. 31 929

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2005/104861 A1

Descripción:

Páginas 13 en el idioma original

Páginas 18 en español

Reivindicaciones. Número (s) 22

Figuras: Número (s) 3

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
10 November 2005 (10.11.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/104861 A1

(51) International Patent Classification⁷: A23C 9/123, 19/032, C12N 1/20

(21) International Application Number:
PCT/IB2005/001458

(22) International Filing Date: 27 April 2005 (27.04.2005)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0404508 28 April 2004 (28 04 2004) FR

(71) Applicant (for all designated States except US):
DANISCO A/S [DK/DK], Langebrogade 1, PO Box 17,
DK-1001 Copenhagen K (DK)

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): OBERT,
Jean-Philippe [FR/FR], 17, rue Saintonge, F-86530
Availles-en-Chatellerault (FR). KOLAKOWSKI, Piotr
[PL/PL], Jaroslawa Iwaszkiewicza Street, 43/3, PL-10-089
Olsztyn (PL)

(74) Agents: ALCOCK, David et al, D Young & Co, 120
Holborn, London EC1N 2DY (GB).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,
MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM,
PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU,
ZA, ZM, ZW

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO,
SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

Published:

— with international search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette

(54) Title: PROCESS FOR SEEDING A MEDIA WITH MICROORGANISM IN FORM OF A TABLET

(57) Abstract: The present invention provides a method of seeding a medium, said method comprising contacting microorganisms with a medium, wherein said microorganisms are in the form of a tablet

WO 2005/104861 A1

8

PROCESS FOR SEEDING A MEDIA WITH MICROORGANISM IN FORM OF A TABLET

The present invention relates to tablets of microorganisms which can be used for direct or semi-direct seeding.

5

Microorganisms, in particular lactic bacteria, are used in numerous industries, in particular in the agri-food industry.

10

In particular, lactic bacteria are used *inter alia* in order to ferment, flavour, refine or texture food, in particular dairy products or cured products. They are also used to protect the media into which they are incorporated against contamination by other microorganisms and also used for their probiotic effects.

15

Depending on uses, lactic bacteria are marketed in the form of compositions comprising *inter alia* mixtures of lactic bacteria, which are called ferments or starters.

20

Ferments are generally in the form of concentrates, dry, lyophilized or frozen, or of a suspension and are most often used in suspension form. In the case of lactic bacteria in dry, lyophilized or frozen form, their use may necessitate a prior suspension.

25

These types of concentrated formulations have the double advantage of preserving the viability of the cultures over a long period of time and of being quite particularly suitable for direct seeding, where the ferment is directly introduced into the medium to be treated or seeded. Advantageously in this latter case, no preliminary culturing in a culture medium proves necessary before use of the ferment, unlike what is called semi-direct seeding.

30

When these ferments are used in dry or lyophilized form, they are in the form of a powder, which has certain drawbacks. In particular, a powder of microorganisms, because of its low density, is incapable of passing through the foam which may form when a liquid is transferred into an industrial tank, possibly for example the foam above a tank of milk.

35

In order to meet the requirements of industry, it has become necessary to find another means for direct seeding which avoids the drawbacks of powders.

Thus the problem which the invention proposes to resolve is that of providing a new means suitable for direct seeding.

Unexpectedly, the inventors have demonstrated that it is possible to use microorganisms
5 in the form of tablets for direct or semi-direct seeding.

In a first aspect the present invention provides a method of seeding a medium, said method comprising: contacting microorganisms with a medium, characterized in that said microorganisms are in the form of a tablet.
10

In a second aspect the present invention provides a method of producing a fermented product, said method comprising: seeding a medium according to any one of the preceding claims, and fermenting said medium.

15 In a third aspect the present invention provides use of microorganisms for seeding a medium, wherein the microorganisms are in the form of a tablet.

The invention offers decisive advantages, in particular when the microorganisms are ferments; these advantages are the immediate availability of less bulky ferments, the
20 stability of the microorganisms in the form of tablets at temperatures comprised between 0°C and 40°C depending on the type of microorganisms, the possibility of producing complex mixtures of species or different strains in determined and constant proportions, the increased regularity of the performances in comparison with standard ferments prepared where they are used, the strictly defined quality of the ferments.

25 Another advantage offered by the invention is that the tablets of microorganisms can be used equally effectively for direct or semi-direct seeding.

Another advantage of the present invention is that the microorganisms in the form of
30 tablets remain viable and are active when they are re-suspended. They can multiply anew in a medium propitious to their development, after having been compressed according to the invention.

Moreover, the microorganisms in the form of tablets have the advantage that no dust is
35 generated when the tablet is handled, which means no loss of product.

Advantageously, the microorganisms in the form of tablets have a mechanical resistance allowing their handling.

5 The invention also has the advantage of being able to be put into practice in all industries, in particular the agri-food, pharmaceutical, cosmetic, food and farming industries, as well as in the fields of animal nutrition, animal feed, detergents, effluent treatment, pollution control and hygiene in the broad sense, in particular everyday hygiene, personal hygiene (for example toothpastes) or industrial hygiene.

10 In preferred aspects, the tablets according to the invention advantageously have a density higher than or equal to 0.8, preferably higher than or equal to 1. This advantage allows easier utilization in particular for seeding media found in industrial tanks.

15 Other advantages and characteristics of the invention will become clear on reading the following description and the examples which are given purely as illustrations and are non-limitative.

The invention relates to the use of microorganisms for seeding a medium characterized in that the microorganisms are in the form of tablets.

20

By the expression "in the form of tablets" is meant that a powder containing microorganisms has undergone compression or any other means of densification.

25 The tablets of microorganisms according to the invention can be obtained by compression, in a standard manner for a person skilled in the art, using any standard compression apparatus. It is possible to use a press, in particular a press having a cooling device. Among the types of press suitable according to the invention, the uniaxial Zwick® 1478 press can be mentioned. The compression pressure applied is at most 400 MPa, preferably at most 200 MPa. Preferably, the compression pressure applied is
30 comprised between 20 MPa and 100 MPa, still more preferably comprised between 40 MPa and 80 MPa.

35 After compression, the tablets are preferably stored under a non-humid or only slightly humid atmosphere so as to prevent the microorganisms from becoming moist. Thus it is possible to store the tablets in for example a plastic bag, a container, a pillbox, an

oxygen- and damp-proof aluminized pouch. Preferably, the tablets are kept at temperatures above 0°C, for example 4°C.

5 The microorganisms utilized according to the invention are preferably in the form of dry or lyophilized powder. They can contain different additives added during their drying or during their lyophilization. They can also contain activators of their biological activity, which are called activators, such as those described in patent application WO02/24870.

10 The microorganisms utilized according to the invention can be bacteria, for example lactic bacteria or probiotic bacteria, yeasts, fungi, moulds, algae, or spores of microorganisms.

15 Lactic bacteria likely to be suitable according to the invention include all the lactic bacteria customarily utilized in the agri-food, pharmaceutical, cosmetic, food and farming industries, as well as in the fields of animal nutrition, animal feed, detergents, effluent treatment, pollution control and hygiene in the broad sense, in particular everyday hygiene, personal hygiene (for example toothpastes) or industrial hygiene.

20 For guidance, the most-used lactic bacteria which are present in the ferments are those belonging to the genera *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium*, *Brevibacterium*, *Camobacterium*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Vagococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Kocuria*, *Arthrobacter*, *Propionibacterium* and *Corynebacterium*. These lactic bacteria are used alone or in mixtures. This list is not exhaustive.

25

What are called probiotic bacteria can also be mentioned *inter alia* as suitable for the invention. By probiotic bacterium or strain is meant a strain which, ingested live, has a beneficial effect on the host, acting on the equilibrium of the intestinal flora. These probiotic strains have the ability to survive passage through the upper part of the digestive tube. They are non-pathogenic, non-toxic and have a beneficial effect on health, on the one hand via ecological interactions with the resident flora of the digestive tube and on the other hand via their ability to influence the immune tissue associated with the intestine in a positive manner. According to the definition of probiotics, these bacteria, when present in sufficient number, have the ability to pass through the whole intestine alive. They then form part of the resident flora during the period of administration. This colonization (or temporary colonization) allows the probiotic bacteria

30

35

to have a beneficial effect, such as the repression of potentially pathogenic microorganisms present in the flora and interactions with the immune system of the intestine.

- 5 The microorganisms according to the invention can be mixed before being shaped into tablets with ingredients suitable for compression.

Among the ingredients suitable for compression, there can be mentioned:

- 10 • soluble compressible compounds, in particular polysaccharides, oligosaccharides such as for example inulin, sugars such as for example sucrose, fructose or lactose, polyols such as for example sorbitol or mannitol, soluble salts such as for example carbonates or soluble phosphate salts including dibasic calcium phosphate;
- insoluble compressible compounds, in particular microcrystalline cellulose, calcium silicates or insoluble phosphate salts such as for example tricalcium phosphate;
- 15 • disintegrants, which facilitate the disintegration of the tablet when it is immersed in a liquid and allow the release of the microorganisms, in particular croscarmellose sodium, branched sodium carboxymethylcellulose, crospovidone, N-vinyl-2-pyrrolidone, starch or pregelatinized starch, carrageenans, guar gums, alginates.
- lubricants, which facilitate the flow of the powders, the ejection of the tablet from the
20 press after compression or which also make it possible to attenuate the anisotropy of the stresses within the pressed mass. By way of example, there will be mentioned stearic acid, magnesium, calcium, sodium or ammonium metallic stearates, silica, amino acids such as leucine, sodium benzoate, polyethylene glycols, or talc.

- 25 It is also possible to use commercially available pre-formulated compressible compounds.

Practice of the invention is possible by introducing the microorganisms in the form of tablets directly into the medium to be seeded (direct seeding) or by preparing a pre-
30 culture to which the microorganisms in the form of tablets are added, before adding the pre-culture to the medium to be seeded.

The medium in which the microorganisms in the form of tablets can be used is preferably a food medium such as for example a dairy, meat, fruit-juice-based medium or an
35 aqueous medium. It is preferably an aqueous medium.

19

6

By dairy medium is meant a medium comprising milk of animal and/or vegetable origin. As milk of animal origin there can be mentioned cow's, ewe's, goat's or buffalo's milk. As milk of vegetable origin there can be mentioned any fermentable substance of vegetable origin which can be used according to the invention in particular originating from soya seeds, rice or malt.

The medium to be seeded according to the invention can optionally be a liquid, gelated, gelatable or foamy medium.

- 10 The medium to be seeded according to the invention can optionally be a fermentable medium or a non-fermentable medium.

Generally, the microorganisms in the form of tablets can be used in the same manner as when they are in dry or lyophilizate form.

15

Among the uses/methods/processes according to the invention there can be mentioned the seeding of a tank of milk with microorganisms in the form of tablets, in order to produce for example a fermented milk, a yoghurt, a matured cream, a cheese, a fromage frais, a milk beverage, a milk product retentate, a processed cheese, a cream dessert, a cottage cheese or a milk for infants.

20

The present invention allows for seeding a medium continuous or discontinuous, automatable and aseptic in-line seeding.

- 25 By seeding according to the invention is meant adding microorganisms to a medium. The term inoculation of a medium is also used. This medium is preferably an industrial medium, i.e. produced by an industry.

- 30 The present invention can comprise a stage of incubation of the medium seeded with microorganisms in the form of tablets, under conditions favourable to the metabolic activity of the microorganisms. This stage can make it possible to obtain, depending on the case, a medium rich in microorganisms or a fermented product depending on the type of microorganisms used.

- 35 The present invention can be implemented in the agri-food, pharmaceutical, cosmetic, food and farming industries, as well as in the fields of animal nutrition, animal feed,

11

7

detergents, effluent treatment, pollution control and hygiene in the broad sense, in particular everyday hygiene, personal hygiene (for example toothpastes) or industrial hygiene.

- 5 The present invention may be utilised in the seeding of a medium with microorganisms in the form of tablets to produce a fermented product. Preferably the fermented product is a home fermented product. Microorganisms in the form of a tablet are particularly useful in the production of a home fermented product. Such a tablet negates the need for the consumer to carefully measure out and/or resuspend the microorganisms to be used
- 10 whilst ensuring consistency with regard to the amount and combination of microorganisms used in batches. Furthermore, such a tablet is easier to handle and store at home.

- Preferably the present invention may be utilised in the seeding of a medium with
- 15 microorganisms in the form of tablets to produce a fermented milk product. Examples of fermented milks are, but are not limited to, Kefir, Koumiss, Dahi, Skyr, Irgo, Itito, Mala and Acidophilus milk.

- The present invention may be utilised in the seeding of milk with microorganisms in the form of tablets to produce Kefir. Kefir is producable by incubating heat-treated milk with
- 20 microorganisms in the form of a tablet for approximately 24 hours at 20°C or by incubating for 20 hours at 21-22°C. In one embodiment, the microorganisms comprise 80% lactococci, 5% lactobacilli and 5% yeast. In another embodiment, the microorganisms comprise up to 80% lactococci, up to 10% lactobacilli and up to 1%
- 25 yeast. Preferably the microorganisms comprise 99% lactic acid bacteria and 1% yeast. More preferably, the microorganisms comprise 99% lactic acid bacteria and 0.02% yeast.

- Figure 1 shows the comparative acidification results obtained for bacteria in the form of tablets and for the same lyophilized bacteria.
- 30 Figure 2 shows the comparative acidification results for the kefir culture and the tablet (produced according to the method described) after inoculation of UHT milk incubated at 24°C

Figure 3 shows comparative acidification results at different temperatures

- 35 The following examples illustrate the invention without limiting its scope.

EXAMPLE 1:**1-1 Production of lactic bacteria tablets:**

- 5 Before the compression stage, the lactic bacteria are mixed with the compression additives using, for example, a Turbula® planetary-type mixer.

The compression additives used are the following:

0.5% stearic acid

- 10 2% croscarmellose sodium

48.75% microcrystalline cellulose

48.75% lyophilized lactic bacteria (EZAL MYE 95 ferment).

The percentages are by mass relative to the total mass of powder.

- 15 This mixture is then directly compressed using a Zwick® 1478 uniaxial press (Compression pressure: 60 MPa, tablet mass 1 g, tablet diameter: 1.3 cm).

- A non-powdery tablet able to be handled is then obtained (hardness of approximately 7 kP) which will disintegrate very rapidly upon contact with an aqueous medium, in less
20 than 5 minutes. Moreover, the ferment in tablet form retains its functionalities (acidification, texture, flavouring etc.).

- By "very rapid disintegration" is meant that the tablet disintegrates completely (visual absence of aggregates) over a period of less than 5 minutes, under the conditions of a
25 standardized test. This standardized test consists of displaying the disintegration of the tablet when the latter is placed in water at ambient temperature (use of a 2-litre beaker filled with 1.8 litres of water, at a temperature comprised between 18°C and 25°C) under gentle stirring (use of a stirring grid measuring 55 x 40 mm placed 3 cm from the bottom of the beaker, and the rotational speed of which is 120 rpm).

30

1-2 Production of a fermented medium:

- According to the invention, the medium to be fermented is inoculated with the tablet, produced in 1-1, using the seeding dose recommended for these lactic bacteria. For
35 example, for a milk matrix, the recommended usage dose for the ferment MYE 95 is 4 units (U) for 100 litres of milk.

Figure 1 below shows the comparative acidification results obtained for the lyophilizate (dotted line) and the tablet (produced according to the method described previously - solid line) after inoculation at 4U/100 litres of a UHT milk medium incubated at 43°C.

5

As the curves showing the acidification of the lyophilizate and the tablet are virtually superimposed, it can therefore be concluded that compression does not alter the functionalities of the lactic bacteria.

10 EXAMPLE 2:

2-1 Production of tablets for home made kefir – "Tybet kefir"

Composition of kefir culture:

15 kefir grains

BT001 (Lactic acid bacteria – mesophilic bacteria – Lactococcus)

Lactobacillus acidophilus NCFM

All components are in freeze-dried form.

20 Before the compression stage, kefir culture is mixed with the compression additives using, for example, a Turbula® planetary-type mixer.

The compression additives used are the following:

1% magnesium stearate

25 2% croscarmellose sodium

4% sodium glycollate

53% microcrystalline cellulose

40% freeze-dried kefir culture (Tybet kefir).

30 The percentages are by mass relative to the total mass of powder.

This mixture is then directly compressed using a Tablet Press Machine Greatide (Taivan) with a capacity of 450 tablets per minute (compression pressure: 60 MPa, tablet mass: 0,5 g, tablet diameter: 0,8 cm).

35

14

A non-powder tablet is then obtained (hardness of tablet: 5,5 kP) which disintegrates very rapidly upon contact with an aqueous medium, in less than 4 minutes, and is completely dissolved in less than 9 minutes. Moreover, the culture in tablet form retains its functionalities (acidification, texture, flavouring etc.).

5

By "completely dissolving" it is meant that the tablet disintegrates completely (visual absence of aggregates) under the conditions of a standardized test. This standardized test consists of displaying of tablet dissolving when the tablet is placed in water at ambient temperature (use of a 250 ml of water, at a temperature between 22°C and 10 24°C) under stirring at 750-800 rpm.

Microbial composition of kefir culture before and after compression (tablet) is shown in table 1. Figure 2 shows the comparative acidification results for the kefir culture and the tablet (produced according to the method described) after inoculation of UHT milk 15 incubated at 24°C.

2-2 Production of kefir "Tybet kefir" at home

According to the invention, the milk to be fermented is inoculated with the tablet. 20 Recommended usage dose for the kefir culture is one tablet (0,5g) for one litre of milk. Any milk, starting from non-fat to whole milk may be applied. For example, cow, goat, sheep and soya milk may be used for kefir production. UHT or pasteurized trade available milk is recommended. However, for raw milk it should be heated up to around 80°C and immediately cooled down in tap water to room temperature before the tablet is 25 added. The recommended incubation temperature is room temperature – the best range is 20 - 25°C.

Depending on temperature, the fermentation time fluctuates from 16 to 24 hours. The higher the temperature, the shorter the fermentation time needed. 30

Figure 3 below shows comparative acidification results for different temperatures. End of fermentation can be recognized by visible curd and some whey release.

Prolonged fermentation has no negative impact (up to 24 h) due to the fact that the post- 35 acidification effect is very limited (Figure 2).

The kefir is refrigerated to stop the fermentation process.

Preparation:

- 5
- Add one tablet directly to an opened 1-liter carton of room-temperature UHT milk, 2% of fat, close it, shake twice for a few seconds (the second shaking after 15 minutes of incubation).
Leave it at room temperature (24°C). The time of fermentation to reach pH 4,55 - 4,6 is about 16 hours.
- 10
- Refrigerate the kefir to stop the fermentation process.
Microbial kefir composition one day after production is listed in Table 2.

Table 1. Microbial composition of kefir culture before and after compression

Sample	Total mesophilic lactic acid bacteria	Lactobacillus acidophilus	Yeast
	cfu/g		
Kefir culture (powder form)	5,4E+10	1,0E+08	8,0E+04
Kefir culture (tablet form)	2,0E+10	1,3E+07	4,2E+04

Table 2. Microbial kefir composition one day after production

Sample	Total lactic acid bacteria	Total aroma forming	Lactobacillus acidophilus	Yeast	Leuconostoc or/and mesophilic heterofermentative Lactobacillus
	cfu/ml				
Kefir culture (powder form)	3,0E+09	1,8E+09	1,6E+07	1,2E+02	3,0E+06
Kefir culture (tablet form)	2,2E+09	1,2E+09	1,4E+07	7,0E+01	2,5E+06

Figure 2. shows milk acidification curves (UHT, 2% of fat) by kefir culture type before compression (powder form) and after compression (tablet form) at temperature 24°C

Figure 3 shows milk acidification curves (UHT, 2% of fat) by kefir culture in tablet form at
5 different temperatures.

Some embodiments of the present invention will now be illustrated by way of numbered paragraphs:

- 10 1. Use of microorganisms for seeding a medium characterized in that the microorganisms are in the form of tablets.
2. Use according to paragraph 1 characterized in that the microorganisms have been subjected to a compression pressure of at most 400 MPa, preferably at most 200 MPa.
15
3. Use according to one of the preceding paragraphs characterized in that the medium to be seeded is a liquid, gelated, gelatable, foamy, fermentable or non-fermentable medium.
- 20 4. Use according to one of the preceding paragraphs characterized in that the medium to be seeded is a food medium such as for example a dairy, milk, fruit-juice-based or aqueous medium.
5. Use according to one of the preceding paragraphs characterized in that the
25 microorganisms are bacteria, for example lactic bacteria or probiotic bacteria, yeasts, fungi, moulds, algae, or spores of microorganisms.
6. Use according to one of the preceding paragraphs characterized in that it is implemented in the agri-food, pharmaceutical, cosmetic, food and farming industries, as
30 well as in the fields of animal nutrition, animal feed, detergents, effluent treatment, pollution control and hygiene in the broad sense, in particular everyday hygiene, personal hygiene (for example toothpastes) or industrial hygiene.
7. Use according to any one of the preceding paragraphs characterized in that the micro-
35 organisms are lyophilised.

17

8. Use according to any one of the preceding paragraphs characterized in that the seeding is direct seeding.

- 5 All publications mentioned in the present specification are herein incorporated by reference. Various modifications and variations of the described methods and system of the invention will be apparent to those skilled in the art without departing from the scope and spirit of the invention. Although the invention has been described in connection with specific preferred embodiments, it should be understood that the invention as claimed
- 10 should not be unduly limited to such specific embodiments. Indeed, various modifications of the described modes for carrying out the invention which are obvious to those skilled in chemistry or related fields are intended to be within the scope of the following claims.

Claims

1. A method of seeding a medium, said method comprising:
contacting microorganisms with a medium
- 5 wherein said microorganisms are in the form of a tablet.
2. A method according to claim 1, characterized in that said medium is a food medium.
- 10 3. A method according to claim 1 or claim 2, characterized in that said food medium is a dairy, milk, fruit-juice-based or aqueous medium.
4. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that the microorganisms have been subjected to a compression pressure of at most 400 Mpa.
- 15 5. A method according any of the preceding claims characterized in that the microorganisms have been subjected to a compression pressure of at most 200 Mpa.
6. A method according to one of the preceding claims characterized in that the medium to be seeded is a liquid, gelated, gelatable, foamy, fermentable or non-fermentable medium.
- 20 7. A method according to one of the preceding claims characterized in that the microorganisms are bacteria, yeast, fungi, moulds, algae, or spores of microorganisms.
- 25 8. A method according to claim 7 characterized in that said bacteria are lactic bacteria and/or probiotic bacteria.
9. A method according to one of the preceding claims characterized in that it is implemented in the agri-food, pharmaceutical, cosmetic, food and farming industries, as well as in the fields of animal nutrition, animal feed, detergents, effluent treatment, pollution control and hygiene in the broad sense, in particular everyday hygiene, personal hygiene (for example toothpastes) or industrial hygiene.
- 30 10. A method according to any one of the preceding claims characterized in that the microorganisms are lyophilised.
- 35

M

11. A method according to any one of the preceding claims characterized in that the seeding is direct seeding.

5 12. A method of producing a fermented product, said method comprising:
seeding a medium in accordance with a process defined in any one of the preceding
claims
and fermenting said medium.

10 13. A method according to claim 12 characterised in that said fermented product is a
fermented milk product.

14. A method according to claim 12 or claim 13 characterized in that said fermented
product is a home fermented product.

15

15. Use of microorganisms for seeding a medium, wherein the microorganisms are in
the form of a tablet.

16. Use according to claim 15, for the preparation of a fermented product.

20

17. Use according to claim 16 characterized in that said fermented product is a
fermented milk product.

18. Use according to claim 17 characterized in that said fermented milk product is
25 Kefir, Koumiss, Dahl, Skyr, Irgo, Itito, Mala or Acidophilus milk.

19. Use according to claim 18 characterized in that said fermented milk product is
Kefir.

30 20. Use according to any one of claims 16 to 19 characterized in that said fermented
product is home fermented.

21. A method as substantially hereinbefore described with reference to the
Examples.

35

22. A use as substantially hereinbefore described with reference to the Examples.

251

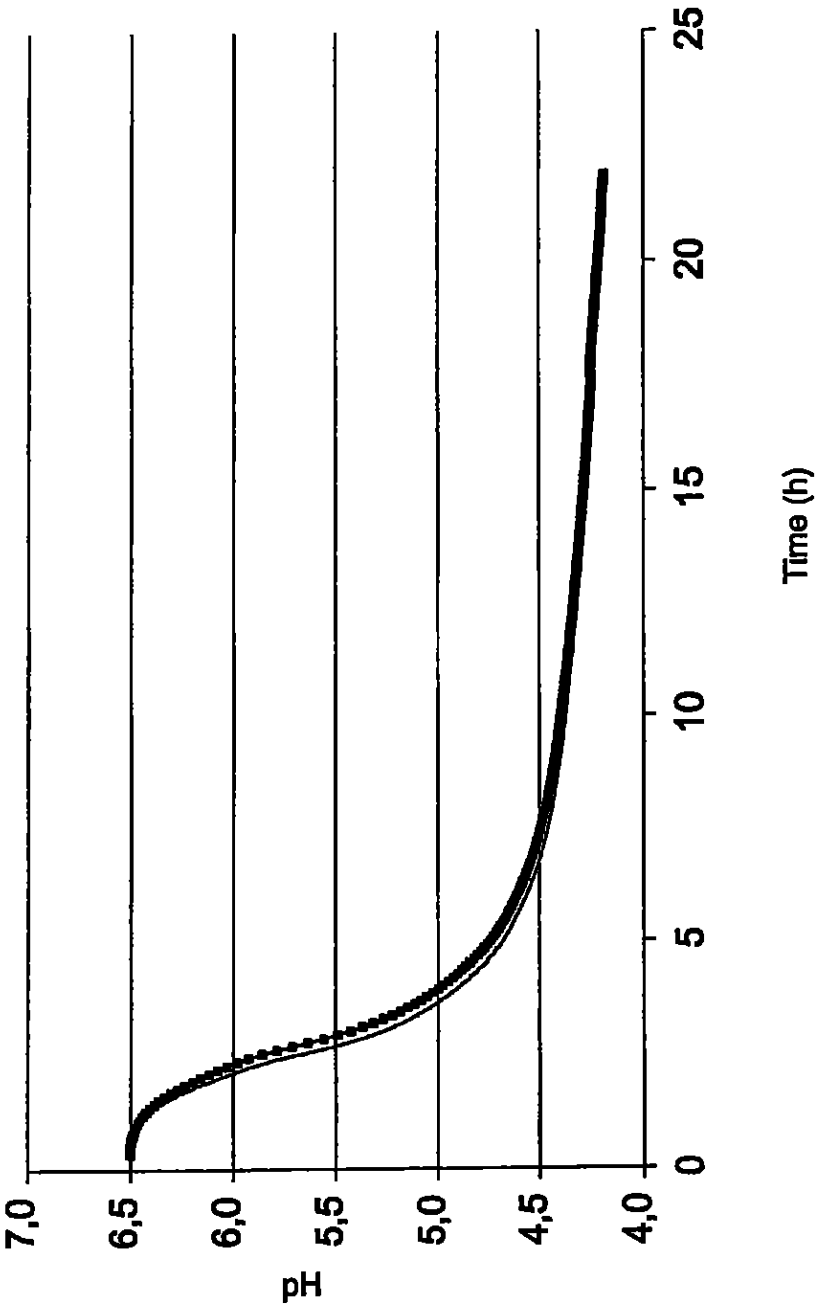


Figure 1

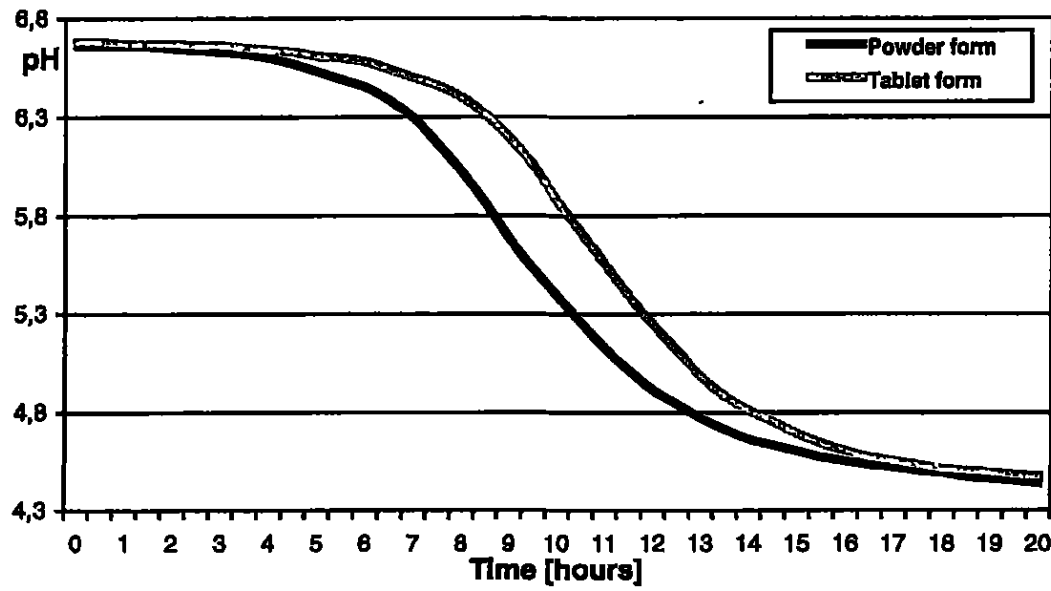


Figure 2

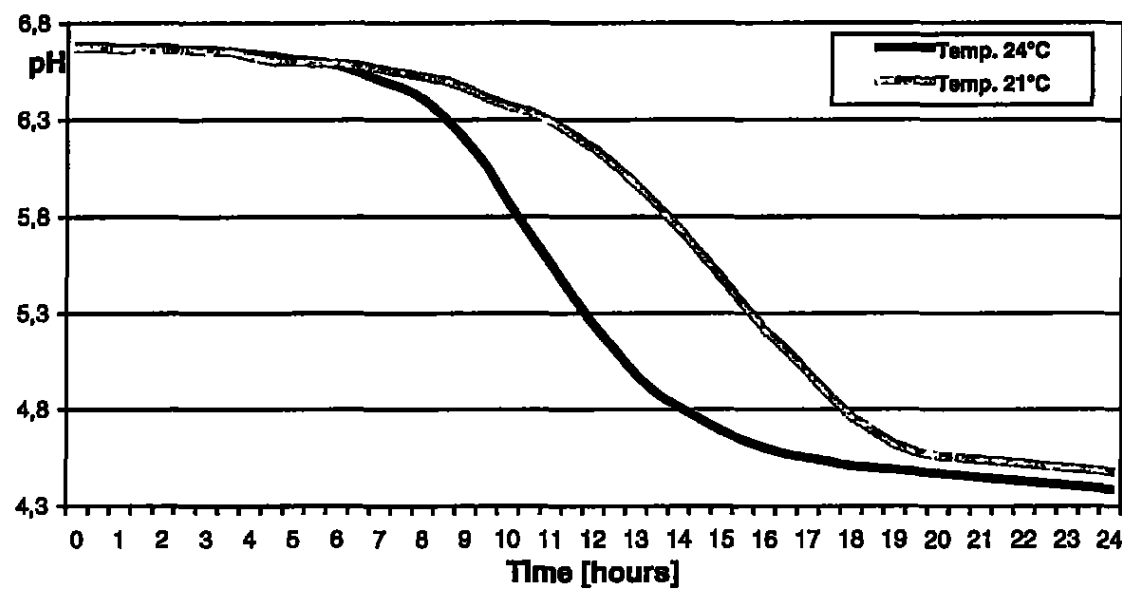


Figure 3

PROCESO PARA SEMBRAR UN MEDIO CON MICROORGANISMOS EN

FORMA DE TABLETA

Descripción de la Invención

5 La presente invención se refiere a tabletas de microorganismos que se pueden utilizar para la siembra directa o semidirecta.

Los microorganismos, en particular bacterias lácticas, se utilizan en industrias numerosas, en particular en la industria agropecuaria de alimentos.

10 En particular, las bacterias lácticas se usan, entre otros, para fermentar, condimentar, refinar o texturizar el alimento, en particular productos lácteos o productos curados. También se utilizan para proteger el medio en el cual son incorporados contra la contaminación por otros microorganismos y también utilizados por sus efectos
15 probióticos.

Dependiendo de los usos, las bacterias lácticas se hacen en la forma de composiciones que comprenden, entre otras, mezclas de bacterias lácticas, que se llaman fermentos o iniciadores.

Los fermentos están generalmente en la forma de concentrados,
20 secos, liofilizados o congelados, o de una suspensión y se utilizan más frecuentemente en forma de suspensión. En la caso de bacterias lácticas en la forma seca, liofilizada o congelada, su uso puede hacer necesario una suspensión anterior.

Estos tipos de formulaciones concentradas tienen la ventaja doble
25 de preservar la viabilidad de los cultivos sobre un período largo de

tiempo y de ser muy particularmente convenientes para la siembra directa, donde el fermento se introduce directamente en el medio que se tratará o sembrará. Ventajosamente en este último caso, ninguna
5 cultivación preliminar en un medio de cultivo prueba ser necesaria antes del uso del fermento, diferente a la llamada siembra semidirecta.

Cuando estos fermentos se utilizan en forma seca o liofilizada, están en la forma de un polvo, lo que tiene ciertas desventajas. En particular, un polvo de microorganismos, debido a su baja densidad, es incapaz de pasar a través de la espuma que puede formar cuando un
10 líquido se transfiere en un tanque industrial, posiblemente por ejemplo la espuma sobre un tanque de leche.

Para cumplir con los requisitos de la industria, ha llegado a ser necesario encontrar otros medios para la siembra directa que eviten las desventajas de los polvos.

15 Así el problema que la invención propone resolver es el de proporcionar un nuevo medio conveniente a la siembra directa

Inesperadamente, los inventores han demostrado que es posible utilizar microorganismos en la forma de tabletas para la siembra directa o semidirecta.

20 En un primer aspecto la presente invención proporciona un método de sembrar un medio, el método comprende: poner en contacto microorganismos con un medio, caracterizado en que los microorganismos están en la forma de una tableta.

En un segundo aspecto la presente invención proporciona un
25 método de producir un producto fermentado, el método comprende:

sembrar un medio de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, y fermentar tal medio.

En un tercer aspecto la presente invención proporciona el uso de microorganismos para sembrar un medio, en donde los microorganismos
5 están en la forma de una tableta

La invención ofrece ventajas decisivas, en particular cuando los microorganismos son fermentos; estas ventajas son la disponibilidad inmediata de fermentos menos abultados, la estabilidad de los microorganismos en la forma de tabletas a temperaturas comprendidas
10 entre 0°C y 40°C dependiendo del tipo de microorganismos, la posibilidad de producir mezclas complejas de especies o de diversas cepas en las proporciones determinadas y constantes, la regularidad creciente de las funciones en comparación con los fermentos estándares preparados donde se utilizan, la calidad terminantemente definida de los
15 fermentos.

Otra ventaja ofrecida por la ventaja es que las tabletas de microorganismos se pueden utilizar igualmente con eficacia para la siembra directa o semidirecta.

Otra ventaja de la presente invención es que los microorganismos
20 en la forma de tabletas siguen siendo viables y son activos cuando se suspenden de nuevo. Pueden multiplicarse de nuevo en un medio propicio a su desarrollo, después de haberse comprimido de acuerdo con la invención.

Por otra parte, los microorganismos en la forma de tabletas tienen
25 la ventaja que no se genera ningún polvo cuando se maneja la tableta,

lo que significa ninguna pérdida de producto

Ventajosamente, los microorganismos en la forma de tabletas tienen una resistencia mecánica que permite su manipulación.

La invención también tiene la ventaja de poder ponerse en
5 práctica en todas las industrias, en particular industrias de alimentos agrícolas, farmacéutica, cosmética, alimentos y de cultivo, así como en los campos de nutrición animal, piensos para animales, detergentes, tratamiento efluente, control de contaminación e higiene en el amplio sentido, en particular higiene diaria, higiene personal (por ejemplo
10 cremas dentales) o higiene industrial.

En aspectos preferidos, las tabletas de acuerdo con la invención tienen ventajosamente una densidad más alta que o igual a 0.8, preferiblemente más alta que o igual a 1 Esta ventaja permite una utilización más fácil en particular para los medios de sembrado
15 encontrados en tanques industriales.

Otras ventajas y características de la invención llegarán a ser claras en la lectura de la descripción siguiente y los ejemplos que se dan puramente como ilustraciones y no son limitativos

La invención se relaciona al uso de microorganismos para sembrar
20 un medio caracterizado en que los microorganismos están en la forma de tabletas.

Por la expresión "en la forma de tabletas" se entiende que un polvo que contiene microorganismos ha experimentado la compresión o cualquier otro medio de densificación.

25 Las tabletas de microorganismos de acuerdo con la invención se

pueden obtener por compresión, de una manera estándar para un experto en la técnica, usando cualquier aparato estándar de compresión. Es posible utilizar una prensa, en particular una prensa con un dispositivo de enfriamiento. Entre los tipos de prensa convenientes de acuerdo con la invención, puede mencionarse la prensa uniaxial Zwick® 1478. La presión de la compresión aplicada es a lo sumo de 400 MPa, preferiblemente a lo sumo 200 MPa. Preferiblemente, la presión de compresión aplicada está comprendida entre 20 MPa y 100 MPa, aún más preferiblemente comprendida entre 40 MPa y 80 MPa.

Después de la compresión, las tabletas se almacenan preferiblemente bajo atmósfera sólo ligeramente húmeda o no-húmeda para evitar que los microorganismos lleguen a humedecerse. Así es posible almacenar las tabletas en por ejemplo una bolsa de plástico, un envase, caja de píldoras, una bolsa con oxígeno y aluminizada contra humedad. Preferiblemente, las tabletas se mantienen a temperaturas de alrededor de 0°C, por ejemplo 4°C.

Los microorganismos utilizados de acuerdo con la invención están preferiblemente en la forma de polvo seco o liofilizado. Pueden contener diversos aditivos agregados durante su sequedad o durante su liofilización. Pueden también contener activadores de su actividad biológica, que se llaman activadores, tales como los descritos en la Solicitud de Patente WO02/24870.

Los microorganismos utilizados de acuerdo con la invención pueden ser bacterias, por ejemplo bacterias lácticas o bacterias probióticas, levaduras, hongos, moho, algas, o esporas de

microorganismos

Las bacterias lácticas convenientes de acuerdo con la invención incluyen todas las bacterias lácticas utilizadas por lo general en las industrias de alimentos agrícolas, farmacéuticas, cosméticas, alimentos y de cultivo, así como en los campos de la nutrición animal, piensos para animales, detergentes, tratamiento efluente, control de contaminación e higiene en amplio sentido, en particular higiene diaria, higiene personal (por ejemplo cremas dentales) o higiene industrial

Para el manejo, las bacterias lácticas más usadas que están presentes en los fermentos son las que pertenecen a los géneros Lactococcus, Streptococo, Lactobacilo, Leuconostoc, Pediococcus, Bifidobacterium, Brevibacterium, Carnobacterium, Enterococo, Micrococo, Vagococcus, Estafilococo, Bacilo, Kocuria, Arthrobacter, Proprionibacterium y Corynebacterium. Estas bacterias lácticas se utilizan solas o en mezclas Esta lista no es exhaustiva

Las también llamadas bacterias probióticas pueden también, entre otros, mencionarse como convenientes para la invención Por bacteria probiótica o cepa se entiende una cepa que, vivo ingerida, tiene un efecto beneficioso en el hospedador, actuando en equilibrio de la flora intestinal Estas cepas probióticas tienen la capacidad de sobrevivir al paso a través de la parte superior del tubo digestivo. No son patógenas, no tóxicas y tienen un efecto beneficioso en salud, por un lado vía interacciones ecológicas con la flora residente del tubo digestivo y por otro lado vía su capacidad de influenciar el tejido inmune asociado al intestino de una manera positiva. De acuerdo con la definición de

probióticos, estas bacterias, cuando están presentes en suficiente cantidad, tienen la capacidad de pasar a través del intestino entero en actividad. Entonces forman parte de la flora residente durante el período de administración. Esta colonización (o colonización temporal) permite
5 que las bacterias probióticas tengan un efecto beneficioso, tal como la represión de microorganismos potencialmente patógenos presentes en la flora e interacciones con el sistema inmune del intestino.

Los microorganismos de acuerdo con la invención pueden ser mezclados antes de formarse en las tabletas con los ingredientes
10 convenientes para la compresión.

Entre los ingredientes convenientes para la compresión, pueden mencionarse:

- compuestos compresibles solubles, en particular polisacáridos, oligosacáridos como por ejemplo inulina, azúcares tal como por ejemplo
15 sucrosa, fructosa o lactosa, polioles tal como por ejemplo sorbitol o manitol, sales solubles tal como por ejemplo carbonatos o sales solubles de fosfato incluyendo fosfato de calcio dibásico;

- compuestos compresibles solubles, en particular celulosa microcristalina, silicatos de calcio o sales de fosfato insolubles tal como
20 por ejemplo fosfato tricálcico;

- desintegrantes, que facilitan la desintegración de la tableta cuando se sumergen en un líquido y permiten la liberación de los microorganismos, en particular sodio de croscarmelosa, carboximetilcelulosa de sodio ramificada, crospovidona, N-vinil-2-
25 pirrolidona, almidón o almidón pregelatinizado, carragenanos, gomas de

guar, alginatos

• lubricantes, que facilitan el flujo de los polvos, la eyección de la tableta de la prensa después de la compresión o también permiten atenuar la anisotropía de las cepas dentro de la masa presionada. A modo de ejemplo, se mencionará ácido esteárico, magnesio, calcio, estearatos metálicos de sodio o amonio, silicio, aminoácidos tales como leucina, benzoato de sodio, polietilenglicoles, o talco.

También es posible utilizar compuestos compresibles pre-formulados comercialmente disponibles

Es posible practicar la invención introduciendo los microorganismos en la forma de tabletas directamente en el medio que se sembrará (siembra directa) o preparando un pre-cultivo al cual se agregan los microorganismos en la forma de tabletas, antes de agregar el precultivo al medio que se sembrará

El medio en el cual los microorganismos en la forma de tabletas pueden utilizarse es preferiblemente un medio alimenticio tal como por ejemplo productos lácteos, carnes, un medio basado en jugo de frutas o un medio acuoso. Preferiblemente es un medio acuoso.

Por medio lácteo se entiende un medio que comprende leche de origen animal y/o vegetal. Como leche de origen animal puede mencionarse leche de vaca, de oveja, de cabra o búfalo. Como leche de origen vegetal se puede mencionar cualquier sustancia fermentable de origen vegetal que se pueda utilizar de acuerdo con la invención en particular originada de semillas de arroz, malta o soya.

El medio que se sembrará de acuerdo con la invención puede

opcionalmente ser un medio líquido, gelado, gelatable o espumoso.

El medio que se sembrará de acuerdo con la invención puede opcionalmente ser un medio fermentable o un medio no-fermentable

Generalmente, los microorganismos en la forma de tabletas se pueden utilizar de manera similar como cuando están en forma seca o liofilizada.

Entre los usos/métodos/procesos de acuerdo con la invención se pueden mencionar la siembra de un tanque de leche con microorganismos en la forma de tabletas, para producir por ejemplo una leche fermentada, yogur, crema madurada, quesos, quesos frescos, bebida de leche, concentrados de producto lácteo, queso procesado, postre de crema, requesón o leche para infantes.

La presente invención permite sembrar un medio continuo o discontinuo, una siembra en línea, automatizada y aséptica.

Por sembrar de acuerdo con la invención se entiende agregar microorganismos a un medio. El término inoculación de un medio también se utiliza. Este medio es preferiblemente un medio industrial, es decir producido por una industria.

La presente invención puede comprender una etapa de incubación del medio sembrado con microorganismos en la forma de tabletas, bajo condiciones favorables a la actividad metabólica de los microorganismos. Esta etapa puede permitir obtener, dependiendo del caso, un medio rico de microorganismos o un producto fermentado dependiendo del tipo de microorganismos usados

La presente invención se puede implementar en industrias de

alimentos agrícolas, farmacéutica, cosmética, alimentos y de cultivo, así como en los campos de nutrición animal, piensos para animales, detergentes, tratamiento efluente, control de contaminación e higiene en amplio sentido, en particular higiene diaria, higiene personal (por ejemplo cremas dentales) o higiene industrial

La presente invención se puede utilizar en la siembra de un medio con microorganismos en la forma de tabletas para producir un producto fermentado. Preferiblemente, el producto fermentado es un producto fermentado casero. Los microorganismos en la forma de una tableta son particularmente útiles en la producción de un producto fermentado casero. Tal tableta niega la necesidad del consumidor de medir cuidadosamente y/o de resuspender los microorganismos que se utilizarán mientras que asegura la consistencia con respecto a la cantidad y combinación de los microorganismos usados en lotes. Además, tal tableta es más fácil de manipular y de almacenar en casa.

Preferiblemente, la presente invención se puede utilizar en la siembra de un medio con microorganismos en la forma de tabletas para producir un producto lácteo fermentado. Los ejemplos de leches fermentadas son, pero no se limitan a, Kefir, Koumiss, Dahi, Skyr, Irgo, Itito, Mala y leche acidófila.

La presente invención se puede utilizar en la siembra de leche con microorganismos en la forma de tabletas para producir Kefir. Kefir se produce incubando la leche sometida a un tratamiento térmico con microorganismos en la forma de una tableta por aproximadamente 24 horas a 20°C o incubando por 20 horas a 21-22°C En una modalidad,

los microorganismos comprenden 80% de lactococci, 5% de lactobacilos y 5% de levadura. En otra modalidad, los microorganismos comprenden hasta 80% de lactococci, hasta 10% de lactobacilos y hasta 1% de levadura. Preferiblemente, los microorganismos comprenden 99% de bacterias de ácido láctico y 1% de levadura. Más preferiblemente, los microorganismos comprenden 99% de bacterias del ácido láctico y 0.02% de levaduras.

La figura 1 muestra los resultados de la acidificación comparativos obtenidos para las bacterias en forma de tabletas y para las mismas bacterias liofilizadas

La figura 2 muestra los resultados de la acidificación comparativos para el cultivo de Kefir y la tableta (producida de acuerdo con el método descrito) después de la inoculación de la leche de UHT incubada a 24°C.

La figura 3 muestra resultados de la acidificación comparativos a diversas temperaturas.

Los ejemplos siguientes ilustran la invención sin limitar su alcance

EJEMPLO 1:

1-1 Producción de tabletas de bacterias lácticas:

Antes de la etapa de compresión, las bacterias lácticas se mezclan con aditivos de compresión usando, por ejemplo, un mezclador tipo planetario Turbula®

Los aditivos de compresión usados son los siguientes:

0.5% de ácido esteárico

2% de sodio de croscarmelosa

48 75% de celulosa microcristalina

48.75% de bacterias lácticas liofilizadas (fermento EZAL MYE 95).

Los porcentajes son por masa con relación a la masa total del polvo.

Esta mezcla entonces se comprime directamente usando una
5 prensa uniaxial Zwick® 1478 (Presión de compresión: 60 MPa, masa de
tableta 1 g, diámetro de tableta: 1.3 centímetros)

Una tableta no-polvorienta capaz de manipularse entonces se
obtiene (dureza de aproximadamente 7 kP) que se desintegrará muy
rápidamente durante el contacto con un medio acuoso, en menor de 5
10 minutos. Por otra parte, el fermento en forma de tableta conserva sus
funcionalidades (acidificación, textura, aroma, etc).

Por "desintegración muy rápida" se entiende que la tableta se
desintegra totalmente (ausencia visual de agregados) durante un
período de menos de 5 minutos, bajo condiciones de una prueba
15 estandarizada. Esta prueba estandarizada consiste en desplegar la
desintegración de la tableta cuando la última se pone en agua a
temperatura ambiente (uso de un recipiente de 2-litros lleno de 1.8 litros
de agua, a una temperatura comprendida entre 18°C y 25°C) bajo
agitación moderada (uso de una rejilla de agitación que mide 55 x 40
20 mm ubicada 3 centímetros del fondo del recipiente, y cuya velocidad
giratoria es 120 rpm)

1-2 Producción de un medio fermentado:

De acuerdo con la invención, el medio que se fermentará se
inocula con la tableta, producida en 1-1, usando la dosis sembradora
25 recomendada para estas bacterias lácticas. Por ejemplo, para una matriz

de leche, la dosis de uso recomendada para el fermento MYE 95 es 4 unidades (U) para 100 litros de leche

La figura 1 abajo muestra los resultados de la acidificación comparativos obtenidos para el liofilizado (línea punteada) y la tableta (producida de acuerdo con el método previamente descrito – línea
5 continúa) después de la inoculación en 4U/100 litros de un medio de leche de UHT incubado a 43°C.

Debido a que las curvas que muestran la acidificación del liofilizado y de la tableta, están superpuestas virtualmente, puede por lo
10 tanto concluirse que la compresión no altera las funcionalidades de las bacterias lácticas.

EJEMPLO 2:

2-1 Producción de tabletas para el hogar hechas de kefir - "Tybet kefir"

Composición del cultivo de kefir

granos de kefir

BT001 (Bacterias del ácido láctico - bacterias mesofílicas - Lactococcus)

Lactobacilo acidófilo NCFM

20 Todos los componentes están en forma liofilizada.

Antes de la etapa de compresión, el cultivo de kefir se mezcla con los aditivos de compresión usando, por ejemplo, un mezclador tipo planetario Turbula®

Los aditivos de compresión usados son los siguientes:

25 1% de estearato de magnesio

2% de sodio de croscarmelosa

4% de glicolato de sodio

53% de celulosa microcristalina

40% de cultivo de kefir liofilizado (Tybet kefir).

5 Los porcentajes están por masa con relación a la masa total del polvo.

Esta mezcla entonces se comprime directamente usando una Tablet Press Machina Greatide (Taivan) con una capacidad de 450 tabletas por minuto (presión de compresión 60 MPa, masa de tableta 10 0.5 g, diámetro de tableta: 0.8 centímetros).

Una tableta sin polvo entonces se obtiene (dureza de tableta 5.5 kP) que se desintegra muy rápidamente durante el contacto con un medio acuoso, por consiguiente en menos de 4 minutos; y se disuelve totalmente en menos de 9 minutos. Por otra parte, el cultivo en forma de 15 tableta conserva sus funcionalidades (acidificación, textura, aroma, etc.)

Por "disolver completamente" se entiende que la tableta se desintegra completamente (ausencia visual de agregados) bajo condiciones de una prueba estandarizada. Esta prueba estandarizada 20 consiste en el despliegue de la tableta que se disuelve cuando la tableta se pone en agua a temperatura ambiente (uso de 250 ml de agua, a una temperatura de entre 22°C y 24°C) bajo agitación a 750-800 rpm.

La composición microbiana del cultivo de kefir antes y después de la compresión (tableta) se muestra en la tabla 1. La figura 2 muestra los 25 resultados de la acidificación comparativos para el cultivo de kefir y la

tableta (producida de acuerdo con el método descrito) después de la inoculación de la leche de UHT incubada a 24°C

2-2 Producción de kefir "Tybet kefir" en casa

5 De acuerdo con la invención, la leche que se fermentará se inocula con la tableta. La dosis de uso recomendada para el cultivo de kefir es una tableta (0.5g) para un litro de leche. Cualquier leche, comenzando con leche sin grasa a leche entera puede aplicarse. Por ejemplo, leche de vaca, cabra, oveja y soya pueden utilizarse para la
10 producción de kefir. Se recomienda la leche de UHT o pasteurizada disponible comercial. Sin embargo, la leche cruda debe calentarse hasta alrededor de 80°C y enfriarse inmediatamente en agua corriente a temperatura ambiente antes de que se agregue la tableta. La temperatura de incubación recomendada es la temperatura ambiente – el
15 mejor intervalo es 20 - 25°C.

Dependiendo de la temperatura, el tiempo de fermentación fluctúa de 16 a 24 horas. Cuanto más alta es la temperatura, más corto es el tiempo de fermentación necesario.

La figura 3 abajo muestra los resultados de la acidificación comparativos para diversas temperaturas. El final de la fermentación se
20 puede reconocer por el cuajado visible y cierta liberación de suero.

La fermentación prolongada no tiene ningún impacto negativo (hasta 24 h) debido al hecho de que el efecto de acidificación posterior es muy limitado (figura 2).

25 El kefir se refrigera para detener el proceso de fermentación.

Preparación.

Agregar una tableta directamente a un cartón de 1 litro abierto - de leche de UHT a temperatura ambiente, 2% de grasa, cerrarlo, sacudirlo dos veces por algunos segundos (la segunda sacudida
5 después de 15 minutos de incubación)

Dejarlo a temperatura ambiente (24°C) El tiempo de fermentación para alcanzar un pH 4.55 - 4.6 es de aproximadamente 16 horas.

Refrigerar el kefir para detener el proceso de fermentación

La composición microbiana de kefir un día después de la
10 producción se lista en la tabla 2

Tabla 1 Composición microbiana del cultivo de kefir antes y después de la compresión

Muestra		Lactobacilo acidófilo	Levadura
	cfu/g		
Cultivo de kefir (forma en polvo)	5.4E+10	1.0E+08	8.0E+04
Cultivo de kefir (forma en tableta)	2.0E+10	1.3E+07	4.2E+04

Tabla 2. Composición microbiana de kefir un día después de la producción

Muestra	Bacterias del ácido láctico mesofílico totales	Formación de aroma total	Lactobacilo acidófilo	Levadura	Leuconostoc y/o Lactobacilo heterofermentado mesofílico
Cultivo de kefir (forma en polvo)	3.0E+09	1.8E+09	1.6E+07	1.2E+02	3.0E+06
Cultivo de kefir (forma en tableta)	2.2E+09	1.2E+09	1.4E+07	7.0E+01	2.5E+06

La figura 2 muestra las curvas de acidificación de la leche (UHT, 2% de grasa) por el tipo de cultivo de kefir antes de la compresión (forma en polvo) y después de la compresión (forma de tableta) a temperatura 24°C

5 La figura 3 muestra curvas de acidificación de leche (UHT, 2% de grasa) por el cultivo de kefir en forma de tableta a diversas temperaturas

Algunas modalidades de la presente invención ahora serán ilustradas por párrafos numerados:

10 1 Uso de microorganismos para sembrar un medio caracterizado en que los microorganismos están en la forma de tabletas.

2. Uso de acuerdo con el párrafo 1 caracterizado en que los microorganismos se han sometido a una presión de compresión de a lo sumo 400 MPa, preferiblemente a lo sumo 200 MPa.

15 3. Uso de acuerdo a uno de los párrafos precedentes, caracterizado en que el medio que se sembrará es un medio líquido, gelado, gelatable, espumoso, fermentable o no-fermentable.

4 Uso de acuerdo con uno de los párrafos precedentes, caracterizado en que el medio que se sembrará es un medio alimenticio tal como por ejemplo un medio lácteo, leche, medio basado en jugo de fruta o acuoso.

20 5. Uso de acuerdo con uno de los párrafos precedentes, caracterizado en que los microorganismos son bacterias, por ejemplo bacterias lácticas o bacterias probióticas, levaduras, hongos, moho, 25 algas, o esporas de microorganismos.

6. Uso de acuerdo con uno de los párrafos precedentes, caracterizado en que se implementa en las industrias de alimentos agrícolas, farmacéutica, cosmética, alimentos y de cultivo, así como en los campos de nutrición animal, piensos para animales, detergentes, tratamiento efluente, control de contaminación e higiene en el amplio sentido, en particular higiene diaria, higiene personal (por ejemplo cremas dentales) o higiene industrial.

7. Uso de acuerdo con uno de los párrafos precedentes, caracterizado en que los microorganismos están liofilizados.

8. Uso de acuerdo con uno de los párrafos precedentes, caracterizado en que la siembra es una siembra directa.

Todas las publicaciones mencionadas en la presente especificación son incorporadas adjunto por referencia. Varias modificaciones y variaciones de los métodos y sistema descritos de la invención serán evidentes a los expertos en la técnica sin apartarse del alcance y espíritu de la invención. Aunque la invención se ha descrito en relación con las modalidades preferidas específicas, debe entenderse que la invención como se reivindicó no se debe limitar indebidamente a tales modalidades específicas. De hecho, varias modificaciones de los modos descritos para realizar la invención que son obvias a los expertos en química o campos relacionados, se desea que estén dentro del alcance de las reivindicaciones siguientes.

REIVINDICACIONES

- 1 Un método de sembrar un medio, el método comprende
poner en contacto microorganismos con un medio en donde los
5 microorganismos están en la forma de una tableta
2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado
en que el medio es un medio alimenticio.
3. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 o la
reivindicación 2, caracterizado en que el medio alimenticio es un medio
10 lácteo, leche, basado en jugo de frutas o acuoso
4. Un método de acuerdo con una de las reivindicaciones
precedentes, caracterizado en que los microorganismos se han sometido
a una presión de compresión de a lo sumo 400 Mpa
5. Un método de acuerdo con cualquiera de las
15 reivindicaciones precedentes, caracterizado en que los microorganismos
se han sometido a una presión de compresión de a lo sumo 200 Mpa
6. Un método de acuerdo con una de las reivindicaciones
precedentes, caracterizado en que el medio que se sembrará es un
medio líquido, gelado, gelatable, espumoso, fermentable o no
20 fermentable.
7. Un método de acuerdo con una de las reivindicaciones
precedentes, caracterizado en que los microorganismos son bacterias,
levadura, hongos, moho, algas, o esporas de microorganismos.
8. Un método de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizado
25 en que las bacterias son bacterias lácticas y/o bacterias probióticas.

9 Un método de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado en que se implementa en las industrias de alimentos agrícolas, farmacéutica, cosmética, alimentos y de cultivo, así como en los campos de nutrición animal, piensos para animales, 5 detergentes, tratamiento efluente, control de contaminación e higiene en el amplio sentido, en particular higiene diaria, higiene personal (por ejemplo cremas dentales) o higiene industrial

10. Un método de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado en que los microorganismos se liofilizan.

10 11 Un método de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado en que la siembra es una siembra directa.

12 Un método de producir un producto fermentado, el método comprende:

15 sembrar un medio de acuerdo con un proceso definido en cualquiera de las reivindicaciones precedentes y fermentar el medio.

13. Un método de acuerdo con la reivindicación 12, caracterizado en que el producto fermentado es un producto lácteo fermentado.

20 14. Un método de acuerdo con la reivindicación 12 o la reivindicación 13, caracterizado en que el producto fermentado es un producto fermentado casero

15. Uso de microorganismos para sembrar un medio, en donde los microorganismos están en la forma de una tableta.

25 16. Uso de acuerdo con la reivindicación 15, para la preparación de un producto fermentado.

AA

17. Uso de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el producto fermentado es un producto lácteo fermentado.

18 Uso de acuerdo con la reivindicación 17, en donde el producto lácteo fermentado es Kefir, Koumiss, Dahi, Skyr, Irgo, Itito, Mala o leche acidófila.

19 Uso de acuerdo con la reivindicación 18 en donde el producto lácteo fermentado es Kefir

20 Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 16 a 19 en donde el producto fermentado, se fermenta en casa.

21. Un método de acuerdo con lo sustancialmente descrito anteriormente con referencia a los ejemplos.

22 Un uso de acuerdo con lo sustancialmente descrito anteriormente con referencia a los ejemplos.

RESUMEN

La presente invención proporciona un método de sembrar un medio, el método comprende: poner en contacto microorganismos con un
5 medio, en donde los microorganismos están en la forma de tableta

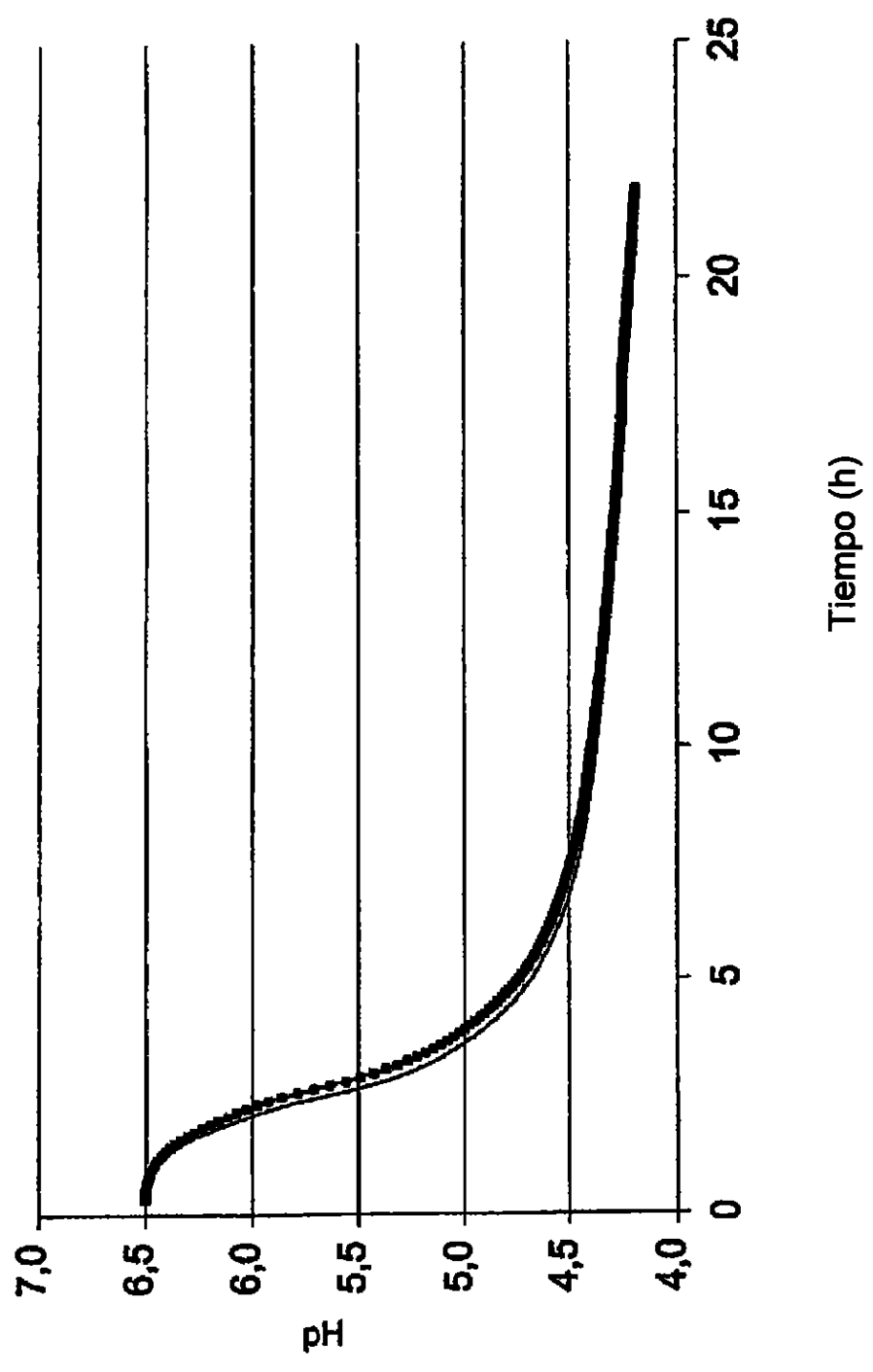


Figura 1

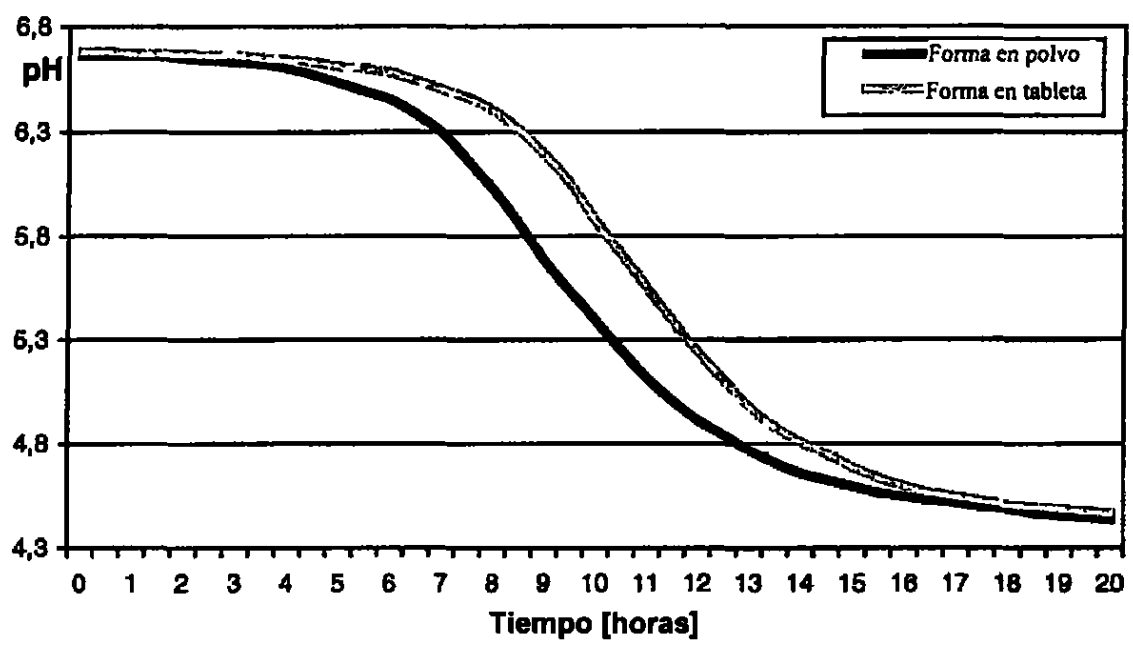


Figura 2

18

3/3

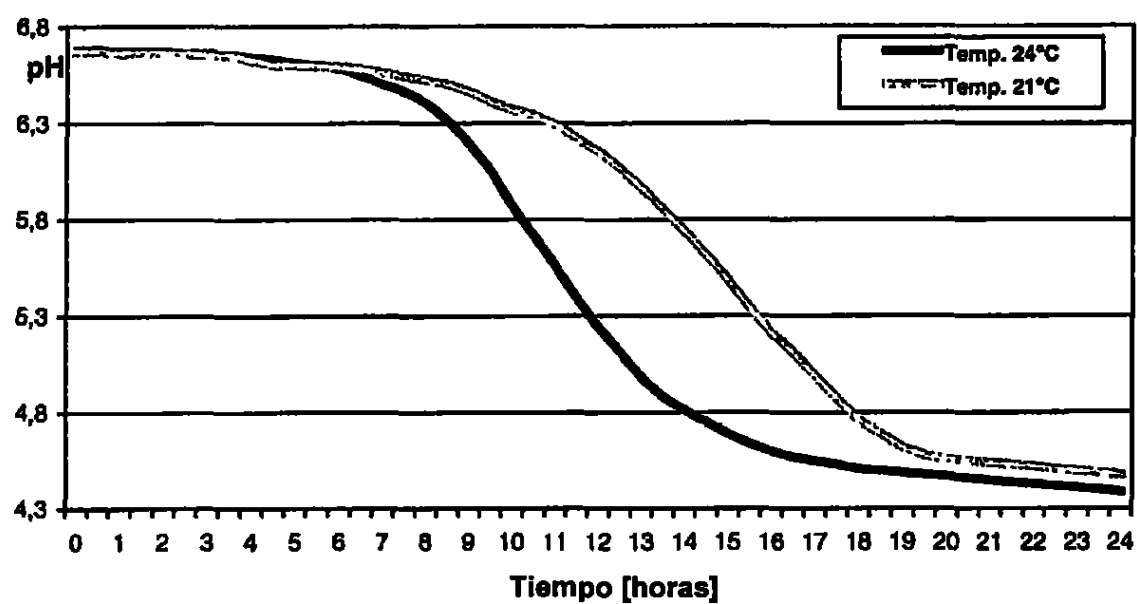


Figura 3

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A23C9/123 A23C19/032 C12N1/20

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12N A23C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
X	US 5 207 899 A (BOYLE GREGORY) 4 May 1993 (1993-05-04) abstract; figures 1-4 column 2, paragraph 1	1-20
X	WO 01/95918 A (DELATTE YVES) 20 December 2001 (2001-12-20) abstract page 2, paragraph 3 page 5, paragraph 5	1-20
X	WO 97/07822 A (DETUM AB ; CEDGAARD LENNART (SE)) 6 March 1997 (1997-03-06) the whole document	1-20
	----- -/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C

☒ Patent family members are listed in annex

* Special categories of cited documents

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

A document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 July 2005

Date of mailing of the international search report

26/08/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P B 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Keller, Y

50

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
X	GB 1 437 655 A (PURE WAY CORP) 3 June 1976 (1976-06-03) page 2, column 2, line 125 - line 130 page 3, column 1, line 5 - line 10 figure 1 -----	1-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

IB2005/001458

51

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5207899	A	04-05-1993	CA 2086700 A1 US 5206168 A	06-07-1994 27-04-1993
WO 0195918	A	20-12-2001	FI 20001402 A AU 6915401 A WO 0195918 A1	14-12-2001 24-12-2001 20-12-2001
WO 9707822	A	06-03-1997	SE 513815 C2 AT 213957 T AU 705507 B2 AU 6893196 A BR 9610015 A CA 2230238 A1 CN 1200038 A ,C DE 69619681 D1 DE 69619681 T2 DK 845999 T3 EP 0845999 A1 ES 2171713 T3 JP 11511458 T NO 980777 A PL 325061 A1 RU 2155070 C2 SE 9502941 A WO 9707822 A1 US 2003157164 A1	06-11-2000 15-03-2002 27-05-1999 19-03-1997 06-07-1999 06-03-1997 25-11-1998 11-04-2002 17-10-2002 27-05-2002 10-06-1998 16-09-2002 05-10-1999 24-02-1998 06-07-1998 27-08-2000 26-02-1997 06-03-1997 21-08-2003
GB 1437655	A	03-06-1976	NONE	

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCTd3	
(21) N° de solicitud		(51) Int Cl: A23C 009/123	
22) Fecha de solicitud		(71) Solicitante(s) DANISCO A/S	
(30) Pnrioridad	(31) No. Prioridad 0404508	(32) Fecha 28/04/2004	(33) País FR
		(72) Inventor(es) JEAN-PHILIPPE OBERT PIOTR KOLAKOWSKI	
		(74) Apoderado. EMILIO FERRERO	
(85)	Fecha limite inicio fase nacional. 28/11/2006	(87) Publicación internacional	
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT	Fecha 10/11/2005	
	Fecha de presentación de la solicitud 27/04/2005	N° publicación WO 2005/104861 A1	
	No de solicitud PCT/IB2005/001458		
(54) Título. PROCESO PARA SEMBRAR UN MEDIO CON MICROORGANISMOS EN FORMA DE TABLETA			

REIVINDICACIONES

los microorganismos se ha sometido a una presión de compresión de a lo sumo 200 Mpa

- 1 Un método de sembrar un medio, el método comprende.

 Poner en contacto microorganismos con un medio en donde los microorganismos están en la forma de una tableta.
- 2 Un método de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado en que el medio es un medio alimenticio
- 3 Un método de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, caracterizado en que el medio alimenticio es un medio lácteo, leche, basado en jugo de frutas o acuoso
4. Un método de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado en que los microorganismos se ha sometido a una presión de compresión de a lo sumo 400 Mpa.
- 5 Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado en que

6. Un método de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado en que el medio que se sembrará es un medio líquido, gelado, gelatable, espumoso, fermentable o no fermentable
- 7 Un método de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado en que los microorganismos son bacterias, levadura, hongos, moho, algas, o esporas de microorganismos

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-109239- -00000-0000
Fec: 2006-10-26 17:41:42 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra 11 PATENTEIVII
Evo: 378 FABENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios: 53

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 75,960
FECHA : OCTUBRE 3 DE 2006

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
PAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	59883895	03/10/2006	20,617.000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	1
		TRANITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	463,000.00
		TOTAL :	\$ 463,000.00

SON: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Colo 15607-841-001-6

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION

☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de 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 ☒

COMPLETA ☒

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de 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 ☐

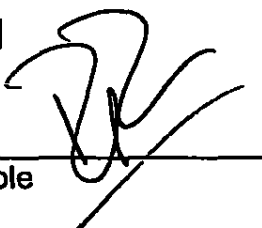
INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

Firma Responsable 

Fecha _____

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

55

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
FERRERO EMILIO

REFERENCIA	Radicación No.	6 109239
	Solicitud internacional	PCT/IB2005/001458
	Fecha inicio fase nacional	28/11/2006
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	13927

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 la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.

2. 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.

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 e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

ALIX CARMENZA GONZALEZ DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 01 Dic. 2006
adpa11