



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA



CSA229988

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones



Organización CSA Ltda

SOLICITUD

PCT

PATENTE DE INVENCION

08-24622

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO

FACTOR DE APETENCIA FERMENTADO Y DESPROVISTO DE PROTEINAS

ANIMALES PARA ANIMALES

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

SPECIALITES PET FOOD

DOMICILIO

PARIS, FRANCIA

74. APODERADO

EMILIO FERRERO

C.C. 438.819 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D. C.,

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-024622- -00000-0000

Fecha: 2008-03-07 16:52:24 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONAL
Act. 411 PRESENTACION Folios: 71**FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT****ENTRADA EN FASE NACIONAL** 9 Mayo 2008**SOLICITUD DE:**

1

☒ Patente de Invención.☐ Patente de Modelo de Utilidad.☒ Capítulo I.☐ Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**Nombre: **SPECIALITES PET FOOD**
sociedad constituida y existente bajo las
leyes de FranciaDirección: 6 Place de la Madeleine,
75008 Paris,
FranciaDomicilio: Paris,
Francia**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@cavelier.com
Domicilio: Bogotá, Colombia.**IDENTIFICACIÓN**

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 438.019 T.P 31.929

4

**INVENTOR (ES)
(72)**1. **Aurélie DE RATULD**
43 rue du Sergent Jouannot
56880 Ploeren,
Francia3. **Isabelle GUILLER**
34 rue de Belle Croix,
56370 Le Tour du Parc,
Francia2. **Rémi THIRIOT**
Les Castillez,
56460 Lizio,
Francia

5

PCT (86)Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/064474Fecha: 20 de julio de 2006Publicación Internacional No. WO 2007/017356 A1Fecha: 15 de febrero de 2007

6

Título (54)**FACTOR DE APETENCIA FERMENTADO Y DESPROVISTO DE PROTEINAS
ANIMALES PARA ANIMALES**

7

Clasificación Internacional (51) A23K 001/000

8

PrioridadSI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

FR

(32) Fecha

9 de agosto de 2005

(31) Número de Solicitud

0508451

9

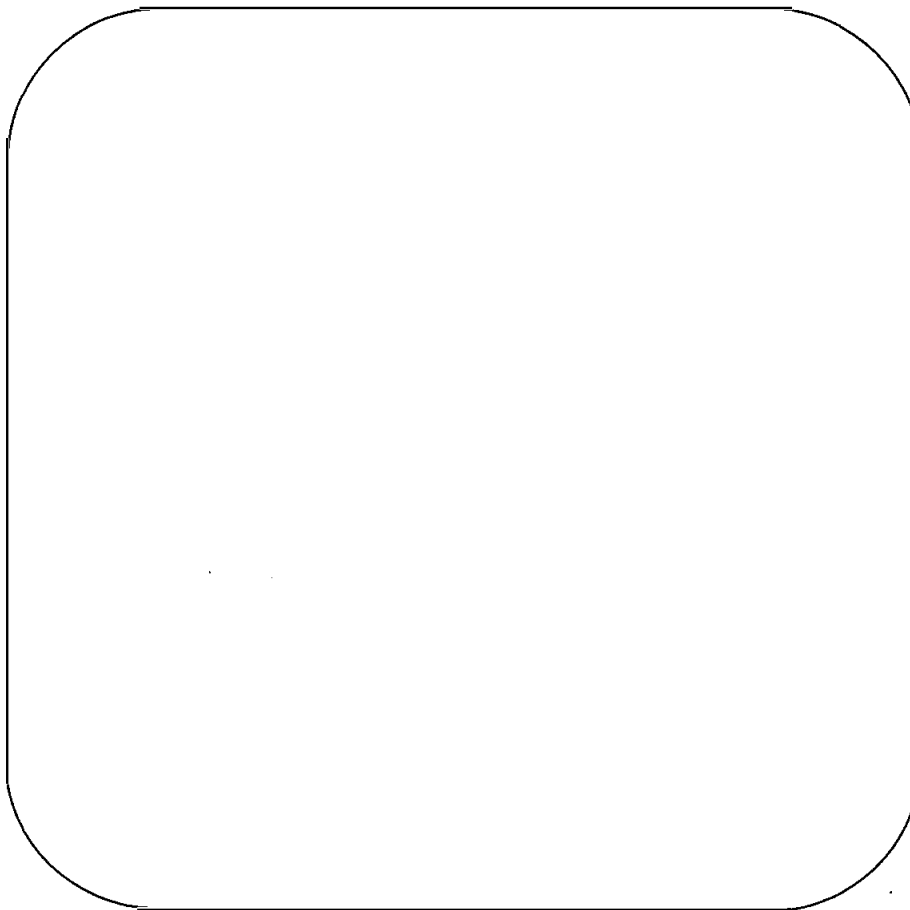
Comprobante de pago No.: 08-16. 551**Fecha:** 25 de febrero de 2008

10

Anexos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 501.000.00.
- ☐ 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 2007/017356 A1

Descripción:

Páginas 24 en el idioma original

Páginas 17 en español

Reivindicaciones: Número (s) 26

Figuras: Número (s) 5

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

3. ☒ Extracto de publicación.

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

(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
15 février 2007 (15.02.2007)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2007/017356 A1

(51) Classification internationale des brevets :
A23K 1/00 (2006.01) A23K 1/18 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/BP2006/064474

(22) Date de dépôt international : 20 juillet 2006 (20.07.2006)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0508451 9 août 2005 (09.08.2005) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :
SPECIALITES PET FOOD [FR/FR]; 6, Place de la
Madeleine, F-75008 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : DE RAT-
ULD, Aurélie [FR/FR]; 43, rue du Sergent Jouannot,
F-56880 Ploeren (FR). THIRIOT, Rémi [FR/FR]; Les
Castillez, F-56460 Lizio (FR). GUILLER, Isabelle
[FR/FR]; 34, rue de Belle Croix, F-56370 Le Tour du Parc
(FR).

(74) Mandataire : SCHRIMPF, WARCOIN, AHNER, TEX-
IER, LE FORESTIER, CALLON DE LAMARCK,
COLLIN, TETAZ-Cabinet Regimbeau; 20, rue de
Chazelles, F-75847 Paris Cedex 17 (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : 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, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU,
LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG,
NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, 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, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LI, LU, LV, 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).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: FERMENTED APPETENCE FACTORS WITHOUT ANIMAL PROTEINS FOR ANIMALS

(54) Titre : FACTEUR D'APPETENCE FERMENTÉ ET DEPOURVU DE PROTEINES ANIMALES POUR ANIMAUX

(57) Abstract: The invention relates to appetite factors for animal feeding. More specifically, the invention relates to an appetite factor for animal feeding, obtained by fermentation with the aid of a yeast and which comprises at least one, in the absence of protein constituents of animal origin: a humidity (H) ranging from approximately 80 to 96 % by weight; a protein fraction (FP) ranging from approximately 1.5 to 10.0 % by weight; fat (MG) up to approximately 10 %; sugars (S) ranging from approximately 0.20 to 2.0 % by weight, and ashes (C) ranging from approximately 0.3 to 8.0 % by weight.

(57) Abrégé: La présente invention se rapporte au domaine des facteurs d'appétence pour l'alimentation animale. Plus précisément, la présente invention concerne un facteur d'appétence pour l'alimentation animale, obtenu par fermentation à l'aide d'une levure et qui comprend au moins, en l'absence de constituants protéiques d'origine animale : - humidité (H) : de 80 à 96% en poids environ ; - fraction protéique (FP) : de 1,5 à 10,0% en poids environ ; - matières grasses (MG) : jusqu'à 10% en poids environ ; - sucres (S) : de 0,20 à 2,0% en poids environ ; - cendres (C) : de 0,3 à 8,0% en poids environ.

WO 2007/017356 A1

FACTEUR D'APPETENCE FERMENTE ET DEPOURVU DE PROTEINES ANIMALES POUR ANIMAUX

La présente invention se rapporte au domaine des facteurs
5 d'appétence pour l'alimentation animale.

Plus précisément, la présente invention concerne un facteur
d'appétence pour l'alimentation animale, obtenu par fermentation à l'aide
d'une levure et qui comprend au moins, en l'absence de constituants
protéiques d'origine animale :

- 10 - humidité (H) : de 80 à 96% en poids environ ;
- fraction protéique (FP) : de 1,5 à 10,0% en poids environ ;
- matières grasses (MG) : jusqu'à 10% en poids environ ;
- sucres (S) : de 0,20 à 2,0% en poids environ ;
- cendres (C) : de 0,3 à 8,0% en poids environ.

15 On recherche, à travers l'alimentation donnée aux animaux,
notamment aux animaux de compagnie, à favoriser et préserver leur santé,
leur bien-être et leur équilibre. Toutefois, même les aliments les plus
bénéfiques d'un point de vue nutritionnel sont sans intérêt si l'animal les
rejette ou refuse de les manger, ou encore si les rations prises par l'animal
20 restent faibles parce que la nourriture n'est pas suffisamment à son goût.

Aussi, afin de faciliter la prise de nourriture par les animaux, et plus
particulièrement par les animaux domestiques tels que les chiens et les
chats qui se révèlent bien souvent difficiles, on a très tôt cherché à
améliorer l'appétence des aliments, tout en préservant leurs qualités
25 nutritionnelles.

Typiquement, la viande et le poisson représentent les principales
sources de protéines dans la plupart des aliments pour animaux. En effet, la
nature et la quantité des acides aminés apportés par les dérivés animaux
(viande, os, poisson) confèrent aux aliments les qualités nutritionnelles
30 attendues. En outre, ces dérivés ont pour effet d'augmenter l'appétence des
aliments qui les contiennent.

Toutefois, la présence de constituants d'origine animale dans les aliments augmente de manière considérable leur coût de revient.

C'est pourquoi, les recherches se sont très vite orientées vers la mise au point d'aliments et ingrédients alimentaires nutritionnellement équilibrés, aussi appétissants que les aliments et ingrédients traditionnels à base de matière animale (par exemple, à base de foie), mais de préparation moins coûteuse. En effet, l'industrie de l'alimentation animale a très vite mesuré l'intérêt de trouver des sources de protéines stables, nutritionnellement satisfaisantes et, surtout, économiques, afin de les substituer à la viande ou au poisson lors de la préparation d'aliments et ingrédients alimentaires pour animaux.

Dans ce contexte, le brevet américain US 4 039 687 (au nom de Weyn) propose de substituer tout ou partie des protéines animales présentes dans les aliments par des protéines synthétiques obtenues par fermentation de microorganismes, e.g., de bactéries ou de levures. Les aliments ainsi obtenus présentent des propriétés d'appétence satisfaisantes et peuvent être fabriqués à moindre coût par rapport à des aliments à base de protéines naturelles d'origine animale ou végétale. En pratique, on incorpore aux aliments, en tant que source de protéines, la biomasse obtenue après fermentation des microorganismes sur des hydrocarbures.

Le brevet US 4 800 093 (au nom de Hogan et al.) décrit un produit alimentaire pour animaux à taux d'humidité élevé, dans lequel une proportion de la matière première carnée est remplacée par la biomasse obtenue après fermentation de champignons filamenteux sur des substrats bon marché tels que le petit-lait de soja.

La demande de brevet britannique GB 2 385 767 (au nom de Norferm DA) s'est intéressée aux cultures de bactéries méthanotrophes comme facteurs d'appétence. La biomasse utilisée est obtenue par fermentation d'une bactérie du type *Methylococcus capsulatus* sur des hydrocarbures ou du gaz naturel.

Ainsi, d'après l'état de la technique, il est possible de substituer aux protéines animales, sans préjudice pour l'appétence et les qualités nutritionnelles des aliments préparés, des protéines synthétisées par des microorganismes, que l'on ajoute aux aliments sous la forme d'une
5 biomasse obtenue après fermentation.

Toutefois, l'ajout dans l'alimentation animale d'une biomasse comme facteur d'appétence n'est pas sans inconvénients, notamment parce qu'un tel ingrédient impose nécessairement que soient mises en œuvre (i) une
10 étape d'inactivation efficace de la biomasse, afin de prévenir toute modification intempestive des propriétés organoleptiques de l'aliment auquel il sera ajouté (due, par exemple, à une fermentation ou à une croissance indésirable des microorganismes); et (ii) une étape de séparation afin d'éliminer le milieu de fermentation. De plus, un tel ingrédient a bien souvent tendance à modifier l'aspect (e.g., la couleur) des
15 aliments obtenus.

Il existe donc un besoin pour des facteurs d'appétence pour animaux, qui soient à la fois: (i) équilibrés quant aux apports nutritionnels et caloriques; (ii) au moins aussi efficaces que les facteurs conventionnels à base de dérivés animaux; (iii) faciles à préparer, à partir de matières
20 premières aisément accessibles et économiques; (iv) stables dans le temps; et (v) aussi neutres que possible au niveau de leurs propriétés physiques (couleur, viscosité, etc...), afin d'une part, de ne pas modifier l'aspect et la texture des aliments auxquels ils sont ajoutés et, d'autre part, de ne pas poser de difficultés d'utilisation particulières (par exemple, en cas
25 de pulvérisation sur les aliments).

Dans le cadre de la présente invention, la Demanderesse propose un facteur d'appétence pour animaux qui permet de combler, de manière aussi satisfaisante que surprenante, le besoin existant dans le domaine. Comme l'illustrent la description détaillée et les exemples ci-dessous, (1) le facteur
30 d'appétence selon l'invention est nutritionnellement équilibré; (2) il s'agit d'un produit végétarien et hypoallergénique; (3) il est plus efficace que les

8

facteurs d'appétence traditionnels à base de protéines d'origine animale ;
(4) il est obtenu aisément par fermentation de microorganismes, de
préférence de levures ; (5) de manière surprenante, on utilise le milieu de
fermentation lui-même en tant que facteur d'appétence, ce qui permet de
5 s'affranchir d'une des étapes requises pour produire les facteurs
d'appétence de l'état de la technique à base de biomasse car, selon
l'invention, soit l'on utilise le milieu de fermentation seul – il suffit alors
d'éliminer la biomasse et l'étape d'inactivation devient inutile -, soit l'on
utilise le milieu de fermentation en présence de la biomasse – il convient
10 alors simplement d'inactiver efficacement la biomasse ; (6) ses propriétés
physiques sont globalement neutres : c'est un liquide aqueux, de couleur
claire, qui se fond facilement dans une masse ; (7) il est facile à utiliser,
notamment par application, pulvérisation, incorporation, imprégnation.

Au sens de l'invention, un « facteur d'appétence » (ou, de manière
15 équivalente, un « agent d'appétence », un facteur « appétent » ou
« appétissant ») pour animaux est un facteur dont les propriétés
organoleptiques (parfum, goût, aspect, texture, etc.) sont telles qu'un animal
va éprouver le désir de l'absorber. Dans le cadre de la présente invention,
un facteur d'appétence est le plus souvent un ingrédient alimentaire (ou
20 additif) que l'on ajoutera à l'alimentation animale. Mais, par extension, ce
peut également être un aliment, voire une boisson, contenant un tel
ingrédient.

Ainsi, un premier aspect de la présente invention concerne un facteur
d'appétence fermenté destiné à être ajouté à l'alimentation animale,
25 caractérisé en ce qu'il comprend le milieu de fermentation obtenu après
culture d'au moins une levure, ledit milieu de fermentation contenant au
moins :

- humidité (H) : de 80 à 96% en poids environ ;
- fraction protéique (FP) : de 1,5 à 10,0% en poids environ ;
- 30 - matières grasses (MG) : jusqu'à 10% en poids environ ;
- sucres (S) : de 0,20 à 2,0% en poids environ ; et

a

- cendres (C) : de 0,3 à 8,0% en poids environ,
où ladite fraction protéique FP est dépourvue de constituants d'origine animale.

Par exemple, des facteurs d'appétence particuliers comprendront au moins, en l'absence de constituants protéiques d'origine animale :

- humidité (H) : de 85 à 96 % en poids environ ;
- fraction protéique (FP) : de 1,5 à 10,0% en poids environ ;
- matières grasses (MG) : jusqu'à 1% en poids environ ;
- sucres (S) : de 0,20 à 2,0% en poids environ ; et
- 10 - cendres (C) : de 0,3 à 8,0% en poids environ ;

ou

- humidité (H) : de 90 à 96 % en poids environ ;
- fraction protéique (FP) : de 2,5 à 10,0% en poids environ ;
- matières grasses (MG) : jusqu'à 5% en poids environ ;
- 15 - sucres (S) : de 0,30 à 0,75% en poids environ ; et
- cendres (C) : de 0,5 à 0,7% en poids environ ;

ou encore

- humidité (H) : de 90 à 96 % en poids environ ;
- fraction protéique (FP) : de 2,5 à 10,0% en poids environ ;
- 20 - matières grasses (MG) : jusqu'à 1% en poids environ ;
- sucres (S) : de 0,30 à 0,75% en poids environ ; et
- cendres (C) : de 0,5 à 0,7% en poids environ.

Le terme « cendres » désigne ici la matière minérale après calcination du produit.

- 25 Par « matières grasses », on entend ici n'importe quel type de matières grasses adapté à l'alimentation animale et susceptible d'être métabolisé (c'est-à-dire, susceptible d'être consommé ou produit) par le microorganisme responsable de la fermentation à l'origine du facteur d'appétence. Il peut s'agir de matières grasses d'origine animale ou
- 30 végétale ou d'une combinaison de celles-ci. L'homme du métier saura quel(s) type(s) de matières grasses utiliser en fonction de ses

connaissances générales et des applications du facteur d'appétence envisagées.

Les « constituants de la fraction protéique FP » peuvent être des protéines, des peptides, des acides aminés, et des combinaisons de ceux-ci. Les termes « protéines » et « peptides » pourront parfois être utilisés indifféremment dans ce qui suit, étant entendu que l'homme du métier est capable de déterminer le sens exact à donner à l'un ou l'autre de ces termes d'après le contexte et à la lumière de ses connaissances générales. En outre, les expressions « constituants protéiques » et « constituants de la fraction protéique FP » sont ici équivalentes.

Selon un mode de réalisation, la fraction protéique FP comprend au moins 90% en poids environ d'un ou plusieurs acides aminés choisis parmi l'alanine, la thréonine, la lysine et les acides aminés soufrés. En particulier, la fraction protéique FP comprend au moins 95%, de préférence au moins 98%, de préférence encore au moins 99% en poids environ du ou desdits acides aminés.

De préférence, ce ou ces acides aminés sont choisis parmi les acides aminés soufrés, tels que la méthionine et la cystéine. On préférera utiliser la méthionine.

Selon un autre mode de réalisation, un facteur d'appétence conforme à l'invention présente un pH allant de 1,6 à 3,5 environ, étant entendu qu'un pH allant de 2,6 à 3,2 environ est préféré.

Un facteur d'appétence selon l'invention est « fermenté », c'est-à-dire qu'il est obtenu par fermentation à l'aide d'au moins un microorganisme, qui est, dans le cadre de l'invention, une levure. De préférence, la levure est choisie parmi *Yarrowia* sp., *Saccharomyces* sp., *Candida* sp., *Kluyveromyces* sp., *Pichia* sp., *Debaryomyces* sp., *Zygosaccharomyces* sp. De préférence encore, la levure est choisie parmi *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida versatilis*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Pichia pastoris*, *Debaryomyces hansenii*,

Zygosaccharomyces rouxii. De manière préférée entre toutes, on utilise la levure *Yarrowia lipolytica*.

Comme indiqué ci-dessus, un facteur d'appétence conforme à l'invention comprend le milieu de fermentation obtenu après culture de ladite levure. Eventuellement, le milieu de fermentation est utilisé comme agent d'appétence après avoir été débarrassé de la biomasse.

Selon encore un autre mode de réalisation, le facteur d'appétence se présente sous une forme liquide prête à l'emploi. Alternativement, il peut servir de produit intermédiaire dans la préparation d'un facteur d'appétence fermenté concentré. Dans ce cas, le facteur d'appétence concentré, à taux d'humidité réduit, peut se présenter sous une forme liquide ou sous une forme déshydratée. Par « concentré », l'on entend désigner un facteur d'appétence qui est obtenu par concentration d'un facteur d'appétence présentant les teneurs en H, FP, MG, S et C décrites supra. Il est bien évident que le facteur d'appétence concentré présente, du fait même de la concentration, des teneurs en FP, MG, S et C supérieures à celles spécifiées ci-dessus, tout en ayant un taux d'humidité plus faible.

Selon un mode de réalisation, on applique un facteur d'appétence de l'invention à l'alimentation animale. Alternativement, le facteur d'appétence est incorporé dans l'alimentation animale. De manière générale, on parle ici d'« ajout » ou d'« utilisation » d'un facteur d'appétence. Par « ajouter » ou « utiliser » un facteur d'appétence, on englobe la notion d'« appliquer le facteur à », c'est-à-dire l'ajouter en surface, par exemple par pulvérisation ou enrobage, et la notion d'« incorporer le facteur dans », c'est-à-dire l'ajouter dans la masse, par exemple par imprégnation ou mélange.

Par « alimentation animale », on désigne ici un ou plusieurs aliments pour animaux. Il peut s'agir de matières solides (e.g., croquettes), liquides (e.g., bouillons, boissons), ou de produits intermédiaires plus ou moins humides (e.g., soupes, bouillies, boulettes, pâtes, etc.). En fonction du contexte, il pourra également s'agir d'une ration alimentaire ou d'un repas, faisant alors référence à l'ensemble des aliments (sans les différencier) pris

au cours d'un repas, voire sur une période de temps telle qu'une journée, ou plus.

Les termes « pour animaux » ou « animal, -e, -aux, -alés » doivent être pris dans leur sens le plus large, comme visant des animaux de tous les types. De préférence, les facteurs d'appétence selon l'invention, ou l'alimentation animale à laquelle ils sont ajoutés, sont destinés aux animaux de compagnie tels que les chiens et les chats, avec une préférence toute particulière pour les chiens. Toutefois, l'objet de l'invention s'adresse à n'importe quel animal susceptible d'être domestiqué ou apprivoisé ou élevé, par exemple, des oiseaux, des lapins, des rongeurs, des poissons, etc. Il peut également s'agir d'animaux d'élevage tels que les cochons, les volailles, le bétail, les poissons, les crustacés, etc.

Selon un autre mode de réalisation, on utilise un facteur d'appétence conforme à la présente invention en association avec un ou plusieurs autres facteurs d'appétence tels que des facteurs d'appétence d'origine animale et/ou végétale.

Selon encore un autre mode de réalisation, on utilise le facteur d'appétence objet de l'invention à raison de 1 à 10% en poids environ, de préférence à raison de 2 à 4 % en poids environ.

Un deuxième aspect de la présente invention vise un facteur d'appétence fermenté concentré susceptible d'être obtenu par concentration et/ou déshydratation d'au moins un facteur d'appétence tel que décrit supra.

Selon un troisième aspect, la présente invention concerne une composition de facteurs d'appétence destinée à être ajoutée à l'alimentation animale, comprenant au moins un facteur d'appétence comme mentionné ci-dessus. Une telle composition peut ne comprendre que des facteurs d'appétence selon la présente invention, ou bien comprendre également un ou plusieurs facteurs d'appétence d'origine animale et/ou végétale.

Dans un quatrième aspect, la présente invention a trait à un procédé de préparation d'un facteur d'appétence conforme à la description qui précède, ledit procédé comprenant au moins les étapes suivantes :

13

- a) préculture d'au moins une levure telle que décrite ci-dessus dans un milieu de croissance standard, à une température allant de 22°C à 32°C environ, pendant 6 à 25 heures environ ;
- b) ensemencement d'un milieu de fermentation contenant un ou plusieurs acides aminés, à l'aide de ladite préculture à un taux d'au moins 1.10^5 cellules/ml environ ;
- c) culture du milieu de fermentation ensemencé pendant 12 à 72 heures environ, à une température allant de 20°C à 32°C environ ;
- d) arrêt de la fermentation ; et
- 10 e) récupération du milieu de fermentation final, utile comme facteur d'appétence.

Selon des modes de réalisation particuliers, dont il est éventuellement possible de combiner une ou plusieurs caractéristiques :

- l'étape de préculture a) est réalisée à une température de 30°C environ ;
- 15 - l'étape de préculture a) est maintenue pendant 8 à 16 heures environ ;
- l'étape de culture c) est maintenue pendant 12 à 60 heures environ, ou pendant 12 à 55 heures environ, ou encore pendant 20 à 72 heures environ, ou bien encore pendant 30 à 50 heures environ ;
- l'étape de culture c) est réalisée à une température allant de 28°C à 30°C
- 20 environ.

En particulier, la préculture sera maintenue jusqu'à la fin de la phase exponentielle de croissance de la levure.

De manière avantageuse, le milieu de croissance standard utilisé pour la préculture comprend des extraits de levure, de malt et des sucres tels que le glucose. Il peut comprendre en outre de la peptone et/ou des oligoéléments. Par exemple, ce milieu peut être un milieu Yeast Malt (YM) connu de l'homme du métier.

25

Selon un mode de réalisation, le milieu de fermentation utilisé à l'étape b) comprend environ 2 à 10% en poids, de préférence environ 3 à 5% en poids, d'un ou plusieurs acides aminés. Ces acides aminés sont, de manière préférée, des acides aminés aptes à être métabolisés par la levure.

30

Alternativement, parmi les acides aminés présents dans le milieu de fermentation, il peut y avoir des acides aminés aptes à être métabolisés par la levure et des acides aminés non métabolisés, apportés en tant que suppléments. Le cas échéant, ces acides aminés supplémentaires peuvent
5 avoir un effet positif sur l'appétence du facteur obtenu, par exemple en améliorant ses propriétés organoleptiques. Les proportions des différents acides aminés peuvent varier, avec une préférence pour une prépondérance d'acides aminés aptes à être métabolisés. Ceux-ci sont notamment choisis parmi l'alanine, la thréonine, la lysine et les acides
10 aminés soufrés. De préférence, ce ou ces acides aminés sont choisis parmi les acides aminés soufrés, tels que la méthionine et la cystéine. On préférera utiliser la méthionine.

Selon un autre mode de réalisation, le milieu de fermentation utilisé à l'étape b) comprend en outre jusqu'à 10% en poids environ, de préférence
15 entre 5 et 10% en poids environ, de matières grasses.

Selon encore un autre mode de réalisation, le milieu de fermentation utilisé à l'étape b) comprend en outre des extraits de levure et de malt.

Selon des modes de réalisation préférés, l'ensemencement du milieu de fermentation à l'aide de la préculture (étape b) est effectué à un taux au
20 moins égal à, par ordre croissant de préférence, $5 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^6$, $4 \cdot 10^6$, $6 \cdot 10^6$ cellules/ml environ, c'est-à-dire de manière à atteindre une population cellulaire en début de culture d'au moins $5 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^6$, $4 \cdot 10^6$, $6 \cdot 10^6$ cellules/ml environ dans le milieu de fermentation.

Selon un mode de réalisation, le pH du milieu de fermentation est
25 ajusté au début de l'étape c) à une valeur allant de 4,5 à 6,5 environ, de préférence de 5,4 à 5,8 environ.

Selon encore un autre mode de réalisation, la préculture de l'étape a) est réalisée dans des conditions d'aération allant de 0,5 à 1,5 vvm environ ;
et/ou la culture de l'étape c) est réalisée dans des conditions d'aération
30 allant de 0,02 à 0,40 vvm environ.

(15)

Selon encore un autre mode de réalisation, la préculture de l'étape a) et/ou ladite culture de l'étape c) est(sont) maintenue(s) sous agitation.

Selon le procédé objet de l'invention, le facteur d'appétence étant constitué par le milieu de fermentation final, on pourra choisir de se débarrasser de la biomasse ; ou de garder le milieu de fermentation final comprenant la biomasse, que l'on veillera alors à inactiver. Ainsi, avant l'étape e), le milieu de fermentation peut être débarrassé de la biomasse, de préférence par une technique de séparation choisie parmi la filtration, la décantation, la centrifugation. Alternativement, les étapes d) à e), y compris l'étape d'élimination de la biomasse, pourront être réalisées simultanément, de préférence par filtration stérilisante. Ou bien, si la biomasse n'est pas éliminée, l'étape d) pourra par exemple être réalisée par inactivation thermique des levures.

Un cinquième aspect de la présente invention concerne un procédé d'amélioration de l'appétence de l'alimentation animale, qui comprend l'ajout à l'alimentation animale d'au moins un facteur d'appétence ou d'au moins une composition comme décrit plus haut.

En particulier, le facteur d'appétence ou la composition est ajouté(e) à l'alimentation animale seul(e) ou en combinaison avec un ou plusieurs autres facteurs d'appétence, tels que des facteurs d'appétence d'origine animale et/ou végétale.

De préférence, on utilise le facteur d'appétence ou la composition objet de l'invention à raison de 1 à 10% en poids environ, de préférence à raison de 2 à 4 % en poids environ.

Selon un sixième aspect, la présente invention vise l'utilisation d'au moins une levure pour préparer un facteur d'appétence comme susmentionné. De préférence, la levure est choisie parmi *Yarrowia* sp., *Saccharomyces* sp., *Candida* sp., *Kluyveromyces* sp., *Pichia* sp., *Debaryomyces* sp., *Zygosaccharomyces* sp. De préférence encore, la levure est choisie parmi *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida versatilis*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Pichia*

16

pastoris, *Debaryomyces harsenii*, *Zygosaccharomyces rouxii*. De manière préférée entre toutes, on utilise la levure *Yarrowia lipolytica*.

Selon un septième aspect, l'invention a pour objet l'utilisation d'un facteur d'appétence ou d'une composition conforme à l'invention, pour
5 améliorer l'appétence de l'alimentation animale.

La présente invention divulgue également un aliment pour animaux comprenant au moins un facteur d'appétence ou au moins une composition comme décrit supra. En particulier, le facteur d'appétence ou la composition est appliqué(e) à et/ou incorporé(e) audit aliment, de préférence à raison de
10 1 à 10% en poids environ, de préférence encore à raison de 2 à 4 % en poids environ.

Les figures suivantes sont destinées à illustrer sans limiter la présente invention :

- figure 1 : schéma d'un exemple de procédé général de préparation
15 d'un facteur d'appétence selon l'invention ;
- figure 2 : schéma d'un exemple de procédé de préparation d'un facteur d'appétence selon l'invention, en laboratoire (exemples 1 à 4) ;
- figure 3 : schéma d'un exemple de procédé de préparation d'un
20 facteur d'appétence selon l'invention, applicable à l'échelle industrielle (exemple 5) ;
- figure 4 : schéma d'un exemple de procédé de concentration d'un facteur d'appétence selon l'invention (exemple 7) ;
- figure 5 : résultats d'un test d'appétence d'un facteur selon l'invention
25 incorporé dans des aliments pour crevette (exemple 11). A : répartition des paniers dans le bassin ; B : résultats du test d'appétence.

Les exemples ci-dessous, donnés à titre purement indicatif, sont destinés à illustrer des modes de réalisation et avantages de la présente
30 invention.

17

EXEMPLES

I- Exemples de facteurs d'appétence préparés à l'échelle du laboratoire

- 5 Un procédé général de préparation est schématisé sur la Fig.2.

I-1- Exemple 1 : utilisation de la levure Yarrowia lipolytica et fermentation en présence de méthionine

- 10 La première étape était la préculture de *Yarrowia lipolytica* en erlenmeyers contenant 100 ml de milieu stérile de composition suivante : 0,25 gr d'extrait de malt (Muntions-UK), 0,2 gr d'extrait de levure (Biospringer – France), et 1,5 gr de glucose (Merck – Allemagne), qsp 100ml en eau déminéralisée. L'inoculation a été effectuée sous hotte stérile à partir de cryotubes de 1,8
- 15 ml, conservés à -80°C et issus de cultures sur milieu standard YM additionné de 50% de glycérol teneur 30%. La population théorique des cryotubes était de $6,5 \cdot 10^7$ cellules/ml. Le pH a été ajusté en début de culture à 5,6 avec de l'acide chlorhydrique (Merck), les erlens placés sur table d'agitation Novotron (INFORS, Bottmingen, Suisse) à 30°C et à 140
- 20 tr/min. La préculture a été arrêtée après 16h d'incubation. En parallèle, on a préparé l'étape de fermentation principale. Pour cela, un fermenteur à cuve de verre 5L (Prélude- GUERIN SA- France) contenant 28 gr d'extrait de malt (Muntions- UK), 12 gr d'extrait de levure Biospringer – France), 3,4 gr d' H_3PO_4 75% (Brenntag- France), 150 gr de Methionine (Adisseo – France),
- 25 5 ml d'antimousse (Struktol SB2020) et qsp 5 L d'eau déminéralisée, a été autoclavé à 121°C-15 min. En sortie d'autoclave, le fermenteur a été équipé d'un condenseur de sortie de gaz avec circuit d'eau glycolée à 2°C, et le milieu ramené à 30°C. L'aération a été fixée à 0,1 l/min grâce au débitmètre massique sur l'alimentation du sparger de fond de cuve. L'agitation était de
- 30 500 tr/min, et la régulation de température fixée à 30°C. Le fermenteur a été inoculé stérilement avec la préculture (250 ml) de sorte que le population en

début de fermentation était d'au moins 1.10^5 cellules/ml. La fermentation a été conduite pendant 48h. Le fermenteur a été fermé hermétiquement avant d'être placé dans l'autoclave pour une inactivation à 110°C-10 min. Après refroidissement, le milieu de fermentation a été sorti du fermenteur. 30 gr de sorbate de potassium 50% (Nutrinova – Allemagne) puis 47 gr d'acide phosphorique à 75% y ont été ajoutés sous agitation. La composition finale du produit était la suivante : Humidité : 94,3%, Protéines (Nx6,25) Kjeldhal : 3,5%, MG par hydrolyse : <1,0%, Sucres solubles Totaux : 0,62%, Cendres : 1,64%, le pH était de 2,9.

10

I-2- Exemple 2 : autre exemple d'utilisation de la levure Yarrowia lipolytica et de fermentation en présence de méthionine

Cet exemple a été réalisé dans les mêmes conditions que celles de l'exemple I-1, seule la composition du milieu pour la fermentation principale était différente. Celui-ci contenait 22 gr d'extrait de malt (Muntions- UK), 15 gr d'extrait de levure (Biospringer – France), 3,1 gr d'H₃PO₄ 75% (Brenntag-France), 150 gr de Methionine (Adisseo – France), 5 ml d'antimousse (Struktol SB2020), 180 gr de matière grasse laitière anhydre (Beuralia-France) et qsp 4 L d'eau déminéralisée.

La composition finale du produit était la suivante : humidité : 90,3%, protéines (Nx6,25) : 3,4%, MG par hydrolyse : 4,5%, sucres solubles totaux : 0,7%, cendres : 1,7. Le pH était de 2,9.

I-3- Exemple 3 : utilisation de la levure Saccharomyces cerevisiae et fermentation en présence de méthionine

Cet exemple a été réalisé dans les mêmes conditions que celles de l'exemple 1, avec une préculture différente car la levure utilisée était *Saccharomyces cerevisiae*. Le milieu était constitué de 0,3 gr d'extrait de malt (Muntions-UK), 0,3 gr d'extrait de levure (Biospringer – France), 0,5 gr

(9)

de peptone de viande (Merck Allemagne) et 12,5 gr de glucose (Merck – Allemagne). La préculture, dont le pH a été ajusté à 5,6, a été maintenue 13h à 30°C – 140 tr/min. La fermentation principale a été réalisée dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1. La composition du produit fini était

5 Humidité : 94,9%, Protéines (Nx6.25) Kjeldhal : 3,8%, MG par hydrolyse : <1,0%, Sucres solubles Totaux : 0,45%, Cendres : 1,3%, le pH était de 3.

I-4- Exemple 4 : utilisation de la levure Zygosaccharomyces rouxii et fermentation en présence de cystéine

10

La levure *Zygosaccharomyces rouxii* a été cultivée sur milieu de préculture constitué de 0,3 gr d'extrait de malt (Muntions-UK), 0,3 gr d'extrait de levure (Biospringer – France), 0,5 gr de peptone de viande (Merck Allemagne) et 15 gr de glucose (Merck – Allemagne). La préculture, dont le pH a été

15 ajusté à 5,6, a été maintenue 21h à 30°C – 140 tr/min. La fermentation principale a été réalisée dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, mais la composition du milieu de fermentation était la suivante : 35 gr d'extrait de malt (Muntions- UK), 18 gr d'extrait de levure (Biospringer – France), 15,6 gr de NaOH 2M (Merck- Allemagne), 413 gr de Cysteine

20 Monohydratée HCl (AMC-UK), 5 ml d'antimousse (Struktol SB2020) et qsp 5 L d'eau déminéralisée. La composition du produit fini était : Humidité : 88,2%, Protéines (Nx6.25) Kjeldhal : 7,1%, MG par hydrolyse : <1,0%, Sucres solubles Totaux : 0,83%, Cendres : 4,3%, le pH était de 2,9.

25 **II- Exemple 5 : facteur d'appétence préparé à l'échelle industrielle en utilisant la levure *Yarrowia lipolytica*, par fermentation en présence de méthionine**

Le schéma de la Fig-3 illustre un exemple de procédé de préparation

30 applicable à l'échelle industrielle.

29

La première étape était identique à celle de l'exemple 1. 15 ml de la préculture ont été prélevés stérilement et ont servi d'inoculum à un milieu stérile contenu dans un fermenteur de 5L (Prélude- GUERIN SA- France) contenant 15 gr d'extrait de malt (Muntions- UK), 15 gr d'extrait de levure (Biospringer – France), 50 gr de dextrose monohydraté (Tate & Lyle - Belgique) , 12 gr d'H₃PO₄ 75% (Brenntag- France, 5 ml d'antimousse (Struktol SB2020) et qsp 5 L d'eau déminéralisée. La température était de 30°C, l'aération a été fixée à 5 L/min, et l'agitation à 700 rpm. La fermentation a été conduite pendant 12h. Pendant ce temps, un fermenteur de capacité 60L (Fermenteur Semi-Automatique Pierre Guerin Biolafitte Type « S » 60/100L) a été équipé. Il contenait 300 gr d'extrait de malt, 180 gr d'extrait de levure, 152 gr d'acide phosphorique 75%, 2,4 kgs de methionine, 80 gr d'antimousse Struktol et qsp d'eau déminéralisée pour un volume total de 60L. Le milieu a été stérilisé à 121°C pendant 20 minutes.

Après refroidissement à 30°C, le pH a été ajusté à 5,7, et on a établi une pression de ciel de 0,5 bars, une aération de 24 L /min. Le condenseur de sortie d'air a été mis en route à la consigne 2°C. L'inoculation a été faite stérilement avec 3 litres d'inoculum directement issus du fermenteur de 5L à l'aide d'une pompe péristaltique (4L/h). Après 5 h de fermentation, l'aération a été abaissée à 6 L / min. La fermentation a été maintenue ainsi jusqu'à un temps total de 48h. L'inactivation a été faite à 110°C – 10 min dans le fermenteur. Une fois la température ramenée en dessous de 40°C, 360 gr de sorbate de Potassium à 50% et 542 gr d'acide Phosphorique 75% y ont été ajoutés. Le milieu de fermentation a été sorti du fermenteur et stocké en bidons de 25 kgs à température ambiante. La composition du produit était semblable à celle de l'exemple 1.

III- Exemples de traitements particuliers

III-1- Exemple 6 : illustration d'un procédé dans lequel on élimine la biomasse après fermentation

21

Le produit issu de l'exemple 1 a été traité de manière à le rendre exempt de microorganismes et à obtenir un produit parfaitement clair, translucide. Pour ce faire, un système de filtration fourni par PALL- France, support acétate de cellulose type K80, a été mis en œuvre en sortie de fermenteur 100L. La surface du filtre était de 0,2 m². Le débit était de 300L /h/m². La rétention sur le filtre était de 0,2% en matière sèche. L'essai a donné lieu à un produit limpide, de composition suivante : Humidité: 95,8%, Protéines (Nx6.25) Kjeldhal : 3,05%, MG par hydrolyse : <1,0%, Sucres sol. Totaux : 0,41% et Cendres : 0,75%.

III-2 Exemple 7 : préparation d'un facteur d'appétence concentré liquide

On a réalisé un produit appétent à plus forte matière sèche pour des commodités de stockage. 36 kgs du produit issu de l'exemple 1 ont été mis en œuvre dans un procédé de concentration sous-vide schématisé sur la Fig-4. Le concentrateur était un concentrateur AURIOL, de capacité 50L, capacité utile 20L (alimentation en continu). La température de la double enveloppe a été fixée à 40°C, pour une température de produit de 35°C. Un réseau d'eau refroidie à 10°C assurait la condensation de l'eau évaporée. Le vide a été fixé au maximum (35 mbars). L'alimentation en produit a été effectuée manuellement, à une moyenne de 50L/h. La concentration a été arrêtée de manière à obtenir un produit concentré mais encore fluide. 4,5 kgs de produit ont été obtenus, de matière sèche égale à 27,5%. Le pH était de 3,3.

III-3- Exemple 8 : préparation d'un facteur d'appétence concentré déshydraté

22

A partir du produit issu de l'exemple 1, une poudre a été réalisée sur matériel de marque Alfa-Laval type S18 et de capacité 20 à 40 kgs d'eau évaporée/h. 15 kgs de facteur d'appétence liquide ont été mixés à l'aide d'un ultraturax T50 pendant 5 minutes avec 6,4 kgs de levure de bière (Lorenzetti- Brésil). Le séchage d'une durée de 47 min, température entrée 165°C, température sortie poudre 90°C, a abouti à l'obtention de 4,4 kgs de poudre, avec une humidité de 6%.

IV- Tests d'appétence d'un exemple de facteur selon l'invention

10

IV-1- Exemple 9 : exemple d'un facteur appliqué par pulvérisation sur des aliments pour chien

L'application du facteur d'appétence issu de l'exemple 1 a été faite sous forme de pulvérisation du liquide, par « batch », à l'aide d'un enrobeur Forberg type RVC 120.

25 kgs de croquettes standard pour chien ont été placées à 25°C dans le Forberg. 1,662 kgs de graisse de saindoux chauffée à 60°C ont été pulvérisés par buse sur les croquettes pendant 50 secondes. Le mélange a été effectué pendant 1 minute. Puis 1,108 kgs de facteur d'appétence chauffé à 30°C ont été pulvérisés par buse, pendant 60 secondes. Le mélange a été maintenu encore 1 minute. Les croquettes enrobées ont été vidangées et conditionnées en sac pour être acheminées vers la structure de test. Une codification a été effectuée lors de la réalisation des batchs enrobage, et apparaissait sur le sac. Le produit A a été enrobé avec le facteur d'appétence issu de l'exemple 1. Le produit B était le témoin (enrobage avec un facteur d'appétence base carnée, issu de la gamme super-premium de la société SPF- France). Les conditions d'enrobage concernant le témoin étaient identiques à celles décrites pour l'obtention du produit A.

23

L'appétence de l'aliment ainsi obtenu a été mesurée au sein de la structure PANELIS – France, en panel expert, et selon une méthode de test versus. 2 repas ont été répartis sur la journée en panel de 36 chiens. 2 aliments ont été présentés à chaque animal simultanément, chaque aliment, noté A ou B, permettant de recouvrir les besoins alimentaires de chaque animal, et leur position étant inversée (droite ou gauche) d'un repas sur l'autre pour éviter un choix par latéralisation. On a relevé le 1^{er} aliment vers lequel l'animal se dirigeait (1^{er} choix) et la consommation finale de chaque aliment. Les résultats sont exprimés en % relatif de consommation de A ou B. Les résultats ont été traités statistiquement (Test Chi² pour le 1^{er} choix et test de student pour le ratio de consommation). Seuls les chiens « valides » ayant consommé normalement ont été comptabilisés. Les résultats récapitulés dans le tableau 1 montrent que les aliments enrobés avec le facteur d'appétence issu de l'exemple 1 sont préférés au témoin par les chiens.

Tableau 1

Test	1 ^{er} choix Test Chi ²	Ratio consommation (%relatif)	Ratio Test student Seuil 5%
Repas 1			
- Produit A	17,06 ***	84	***
Témoin – Produit B		16	
Repas 2			
Produit A	11,65 ***	78	***
Témoin – Produit B		22	

(***) : Très haute Significativité (p<0.01)

IV-2- Exemple 10 : exemple d'un facteur d'appétence incorporé dans des aliments pour chien et chat

L'utilisation du facteur d'appétence issu de l'exemple 1 a été faite « en inclusion » dans une base standard pour aliment chien ou une base standard pour aliment chat au cours de l'extrusion à hauteur de 10% du

24

poids total de la base alimentaire. L'extrusion a été réalisée à l'aide d'un extrudeur baxis corotatif Evolum 53 CLEXTRAL (France).

L'aliment A-CT était l'aliment chat contenant 10% du facteur d'appétence. Il était enrobé par de la graisse de volaille chauffée à 45°C à hauteur de 6% dans le Forberg type RVC 120, à 25°C. L'aliment A-CN était l'aliment chien contenant 10% du facteur d'appétence. Il était enrobé par de la graisse de saindoux chauffée à 60°C à hauteur de 6% dans le Forberg type RVC 120, à 25°C. Les aliments T-CT et T-CN étaient les aliments secs témoins sans inclusion de facteur d'appétence chat et chien respectivement, mais enrobés avec de la graisse comme spécifié ci-dessus. Une même quantité de ces aliments a été utilisée lors d'une deuxième série, mais cette fois-ci avec un enrobage extérieur d'un facteur d'appétence Super-Premium SPF à base de protéines animales, à 30°C, dans le Forberg type RVC 120, à 25°C, dans des conditions équivalentes à celles de l'exemple 9. Les lots de cette deuxième série ont été étiquetés Aliment A-CT-E, Aliment A-CN-E, Aliment T-CT-E et Aliment T-CN-E.

L'appétence des aliments ainsi obtenus a été mesurée au sein de la structure PANELIS – France, en panel expert, et selon une méthode de test versus. 2 repas ont été répartis sur la journée en panel de 36 chiens; ou sur 2 jours en panels de 40 chats. Les tests ont été réalisés et analysés dans les mêmes conditions que celles décrites dans l'exemple 9. Les résultats récapitulés dans le tableau 2 montrent que les aliments qui contiennent le facteur d'appétence issu de l'exemple 1 sont préférés aux témoins par les chiens et les chats.

25

Tableau 2

Panel	Test	1 ^{er} choix Test Chi ²	Ratio consommation (% relatif)	Ratio Test student Seuil 5%
CHATTERIE	Repas 1			
Série 1	Aliment A-CT	nd	59	*
	Aliment T-CT		41	
	Repas 2			

Tableau 2 (suite)

Panel	Test	1 ^{er} choix Test Chi ²	Ratio consommation (% relatif)	Ratio Test student Seuil 5%
	Aliment A-CT	nd	57	*
	Aliment T-CT		43	
CHATTERIE	Repas 1			
Série 2	Aliment A-CT-E	nd	68	**
	Aliment T-CT-E		31	
	Repas 2			
	Aliment A-CT-E	nd	61	*
	Aliment T-CT-E		33	
CHENIL	Repas 1			
Série1	Aliment A-CN	16,20 ***	91	***
	Aliment T-CN		9	
	Repas 2			
	Aliment A-CN	9,14 **	84	***
	Aliment T-CN		16	
CHENIL	Repas 1			
Série2	Aliment A-CN-E	5,45 *	75	**
	Aliment T-CN-E		25	
	Repas 2			
	Aliment A-CN-E	4,80 *	70	*
	Aliment T-CN-E		30	

(***) : Très haute Significativité ($p < 0.01$)(**) : Haute Significativité ($p < 0.05$)(*) : Significativité ($p < 0.1$)

() : Non significatif

5

IV-3- Exemple 11 : exemple d'un facteur d'appétence incorporé dans des aliments pour crevette

Le facteur d'appétence issu de l'exemple 1 a été incorporé en inclusion à hauteur de 3% dans un aliment de type commercial de formule suivante :

10 farine de poissons 40%, blé entier 25%, remoulage de blé 15%, tourteaux de soja 9.5%, farine de crevettes 6%, huile de poissons 2%, lécithine de soja 1%, mélange vitaminique 1% et mélange minéral 0.5%. L'aliment obtenu (aliment A) par pressage sur presse Hobart (Allemagne) a été

comparé à un aliment de formule identique mais sans facteur d'appétence (aliment B=contrôle).

Les essais se sont déroulés sur l'espèce crevette *P. vanamei* en ferme d'élevage (Brésil) dans un bassin de 1000m². Le poids moyen des crevettes
5 était de 8g et la densité était de 20 animaux/m². Les crevettes ont été nourries à l'aide de 4 paniers disposés à des points précis dans le bassin. Chaque panier était séparé en deux parties sur lesquelles les aliments A et B prenaient place. La figure 5A illustre la répartition des paniers dans le bassin. Chaque aliment a été disposé dans les paniers à hauteur de 4% de
10 la biomasse par jour et ce, en deux distributions réparties sur la journée. Les aliments étaient disposés sur les paniers en début de matinée et d'après-midi, et les paniers étaient relevés en fin de matinée et d'après-midi pour quantification de l'aliment non ingéré par les crevettes. Les opérations ont été renouvelées tous les jours pendant 15 jours.

15 Le paramètre suivant a été calculé pour chaque jour d'essai : [(Aliment A ingéré - Aliment B ingéré)/Aliment B ingéré]*100. Les résultats sont présentés sur la fig. 5B.

A la fin des 15 jours d'essai, la consommation de l'aliment A contenant le facteur d'appétence a été 23% plus élevée que celle de l'aliment B sans
20 facteur d'appétence. L'aliment A contenant le facteur d'appétence a été significativement préféré à l'aliment B ($P<0.05$).

V- Exemple 12 : composition de facteurs d'appétence

25 Un facteur d'appétence a été préparé en mélangeant le produit issu de l'exemple 1 avec un facteur d'appétence Super Premium à base de protéines animales. Les proportions des mélanges sont récapitulées dans le tableau 3. Les mélanges ont été réalisés à l'aide d'un mélangeur disperseur Ultraturax T50.

27

Tableau 3

Mélange n°	Proportion de facteur d'appétence exemple 1 (%)	Proportion Facteur d'appétence à base de protéines animales (%)
1	10	90
2	20	80
3	33	66
4	50	50

- Des aliments pour chiens ont été réalisés par sprayage des mélanges sur base croquettes en Forberg type RVC 120. 24,955 kgs de croquettes standard pour chien ont été placées à 25°C dans le Forberg. 1,654 kgs de graisse de saindoux chauffée à 60°C ont été pulvérisés par buse sur les croquettes pendant 50 secondes. Le mélange a été effectué pendant 1 minute. Puis 831 grammes de facteur d'appétence chauffé à 30°C ont été pulvérisés par buse, pendant 60 secondes. Le mélange a été maintenu encore 1 minute. Les croquettes enrobées ont été vidangées et conditionnées en sac pour être acheminées vers la structure de test. Le témoin était l'aliment enrobé avec le facteur d'appétence base carnée seul ayant servi au mélange, issu de la gamme super-premium de la société SPF (France) et dans les mêmes conditions.
- L'appétence des aliments ainsi obtenus a été mesurée au sein de la structure PANELIS – France, dans les conditions décrites dans l'exemple 9. Les résultats récapitulés dans le tableau 4 montrent que les facteurs d'appétence constitués des mélanges rendent les aliments sur lesquels ils sont pulvérisés plus appétents que les témoins.

20

25

28

Tableau 4

Test	Ratio consommation (%relatif)	Test student Seuil 5%
Repas 1		
Aliment Mélange 1	60	**
Témoin	40	
Repas 2		
Aliment Mélange 1	58	
Témoin	41	
Repas 1		
Aliment Mélange 2	68	*
Témoin	32	
Repas 2		
Aliment Mélange 2	72	**
Témoin	41	
Repas 1		
Aliment Mélange 3	75	**
Témoin	25	
Repas 2		
Aliment Mélange 3	70	
Témoin	30	**
Repas 1		
Aliment Mélange 4	76	***
Témoin	24	
Repas 2		
Aliment Mélange 4	75	**
Témoin	25	

(***) : Très haute Significativité (p<0.01)

(**) : Haute Significativité (p<0.05)

(*) : Significativité (p<0.1)

S () : Non significatif

29

REVENDICATIONS

1. Facteur d'appétence fermenté destiné à être ajouté à l'alimentation animale, caractérisé en ce qu'il comprend le milieu de fermentation obtenu
5 après culture d'au moins une levure, ledit milieu de fermentation contenant au moins :
 - humidité (H) : de 80 à 96% en poids environ ;
 - fraction protéique (FP) : de 1,5 à 10,0% en poids environ ;
 - matières grasses (MG) : jusqu'à 10% en poids environ ;
 - 10 - sucres (S) : de 0,20 à 2,0% en poids environ ; et
 - cendres (C) : de 0,3 à 8,0% en poids environ,où ladite fraction protéique (FP) est dépourvue de constituants d'origine animale.
- 15 2. Facteur d'appétence selon la revendication 1, caractérisé en ce que lesdits constituants de ladite fraction protéique (FP) sont choisis parmi des protéines, des peptides, des acides aminés, et leurs combinaisons.
3. Facteur d'appétence selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce
20 que ladite fraction protéique (FP) comprend au moins 90% en poids environ d'un ou plusieurs acides aminés choisis parmi l'alanine, la thréonine, la lysine, les acides aminés soufrés, et sont de préférence choisis parmi les acides aminés soufrés.
- 25 4. Facteur d'appétence selon la revendication 3, caractérisé en ce que ladite fraction protéique (FP) comprend au moins 95%, de préférence au moins 98%, de préférence encore au moins 99% en poids environ du ou desdits acides aminés.

30

5. Facteur d'appétence selon la revendication 3 ou 4, caractérisé en ce que lesdits acides aminés soufrés sont choisis parmi la méthionine et la cystéine, et sont de préférence des méthionines.
- 5 6. Facteur d'appétence selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'il présente un pH allant de 1,6 à 3,5 environ, de préférence un pH allant de 2,6 à 3,2 environ.
7. Facteur d'appétence selon l'une quelconque des revendications 1 à 10 6, caractérisé en ce que ladite levure est choisie parmi *Yarrowia* sp., *Saccharomyces* sp., *Candida* sp., *Kluyveromyces* sp., *Pichia* sp., *Debaryomyces* sp., *Zygosaccharomyces* sp.
8. Facteur d'appétence selon la revendication 7, caractérisé en ce que 15 ladite levure est choisie parmi *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida versalitis*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Pichia pastoris*, *Debaryomyces harsenii*, *Zygosaccharomyces rouxii*.
9. Facteur d'appétence selon la revendication 8, caractérisé en ce que 20 ladite levure est *Yarrowia lipolytica*.
10. Facteur d'appétence selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce qu'il se présente sous une forme liquide prête à l'emploi.
- 25 11. Facteur d'appétence selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, en tant que produit intermédiaire dans la préparation d'un facteur d'appétence fermenté concentré.

31

12. Facteur d'appétence selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisé en ce qu'il est appliqué à et/ou incorporé dans ladite alimentation animale.
- 5 13. Facteur d'appétence selon la revendication 12, caractérisé en ce qu'il est utilisé en association avec un ou plusieurs autres facteurs d'appétence tels que des facteurs d'appétence d'origine animale et/ou végétale.
- 10 14. Facteur d'appétence selon la revendication 12 ou 13, caractérisé en ce qu'il est utilisé à raison de 1 à 10% en poids environ, de préférence à raison de 2 à 4 % en poids environ.
- 15 15. Facteur d'appétence selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, caractérisé en ce que ladite alimentation animale est destinée aux animaux de compagnie.
- 20 16. Facteur d'appétence fermenté concentré susceptible d'être obtenu par concentration et/ou déshydratation d'au moins un facteur d'appétence selon l'une quelconque des revendications 1 à 15.
17. Composition de facteurs d'appétence destinée à être ajoutée à l'alimentation animale, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un facteur d'appétence selon l'une quelconque des revendications 1 à 16.
- 25 18. Procédé de préparation d'un facteur d'appétence selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, comprenant au moins les étapes suivantes :
- a) préculture d'au moins une levure en milieu de croissance standard, à une température allant de 22°C à 32°C environ, pendant 6 à 25 heures environ ;

32

- b) ensemencement d'un milieu de fermentation contenant un ou plusieurs acides aminés, à l'aide de ladite préculture à un taux d'au moins 1.10^5 cellules/ml environ ;
- c) culture du milieu de fermentation ensemencé pendant 12 à 72 heures environ, à une température allant de 20°C à 32°C environ ;
- d) arrêt de la fermentation ; et
- e) récupération du milieu de fermentation final utile comme facteur d'appétence.
- 10 19. Procédé selon la revendication 18, caractérisé en ce que le milieu de fermentation utilisé à l'étape b) comprend environ 2 à 10% en poids, de préférence environ 3 à 5% en poids, d'un ou plusieurs acides aminés.
- 15 20. Procédé selon la revendication 18 ou 19, caractérisé en ce que le ou lesdits acides aminés sont choisis parmi l'alanine, la thréonine, la lysine, les acides aminés soufrés, et sont de préférence choisis parmi les acides aminés soufrés.
- 20 21. Procédé selon l'une quelconque des revendications 18 à 20, caractérisé en ce que l'étape d) est réalisée par inactivation thermique des levures.
- 25 22. Procédé selon l'une quelconque des revendications 18 à 21, caractérisé en ce que, avant l'étape e), ledit milieu de fermentation est débarrassé de la biomasse.
- 30 23. Procédé selon la revendication 22, caractérisé en ce que les étapes d) à e) sont réalisées simultanément, de préférence par filtration stérilisante.
24. Procédé d'amélioration de l'appétence de l'alimentation animale, comprenant l'ajout d'au moins un facteur d'appétence selon l'une

quelconque des revendications 1 à 16, ou d'au moins une composition selon la revendication 17, à ladite alimentation animale.

25. Utilisation d'au moins une levure pour préparer un facteur
5 d'appétence selon l'une quelconque des revendications 1 à 16.

26. Utilisation selon la revendication 25, caractérisée en ce que ladite levure est *Yarrowia lipolytica*.

34

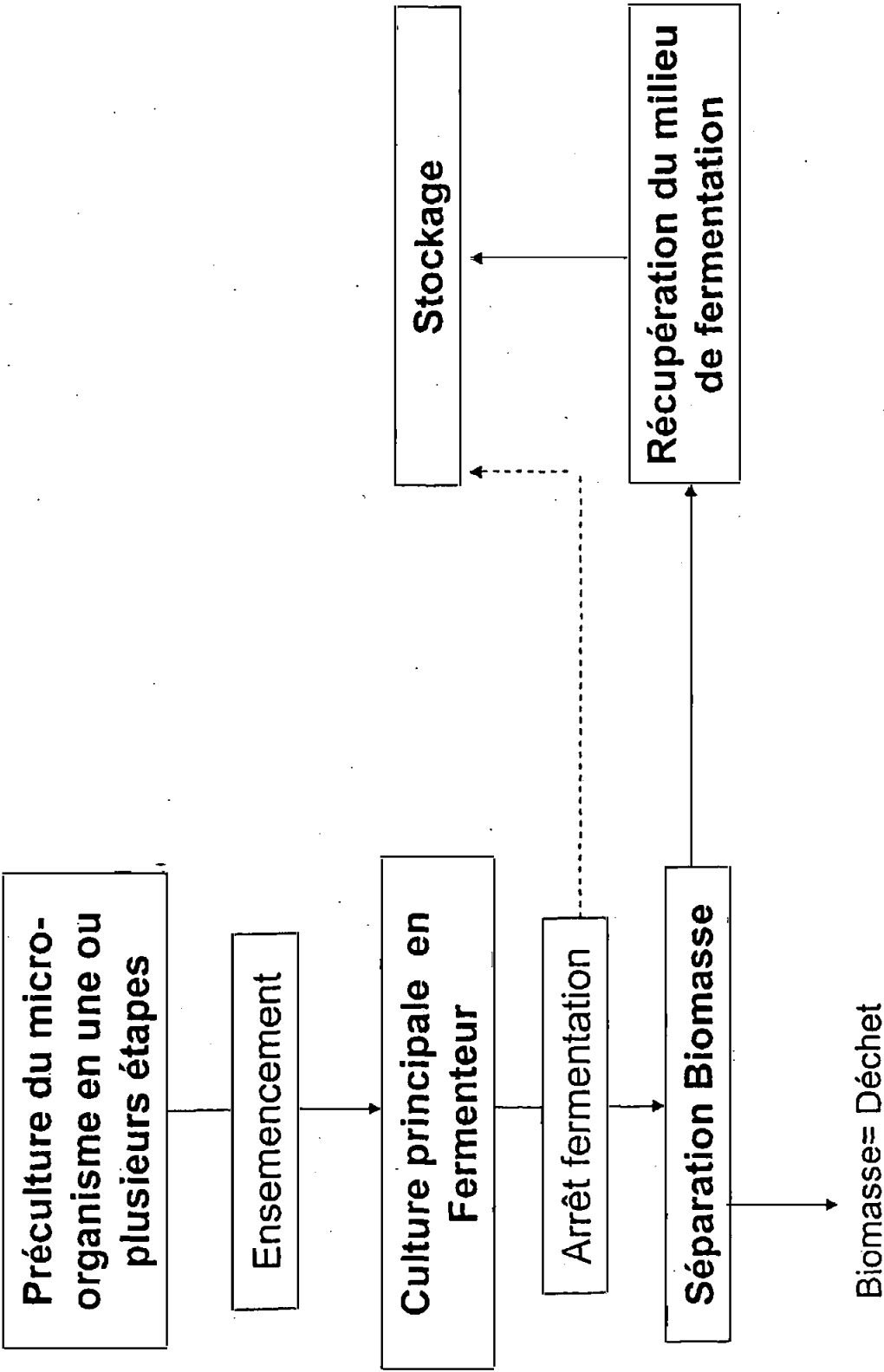


Fig-1

38

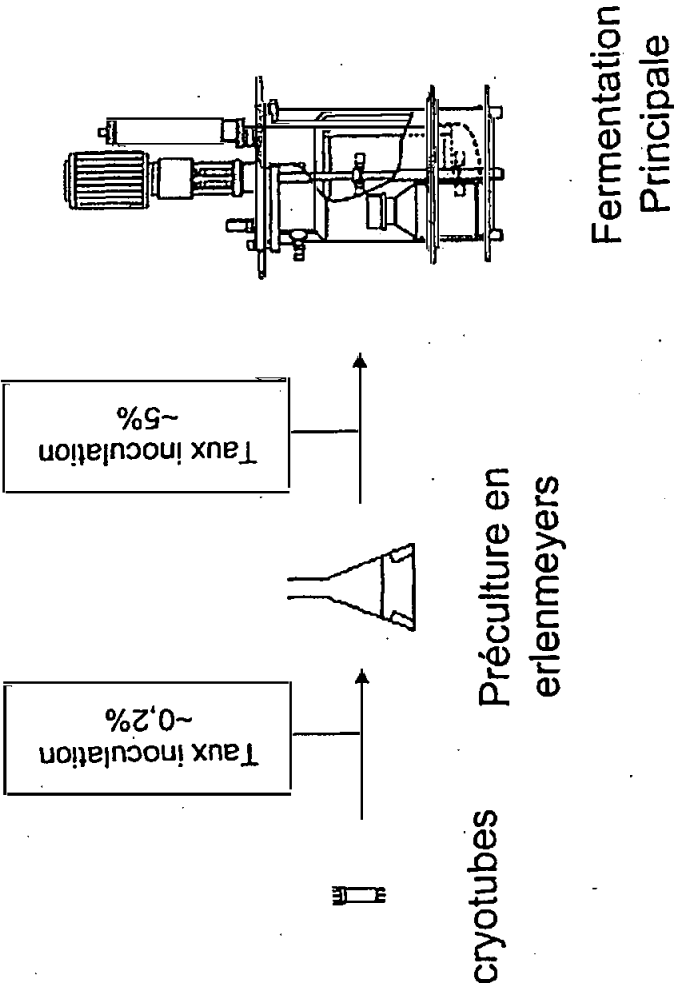


Fig-2

36

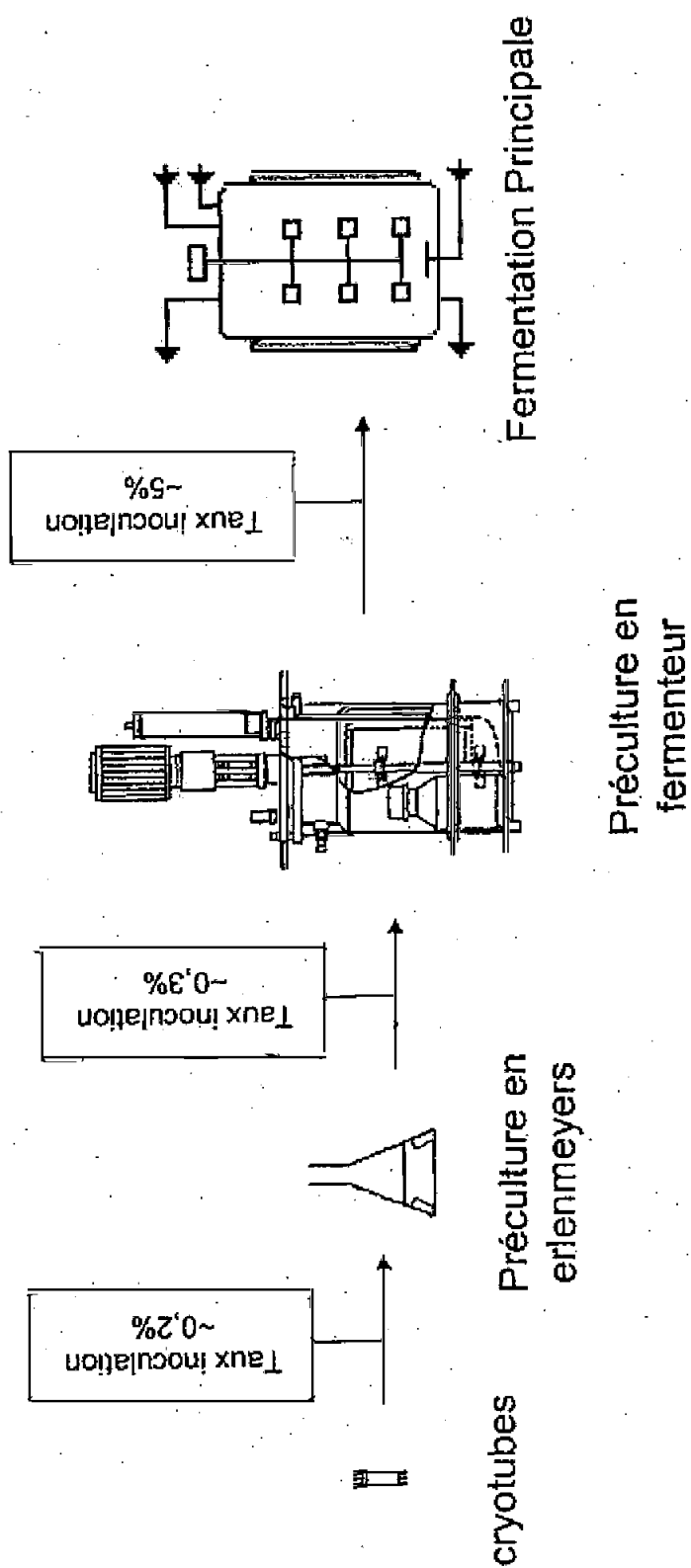


Fig-3

37

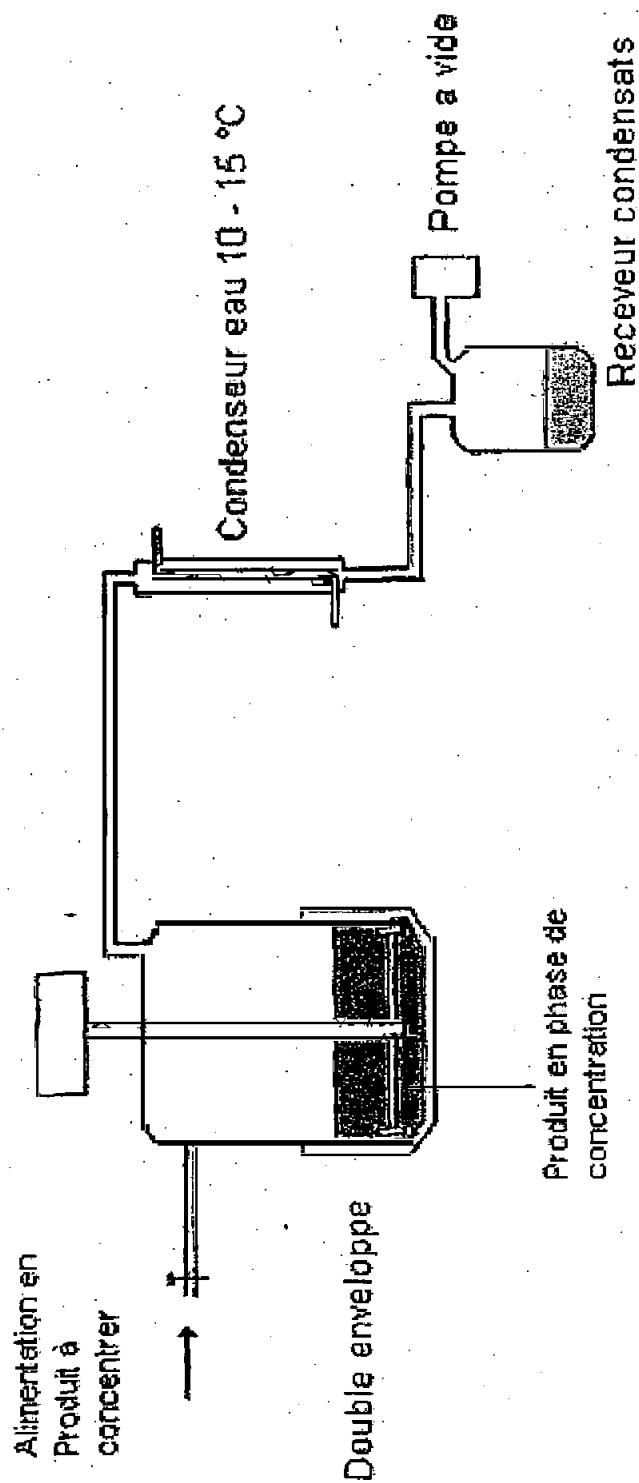
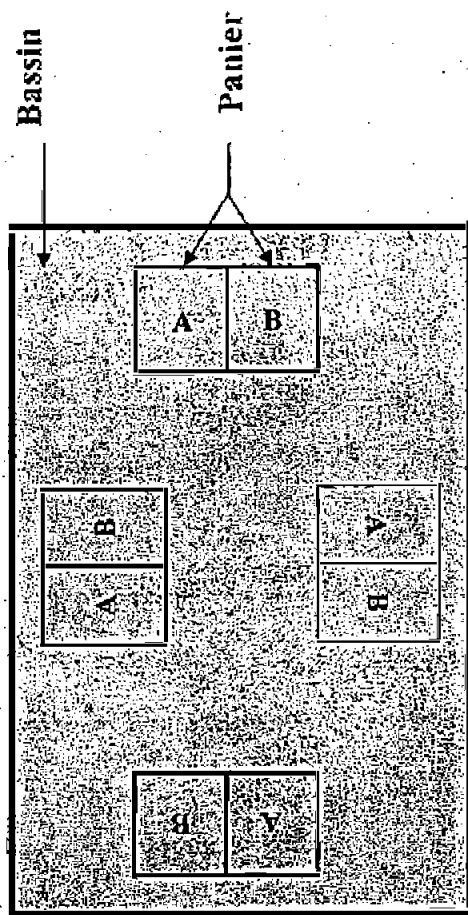


Fig-4

38



Aliment A = aliment B +
3% facteur d'appétence

Aliment B = contrôle

Fig-5A

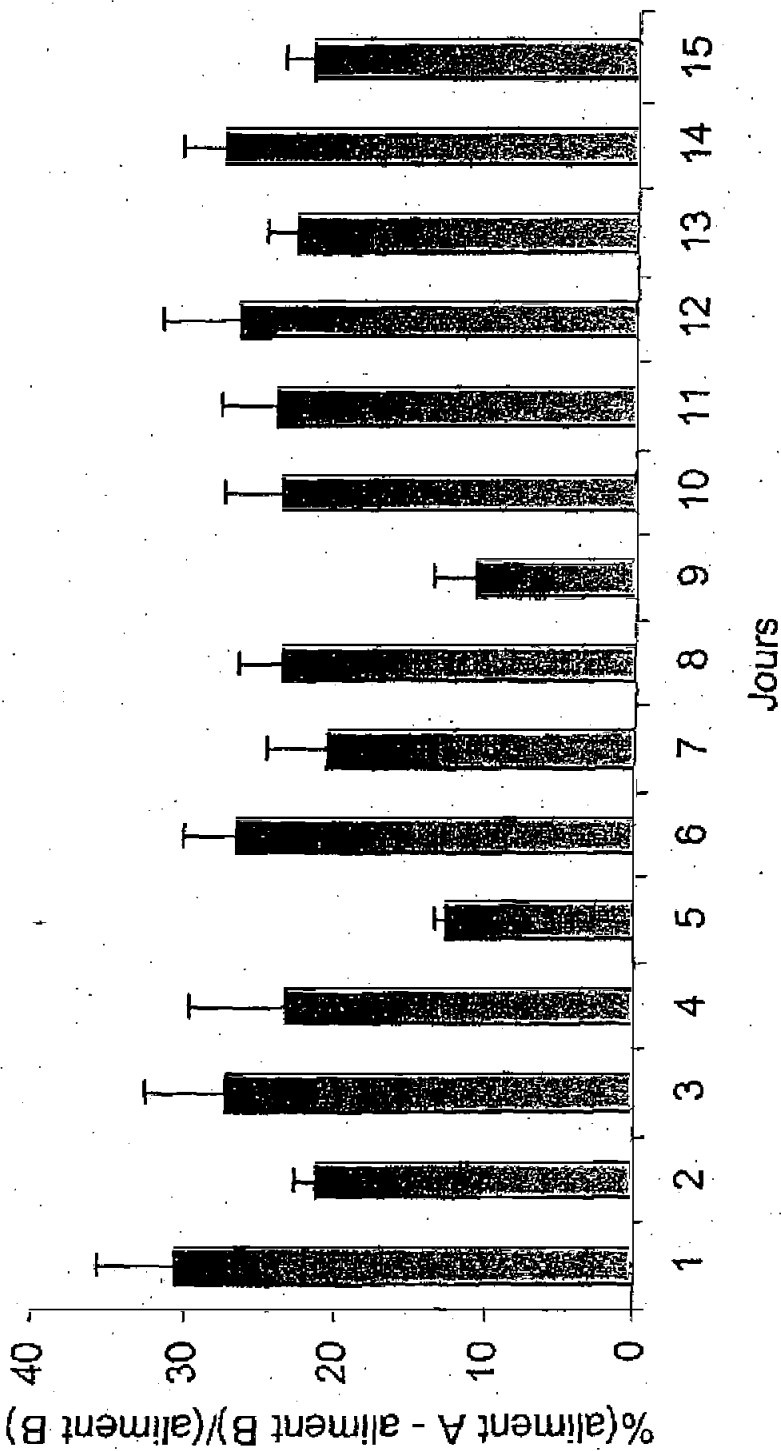


Fig-5B

FACTOR DE APETENCIA FERMENTADO Y DESPROVISTO DE PROTEÍNAS
ANIMALES PARA ANIMALES

5

DESCRIPCION

La presente invención se relaciona con el campo de los factores de apetencia para la alimentación animal.

10

Más precisamente, la presente invención se refiere a un factor de apetencia para la alimentación animal, obtenido mediante fermentación con la ayuda de una levadura y que comprende al menos, en ausencia de constituyentes proteicos de origen animal:

15

- humedad (H): de 80 a 96% en peso aproximadamente;
- fracción proteica (FP): de 1.5 a 10,0% en peso aproximadamente;
- materias grasas (MG): hasta 10% en peso aproximadamente;
- azúcares (A): de 0.20 a 2.0% en peso aproximadamente;
- cenizas (C): de 0.3 a 8.0% en peso aproximadamente.

20

A través de la alimentación dada a los animales, especialmente a las mascotas, se busca favorecer y cuidar su salud, su bienestar y su equilibrio. Sin embargo, incluso los alimentos más beneficiosos desde un punto de vista nutricional no resultan interesantes si el animal los rechaza o se niega a comerlos, o también si las porciones tomadas por el animal son pequeñas porque el alimento no es totalmente de su gusto.

25

Por lo tanto, para facilitar la toma de alimentos por los animales, y más especialmente por las mascotas tales como los perros y los gatos que frecuentemente resultan exigentes, desde siempre se ha intentado mejorar la apetencia de los alimentos, conservando al mismo tiempo sus calidades nutricionales.

30

Tipicamente, la carne y el pescado representan las principales fuentes de proteínas en la mayoría de los alimentos para animales. En efecto, la naturaleza y la cantidad de los aminoácidos aportados por los derivados animales (carne, hueso, pescado) confieren a los alimentos las calidades nutricionales esperadas. Además, estos derivados tienen por efecto aumentar la apetencia de los alimentos que los contienen.

35

Sin embargo, la presencia de constituyentes de origen animal en los alimentos aumenta de manera considerable su precio de coste.

40

Por eso, rápidamente las búsquedas se han orientado hacia la realización de alimentos e ingredientes alimenticios nutricionalmente equilibrados, tan apetitosos como los alimentos e ingredientes tradicionales a base de materia animal (por ejemplo, a base de hígado), pero cuya preparación es menos costosa. En efecto, rápidamente la industria de la alimentación animal se ha esforzado por encontrar unas fuentes de proteínas estables, nutricionalmente satisfactorias y, sobre todo económicas con el fin

45

de reemplazarlas por la carne o el pescado durante la preparación de alimentos e ingredientes alimenticios para animales.

5 En este contexto, la patente estadounidense US nº 4.039.687 (a nombre de Weyn) propone sustituir la totalidad o parte de las proteínas animales presentes en los alimentos por unas proteínas sintéticas obtenidas mediante fermentación de microorganismos, por ejemplo, bacterias o levaduras. Los alimentos así obtenidos presentan unas propiedades de apetencia satisfactorias y se pueden fabricar a menor coste con relación a unos alimentos a base de proteínas naturales de origen animal o vegetal. En la práctica, se incorpora a los alimentos, como fuente de proteínas, la biomasa obtenida después de la fermentación de los microorganismos sobre unos hidrocarburos.

15 La patente US nº 4.800.093 (a nombre de Hogan *et al.*) describe un producto alimenticio para animales con un porcentaje de humedad elevado, en el que una proporción de la materia prima a base de carne se sustituye por la biomasa obtenida después de la fermentación de hongos filamentosos sobre unos sustratos económicos tales como el suero de leche de soja.

20 La solicitud de patente británica GB 2.385.767 (a nombre de Norferm DA) se ha interesado en los cultivos de bacterias metanotróficas como factores de apetencia. La biomasa usada se obtiene mediante fermentación de una bacteria de tipo *Methylococcus capsulatus* sobre unos hidrocarburos o un gas natural.

25 Así, según el estado de la técnica, es posible reemplazar las proteínas animales, sin perjuicio para la apetencia y las calidades nutricionales de los alimentos preparados, por proteínas sintetizadas por unos microorganismos, que se añaden a los alimentos en forma de una biomasa obtenida después de la fermentación.

30 Sin embargo, la adición en la alimentación animal de una biomasa como factor de apetencia conlleva ciertos inconvenientes, especialmente porque dicho ingrediente impone necesariamente que se realicen (i) una etapa de desactivación eficaz de la biomasa, con el fin de prevenir cualquier modificación intempestiva de las propiedades organolépticas del alimento al cual será añadido (debido, por ejemplo, a una fermentación o a un crecimiento no deseado de los microorganismos); y (ii) una etapa de separación con el fin de eliminar el medio de fermentación. Además, dicho ingrediente tiende frecuentemente a modificar el aspecto (por ejemplo el color) de los alimentos obtenidos.

40 Por lo tanto, se requiere de unos factores de apetencia para animales, que sean al mismo tiempo: (i) equilibrados en cuanto a los aportes nutricionales y calóricos; (ii) al menos tan eficaces como los factores convencionales a base de derivados animales; (iii) fáciles de preparar, a partir de materias primas fácilmente accesibles y económicas; (iv) estables en el tiempo; y (v) tan neutro como sea posible a nivel de sus propiedades físicas (color, viscosidad, etc.), por una parte, para no modificar el aspecto y la textura de los alimentos a los cuales se están agregando y, por otra parte, no plantear ninguna dificultad de uso en particular (por ejemplo, en caso de pulverización sobre los alimentos).

En el marco de la presente invención, el solicitante propone un factor de apetencia para animales que permite cubrir, de manera tan satisfactoria como sorprendente, la necesidad que existe en este campo. Como lo ilustran la descripción detallada y los ejemplos a continuación, (1) el factor de apetencia según la invención es nutricionalmente equilibrado; (2) se trata de un producto vegetariano e hipoalergénico; (3) es más eficaz que los factores de apetencia tradicionales a base de proteínas de origen animal; (4) se obtiene fácilmente mediante fermentación de microorganismos, preferentemente levaduras; (5) de manera sorprendente, se usa el medio de fermentación en sí como factor de apetencia, lo que permite liberarse de una de las etapas requeridas para producir los factores de apetencia del estado de la técnica a base de biomasa porque, según la invención, o bien se usa el medio de fermentación solo - basta entonces con eliminar la biomasa y la etapa de desactivación resulta inútil -, o bien se usa el medio de fermentación en presencia de la biomasa - en este caso, se debe simplemente desactivar eficazmente la biomasa; (6) sus propiedades físicas son globalmente neutras: es un líquido acuoso, de color claro, que se diluye fácilmente en una masa; (7) es fácil de usar, en particular mediante aplicación, pulverización, incorporación, impregnación.

En el sentido de la invención, un "factor de apetencia" (o, de manera equivalente, un "agente de apetencia", un factor "apetecible" o "apetitoso") para mascotas es un factor cuyas propiedades organolépticas (aroma, sabor, aspecto, textura, etc.) son tales que un animal sentirá el deseo de absorberlo. En el marco de la presente invención, con más frecuencia un factor de apetencia es un ingrediente alimenticio (o aditivo) que se agrega a la alimentación animal. Pero, por extensión, también puede ser un alimento, incluso una bebida, que contiene dicho ingrediente.

Así, un primer aspecto de la presente invención se refiere a un factor de apetencia fermentado destinado a ser añadido en la alimentación animal, caracterizado en que comprende el medio de fermentación obtenido después del cultivo de al menos una levadura, conteniendo dicho medio de fermentación al menos:

- humedad (H): de 80 a 96% en peso aproximadamente;
- fracción proteica (FP): de 1.5 a 10.0% en peso aproximadamente;
- materias grasas (MG): hasta 10% en peso aproximadamente;
- azúcares (A): de 0.20 a 2.0% en peso aproximadamente; y
- cenizas (C): de 0.3 a 8.0% en peso aproximadamente.

en el que dicha fracción proteica FP está desprovista de constituyentes de origen animal.

Por ejemplo, unos factores de apetencia especiales comprenderán al menos, en ausencia de constituyentes proteicos de origen animal:

- humedad (H): de 85 a 96% en peso aproximadamente;
- fracción proteica (FP): de 1.5 a 10.0% en peso aproximadamente;
- materias grasas (MG): hasta 1% en peso aproximadamente;
- azúcares (A): de 0.20 a 2.0% en peso aproximadamente; y
- cenizas (C): de 0.3 a 8.0% en peso aproximadamente;

o

- 5 - humedad (H): de 90 a 96% en peso aproximadamente;
- fracción proteica (FP): de 2.5 a 10.0% en peso aproximadamente;
- materias grasas (MG): hasta 5% en peso aproximadamente;
- azúcares (A): de 0.30 a 0.75% en peso aproximadamente; y,
- cenizas (C): de 0.5 a 0.7% en peso aproximadamente

o también

- 10 - humedad (H): de 90 a 96% en peso aproximadamente;
- fracción proteica (FP): de 2.5 a 10.0% en peso aproximadamente;
- materias grasas (MG): hasta 1% en peso aproximadamente;
- azúcares (A): de 0.30 a 0.75% en peso aproximadamente; y
- 15 - cenizas (C): de 0.5 a 0.7% en peso aproximadamente.

El término "cenizas" designa en el presente caso la materia mineral después de la calcinación del producto.

20 Por "materias grasas" se entiende en el presente caso cualquier tipo de materias grasas adaptado para la alimentación animal y susceptible de ser metabolizado (es decir, susceptible de ser consumido o producido) por el microorganismo responsable de la fermentación al origen del factor de apetencia. Puede tratarse de materias grasas de origen animal o vegetal o de una combinación de éstas. La persona versada en la materia sabrá qué tipo(s) de materias grasas usar en función de sus conocimientos generales y de las aplicaciones del factor de apetencia previstas.

30 Los "constituyentes de la fracción proteica FP" pueden ser proteínas, péptidos, aminoácidos, y unas combinaciones de los mismos. Los términos "proteínas" y "péptidos" se podrán usar en algunas ocasiones indiferentemente en la continuación de la descripción, entendiéndose que la persona versada en la materia es capaz de determinar el sentido exacto que se debe dar a uno u otro de estos términos según el contexto y a la luz de sus conocimientos generales. Además, las expresiones
35 "constituyentes proteicos" y "constituyentes de la fracción proteica FP" son aquí equivalentes.

Según un modo de realización, la fracción proteica FP comprende al menos 90% en peso aproximadamente de uno o varios aminoácidos designados entre la alanina, la treonina, la lisina y los aminoácidos azufrados. Especialmente, la fracción proteica FP comprende al menos 95%, preferentemente al menos 98%, todavía más preferentemente al menos 99% en peso aproximadamente del o de dichos aminoácido(s).

45 Preferentemente, este o estos aminoácido(s) se selecciona(n) de entre los aminoácidos azufrados, tales como la metionina y la cisteína. Se aconseja usar la metionina.

Según otro modo de realización, un factor de apetencia conforme con la invención presenta un pH comprendido entre 1.6 y 3.5 aproximadamente, entendiéndose que es preferible un pH comprendido entre 2.6 y 3.2 aproximadamente.

5 Un factor de apetencia según la invención se "fermenta", es decir que se obtiene mediante fermentación con la ayuda de al menos un microorganismo, que es, en el marco de la invención, una levadura. Preferentemente, la levadura se elige entre *Yarrowia sp.*, *Saccharomyces sp.*, *Candida sp.*, *Kluyveromyces sp.*, *Pichia sp.*, *Debaryomyces sp.*, *Zygosaccharomyces sp.* También, más preferiblemente, la
10 levadura se elige entre *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida versatilis*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Pichia pastoris*, *Debaryomyces hansenii*, *Zygosaccharomyces rouxii*. De manera preferida entre todas, se utiliza la levadura *Yarrowia lipolytica*.

15 Como se ha indicado anteriormente, un factor de apetencia según la invención comprende el medio de fermentación obtenido después del cultivo de dicha levadura. Eventualmente, el medio de fermentación se utiliza como agente de apetencia, previa liberación de la biomasa.

20 Según otro modo más de realización, el factor de apetencia se presenta bajo la forma de un líquido cuyo uso no requiere preparación. Alternativamente, puede servir de producto intermedio en la preparación de un factor de apetencia fermentado concentrado. En este caso, el factor de apetencia concentrado, con un porcentaje de
25 humedad reducido, puede presentarse en forma líquida o deshidratada. Por "concentrado" se pretende designar un factor de apetencia que se obtiene mediante concentración de un factor de apetencia que presenta los contenidos en H, FP, MG, A y C descritos anteriormente. Resulta evidente que el factor de apetencia concentrado presenta, debido a la concentración misma, unos contenidos en FP, MG, S y C superiores a aquellos especificados anteriormente, teniendo al mismo tiempo un
30 porcentaje de humedad más bajo.

 Según un modo de realización, se aplica un factor de apetencia de la invención a la alimentación animal. Alternativamente, el factor de apetencia se incorpora en la alimentación animal. De manera general, se habla aquí de "adición" o de "utilización"
35 de un factor de apetencia. Por "añadir" o "utilizar" un factor de apetencia, se abarca la noción de "aplicar el factor a", es decir añadirlo en superficie, por ejemplo mediante pulverización o revestimiento, y la noción de "incorporar el factor en", es decir añadirlo en la masa, por ejemplo mediante impregnación o mezcla.

40 "Alimentación animal" designa aquí uno o varios alimentos para animales. Puede tratarse de materias sólidas (por ejemplo croquetas), líquidas (por ejemplo caldos, bebidas), o de productos intermedios más o menos húmedos (por ejemplo sopas, papillas, albóndigas, patés, etc.). Dependiendo del contexto, podrá tratarse
45 asimismo de una ración alimenticia o de una comida, haciendo entonces referencia al conjunto de los alimentos (sin diferenciarlos) tomados durante una comida, incluso en un periodo de tiempo tal como un día, o más.

 Los términos "para animales" o "animal(es)" se deben considerar en su sentido más amplio, como haciendo referencia a unos animales de todos los tipos.

5 Preferiblemente, los factores de apetencia según la invención, o la alimentación animal a la cual se añaden, están destinados a las mascotas tales como perros y gatos, con una preferencia muy particular para los perros. Sin embargo, el objeto de la invención se relaciona con cualquier animal susceptible de ser domesticado o domado o criado, por ejemplo, pájaros, conejos, roedores, peces, etc. Asimismo, se puede tratar de animales de ganadería, tales como los cerdos, las aves de corral, el ganado, los peces, los crustáceos, etc.

10 Según otro modo de realización, se utiliza un factor de apetencia según la presente invención en asociación con uno o varios factores de apetencia tales como factores de apetencia de origen animal y/o vegetal.

15 Según otro modo más de realización, se utiliza el factor de apetencia objeto de la invención en una cantidad de 1 a 10% en peso aproximadamente, preferentemente en una cantidad de 2 a 4% en peso aproximadamente.

20 Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a un factor de apetencia fermentado concentrado susceptible de ser obtenido mediante concentración y/o deshidratación de al menos un factor de apetencia tal como se ha descrito anteriormente.

25 Según un tercer aspecto, la presente invención se refiere a una composición de factores de apetencia destinada a ser añadida a la alimentación animal, que comprende al menos un factor de apetencia tal como se ha mencionado anteriormente. Dicha composición puede comprender solamente unos factores de apetencia según la presente invención, o bien comprender asimismo uno o varios factores de apetencia de origen animal y/o vegetal.

30 En un cuarto aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de un factor de apetencia según la descripción anterior, comprendiendo dicho procedimiento al menos las siguientes etapas:

35 a) precultivar al menos una levadura tal como descrita anteriormente en un medio de crecimiento estándar, a una temperatura comprendida entre 22°C y 32°C aproximadamente, durante 6 a 25 horas aproximadamente;

40 b) inocular un medio de fermentación que contiene uno o varios aminoácidos, con la ayuda de dicho precultivo a un porcentaje de al menos $1 \cdot 10^5$ células/ml aproximadamente;

45 c) cultivar el medio de fermentación inoculado durante 12 a 72 horas aproximadamente, a una temperatura comprendida entre 20°C y 32°C aproximadamente;

d) detener la fermentación; y

e) recuperar el medio de fermentación final, útil como factor de apetencia.

Según unos modos de realización particulares, de los cuales eventualmente es posible de combinar una o varias características:

- 5 - la etapa de precultivo a) se realiza a una temperatura de 30°C aproximadamente;
- la etapa de precultivo a) se mantiene durante 8 a 16 horas aproximadamente;
- 10 - la etapa de cultivo c) se mantiene durante 12 a 60 horas aproximadamente, o durante 12 a 55 horas aproximadamente, o también durante 20 a 72 horas aproximadamente, o también durante 30 a 50 horas aproximadamente;
- 15 - la etapa de cultivo c) se realiza a una temperatura comprendida entre 28°C y 30°C aproximadamente.

En particular, el precultivo se mantendrá hasta el final de la fase exponencial de crecimiento de la levadura.

20 De manera ventajosa, el medio de crecimiento estándar utilizado para el precultivo comprende unos extractos de levadura, de malta y unos azúcares tales como la glucosa. Además, puede comprender peptona y/o unos oligoelementos. Por ejemplo, este medio puede ser un medio Yeast Malt (YM) conocido por persona versada en la materia.

25 Según un modo de realización, el medio de fermentación usado en la etapa b) comprende aproximadamente 2 a 10% en peso, de manera preferida aproximadamente 3 a 5% en peso, de uno o varios aminoácidos. Estos aminoácidos son, preferentemente, unos aminoácidos aptos para ser metabolizados por la levadura. Alternativamente, entre los aminoácidos presentes en el medio de fermentación, puede haber unos aminoácidos aptos para ser metabolizados por la levadura y unos aminoácidos no metabolizados, aportados como suplementos. Llegado el caso, estos aminoácidos suplementarios pueden tener un efecto positivo sobre la apetencia del factor obtenido, por ejemplo mejorando sus propiedades organolépticas. Las proporciones de los diferentes aminoácidos pueden variar, con una preferencia por una preponderancia de aminoácidos aptos para ser metabolizados. Éstos se seleccionan especialmente entre la alanina, la treonina, la lisina y los aminoácidos azufrados. Preferentemente, este o estos aminoácido(s) se elige(n) entre los aminoácidos azufrados, tales como la metionina y la cisteína. Se prefiere utilizar la metionina.

30 Según otro modo de realización, el medio de fermentación utilizado en la etapa b) comprende además hasta 10% en peso aproximadamente, preferentemente entre 5 y 10% en peso aproximadamente, de materias grasas.

35 Según otro modo más de realización, el medio de fermentación utilizado en la etapa b) comprende además unos extractos de levadura y de malta.

5 Según unos modos de realización preferidos, la inoculación del medio de fermentación con la ayuda del precultivo (etapa b) se efectúa en un porcentaje al menos igual a, por orden creciente de preferencia, $5 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^6$, $4 \cdot 10^6$, $6 \cdot 10^8$ células/ml aproximadamente, es decir para alcanzar una población celular al principio del cultivo de al menos $5 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^6$, $4 \cdot 10^6$, $6 \cdot 10^6$ células/ml aproximadamente en el medio de fermentación.

10 Según un modo de realización, el pH del medio de fermentación se ajusta al principio de la etapa c) a un valor comprendido entre 4.5 y 6.5 aproximadamente, preferentemente de 5.4 a 5.8 aproximadamente.

15 Según otro modo de realización más, el precultivo de la etapa a) se realiza en unas condiciones de ventilación comprendidas entre 0.5 y 1.5 vvm aproximadamente; y/o el cultivo de la etapa c) se realiza en unas condiciones de ventilación comprendidas entre 0.02 y 0.40 vvm aproximadamente.

Según otro modo más de realización, el precultivo de la etapa a) y/o dicho cultivo de la etapa c) se mantiene(n) bajo agitación.

20 Según el procedimiento objeto de la invención, estando el factor de apetencia constituido por el medio de fermentación final, se puede tomar la decisión de deshacerse de la biomasa; o conservar el medio de fermentación final que comprende la biomasa, la cual se debe desactivar. Así, antes de la etapa e), el medio de fermentación se puede separar de la biomasa, preferiblemente mediante una técnica de separación elegida entre la filtración, la decantación, la centrifugación.

25 Alternativamente, las etapas d) a e), incluida la etapa de eliminación de la biomasa, se podrán realizar simultáneamente, preferentemente mediante filtración esterilizante. O bien, si la biomasa no se elimina, la etapa d) se podrá, por ejemplo, realizar mediante desactivación térmica de las levaduras.

30 Un quinto aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento de mejora de la apetencia de la alimentación animal, que comprende la adición a la alimentación animal de al menos un factor de apetencia o de al menos una composición como se describe anteriormente.

35 En particular, el factor de apetencia o la composición se añade a la alimentación animal solo o en combinación con uno o varios otros factores de apetencia, tales como factores de apetencia de origen animal y/o vegetal.

40 Preferentemente, se usa el factor de apetencia o la composición objeto de la invención en una cantidad de 1 a 10% en peso aproximadamente, preferentemente en una cantidad de 2 a 4% en peso aproximadamente.

45 Según un sexto aspecto, la presente invención tiene por objeto el uso de al menos una levadura para preparar un factor de apetencia como susodicho. Preferentemente, la levadura se selecciona de entre *Yarrowia* sp., *Saccharomyces* sp., *Candida* sp., *Kluyveromyces* sp., *Pichia* sp., *Debaryomyces* sp., *Zygosaccharomyces* sp. Todavía más preferentemente, la levadura se selecciona de entre *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida versatilis*, *Kluyveromyces lactis*,

Kluyveromyces fragilis, *Pichia pastoris*, *Debaryomyces hansenii*, *Zygosaccharomyces rouxii*. De manera preferida entre todas, se utiliza la levadura *Yarrowia lipolytica*.

5 Según un séptimo aspecto, la invención tiene por objeto el uso de un factor de apetencia o de una composición según la invención, para mejorar la apetencia de la alimentación animal.

10 Asimismo, la presente invención da a conocer un alimento para animales que comprende al menos un factor de apetencia o al menos una composición como se ha descrito anteriormente. En particular, el factor de apetencia o la composición se aplica y/o se incorpora a dicho alimento, preferentemente en una cantidad de 1 a 10% en peso aproximadamente, todavía más preferentemente en una cantidad de 2 a 4% en peso aproximadamente.

15 Las figuras a continuación están destinadas a ilustrar sin limitar la presente invención.

- figura 1: esquema de un ejemplo de procedimiento general de preparación de un factor de apetencia según la invención;
- 20 - figura 2: esquema de un ejemplo de procedimiento de preparación de un factor de apetencia según la invención, en laboratorio (ejemplos 1 a 4);
- figura 3: esquema de un ejemplo de procedimiento de preparación de un factor de apetencia según la invención, aplicable a escala industrial (ejemplo 5);
- 25 - figura 4: esquema de un ejemplo de procedimiento de concentración de un factor de apetencia según la invención (ejemplo 7);
- 30 - figura 5: resultados de un ensayo de apetencia de un factor según la invención incorporado en unos alimentos para camarones (ejemplo 11). A: repartición de las cestas en el estanque; B: resultados de la prueba de apetencia.

35 Los ejemplos a continuación, dados a título puramente indicativo, están destinados a ilustrar unos modos de realización y ventajas de la presente invención.

EJEMPLOS

I- Ejemplos de factores de apetencia preparados a escala de laboratorio

40 En la Fig. 2 se esquematiza un procedimiento general de preparación.

I-1- Ejemplo 1: uso de la levadura *Yarrowia lipolytica* y fermentación en presencia de metionina

45 La primera etapa era el precultivo de *Yarrowia lipolytica* en erlenmeyers que contenían 100 ml del medio estéril de la siguiente composición: 0.25 g de extracto de malta (Muntions - UK), 0.2 g de extracto de levadura (Biospringer - Francia), y 1.5 g de glucosa (Merck - Alemania), c.s.p. 100 ml de agua desmineralizada. La inoculación se

realizó bajo campana estéril a partir de criotubos de 1.8 ml, conservados a -80°C y procedentes de cultivos sobre medio estándar YM adicionado con 50% de glicerol al 30%. La población teórica de los criotubos era de $6,5 \cdot 10^7$ células/ml. El pH se ajustó al principio del cultivo a 5,6 con un ácido clorhídrico (Merck), y se dispusieron los erlens sobre una mesa de agitación Novotron (INFORES, Bottmingen, Suiza) a 30°C y a 140 rpm. Se detuvo el precultivo después de 16 horas de incubación. Paralelamente, se preparó la etapa de fermentación principal. Para ello, se autoclavó un fermentador con cuba de vidrio de 5 L (Prélude - GUERIN SA - Francia) que contenía 28 g de extracto de malta (Muntions - UK), 12 g de extracto de levadura (Biospringer - Francia), 3,4 g de H₃PO₄ al 75% (Brenntag - Francia), 150 g de metionina (Adisseo - Francia), 5 ml de antiespumante (Struktol SB2020) y c.s.p. 5 L de agua desmineralizada, a 121°C durante 15 minutos. A la salida de la autoclave, se equipó el fermentador con un condensador de salida de gas con circuito de agua glicolada a 2°C, y el medio se llevó a 30°C. La ventilación se fijó a 0.1 l/min gracias al caudalímetro másico sobre la alimentación del pulverizador de fondo de cuba. La agitación era de 500 rpm, y la regulación de temperatura se fijó a 30°C. El fermentador se inoculó estérilmente con el precultivo (250 ml) de manera que la población al principio de fermentación era de al menos $1 \cdot 10^5$ células/ml. La fermentación se realizó durante 48 horas. El fermentador fue cerrado herméticamente antes de ser puesto en la autoclave para una desactivación a 110°C durante 10 minutos. Después del enfriamiento, se sacó del fermentador el medio de fermentación. Se añadieron bajo agitación 30 g de sorbato de potasio al 50% (Nutrinova - Alemania) y después 47 g de ácido fosfórico al 75%. La composición final del producto era la siguiente: Humedad: 94.3%, Proteínas (Nx6,25) Kjeldhal: 3.5%, MG por hidrólisis: < 1.0%, Azúcares solubles totales: 0.62%, Cenizas: 1.64%, el pH era de 2.9.

I-2- Ejemplo 2: otro ejemplo de utilización de la levadura *Yarrowia lipolytica* y de fermentación en presencia de metionina

Este ejemplo se realizó en las mismas condiciones que las del ejemplo I-1, sólo la composición del medio para la fermentación principal era diferente. Éste contenía 22 g de extracto de malta (Muntions - UK), 15 g de extracto de levadura (Biospringer - Francia), 3,1 g de H₃PO₄ al 75% (Brenntag - Francia), 150 g de metionina (Adisseo - Francia), 5 ml de antiespumante (Struktol SB2020), 180 g de materia grasa láctea anhidra (Beuralia - Francia) y c.s.p. 4 l de agua desmineralizada.

La composición final de producto era la siguiente: Humedad: 90.3%, Proteínas (Nx6,25): 3.4%, MG por hidrólisis: 4.5%, Azúcares solubles totales: 0.7%, Cenizas: 1.7%. El pH era de 2.9.

I-3- Ejemplo 3: utilización de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y fermentación en presencia de metionina

Este ejemplo se realizó en las mismas condiciones que las del ejemplo 1, con un precultivo diferente porque la levadura usada era *Saccharomyces cerevisiae*. El medio estaba constituido por 0.3 g de extracto de malta (Muntions - UK), 0.3 g de extracto de levadura (Biospringer - Francia), 0.5 g de peptona de carne (Merck - Alemania) y 12.5 g de glucosa (Merck - Alemania). El precultivo, cuyo pH se ajustó a 5.6, se mantuvo durante 13 horas a 30°C y a 140 rpm. La fermentación principal se

realizó en las mismas condiciones que en el ejemplo 1. La composición del producto final era: Humedad: 94.9%, Proteínas (Nx6.25) Kjeldhal: 3.8%, MG por hidrólisis: < 1.0%, Azúcares solubles totales: 0.45%, Cenizas: 1.3%. El pH era de 3.

5 **I-4- Ejemplo 4: utilización de la levadura *Zygosaccharomyces rouxii* y fermentación en presencia de cisteína**

10 La levadura *Zygosaccharomyces rouxii* se cultivó sobre un medio de precultivo constituido por 0.3 g de extracto de malta (Munton - UK), 0.3 g de extracto de levadura (Biospringer - Francia), 0.5 g de peptona de carne (Merck - Alemania) y 15 g de glucosa (Merk - Alemania). El precultivo, cuyo pH se ajustó a 5.6, se mantuvo durante 21 horas a 30°C y a 140 rpm. La fermentación principal se realizó en las mismas condiciones que en el ejemplo 1, pero la composición del medio de fermentación era la siguiente: 35 g de extracto de malta (Muntions - UK), 18 g de extracto de levadura (Biospringer - Francia), 15.6 g de NaOH 2M (Merck - Alemania), 413 g de cisteína monohidratada HCl (AMC - UK), 5 ml de antiespumante (Struktol SB2020) y c.s.p. 5 L de agua desmineralizada. La composición del producto final era: Humedad: 88.2%, Proteínas (Nx6.25) Kjeldhal: 7.1%, MG por hidrólisis: < 1.0%, Azúcares solubles totales: 0.83%, Cenizas: 4.3%. El pH era de 2.9.

20 **II- Ejemplo 5: factor de apetencia preparado a escala industrial utilizando la levadura *Yarrowia lipolytica*, mediante fermentación en presencia de metionina**

25 El esquema de la Fig. 3 ilustra un ejemplo de procedimiento de preparación aplicable a escala industrial.

30 La primera etapa era idéntica a la del ejemplo 1. Se toman estérilmente 15 ml del precultivo, los cuales sirvieron de inóculo a un medio estéril contenido en un fermentador de 5 L (Prélude - GUERIN SA - Francia) que contenía 15 g de extracto de malta (Muntions - UK), 15 g de extracto de levadura (Biospringer - Francia), 50 g de dextrosa monohidratada (Tate & Lyle - Bélgica), 12 g de H₃PO₄ al 75% (Brenntag - Francia), 5 ml de antiespumante (Struktol SB2020) y c.s.p. 5 L de agua desmineralizada. La temperatura era de 30°C, la ventilación se fijó a 5L/min., y la agitación a 700 vpm. La fermentación se realizó durante 12 horas. Mientras tanto, se equipó un fermentador con una capacidad de 60 L (Fermentador semi-automático Pierre Guérin Biolafitte tipo "S" 60/100 l). Éste contenía 300 g de extracto de malta, 180 g de extracto de levadura, 152 g de ácido fosfórico al 75%, 2.4 kg de metionina, 80 g de antiespumante Struktol y c.s.p. de agua desmineralizada, para un volumen total de 60 L. El medio se esterilizó a 121°C durante 20 minutos. Después del enfriamiento hasta 30°C, el pH se ajustó a 5.7, y se estableció una presión atmosférica de 0,5 bares, una ventilación de 24 L/min. El condensador de salida de aire se puso en marcha con la consigna de 2°C. La inoculación se realizó en medio estéril con 3 litros de inóculo directamente procedente del fermentador de 5 L con la ayuda de una bomba peristáltica (4 L/h). Después de 5 horas de fermentación, la ventilación bajó hasta 6 L/min. La fermentación se mantuvo así hasta un tiempo total de 48 h. La desactivación se realizó a 110°C durante 10 minutos en el fermentador. Una vez que la temperatura pasó por debajo de 40°C, se añadieron 360 g de sorbato de potasio al 50% y 542 g de ácido fosfórico al 75%. El medio de fermentación se sacó del

fermentador y se almacenó en bidones de 25 kg a temperatura ambiente. La composición del producto era parecida a la del ejemplo 1.

III- Ejemplos de tratamientos particulares

III-1- Ejemplo 6: ilustración de un procedimiento en el que se elimina la biomasa después de la fermentación

El producto que procede del ejemplo 1 se trató de manera que quedara exento de microorganismos y se obtuviera un producto perfectamente claro, translúcido. Para ello, se utilizó un sistema de filtración suministrado por PALL - Francia, soporte acetato de celulosa tipo K80, a la salida del fermentador de 100 l. La superficie del filtro era de 0.2 m². El caudal era de 300 l/h/m². La retención sobre el filtro era de 0.2% de materia seca. La prueba dio lugar a un producto límpido, con la siguiente composición: Humedad: 95,8%, Proteínas (Nx6.25) Kjeldhal: 3.05%, MG por hidrólisis: <1.0%, Azúcares solubles totales: 0.41%, Cenizas: 0.75%.

II-2 ejemplo 7: preparación de un factor de apetencia concentrado líquido

Se realizó un producto apetecible con más materia seca para mayor comodidad de almacenamiento. Se utilizaron 36 kg del producto procedente del ejemplo 1 en un procedimiento de concentración al vacío, esquematizado en la Fig. 4. El concentrador era un concentrador AURIOL, con una capacidad de 50 L, capacidad útil de 20 L (alimentación en continuo). La temperatura de la doble envoltura se fijó a 40°C, para una temperatura de producto de 35°C. Una red de agua enfriada a 10°C aseguraba la condensación del agua evaporada. Se fijó el vacío al máximo (35 mbares). La alimentación en producto se efectuó manualmente, con una media de 50 l/h. La concentración se detuvo de manera que se obtuvo un producto concentrado pero todavía fluido. Se obtuvieron 4.5 kg de producto, con una materia seca igual a 27.5%. El pH era de 3.3.

III-3- Ejemplo 8: preparación de un factor de apetencia concentrado deshidratado

A partir del producto procedente del ejemplo 1, se realizó un polvo sobre un material de marca Alfa-Laval tipo S18 y con una capacidad de 20 a 40 kg de agua evaporada/h. Se mezclaron 15 kg de factor de apetencia líquido con la ayuda de un ultraturrax T50 durante 5 minutos con 6,4 kg de levadura de cerveza (Lorenzetti - Brasil). El secado durante 47 minutos, con una temperatura de entrada de 165°C, la temperatura de salida del polvo de 90°C, llegaron a la obtención de 4.4 kg de polvo, con una humedad del 6%.

IV- Ensayos de apetencia de un ejemplo de factor según la invención

IV-1- Ejemplo 9: ejemplo de un factor aplicado mediante pulverización sobre unos alimentos para perro

La aplicación del factor de apetencia que procede del ejemplo 1 se realizó en forma de pulverización del líquido, por "lotes" con la ayuda de un recubridor Forberg tipo RVC 120.

Se colocaron 25 kg de croquetas estándares para perro a 25°C en el Forberg. Se pulverizó con boquilla 1.662 kg de grasa de manteca de cerdo calentada a 60°C sobre las croquetas durante 50 segundos. La mezcla se efectuó durante 1 minuto. Después, se pulverizó con boquilla 1.108 kg de factor de apetencia calentado a 30°C, durante 60 segundos. La mezcla se mantuvo durante 1 minuto más. Las croquetas revestidas se vaciaron y se acondicionaron en saco para ser llevadas hacia la estructura de ensayo. Se efectuó una codificación durante la realización de los lotes de recubrimiento, y aparecían sobre el saco. El producto A fue recubierto con el factor de apetencia procedente del ejemplo 1. El producto B era el control (recubrimiento con un factor de apetencia a base de carne, procedente de la gamma super-premium de la compañía SPF - Francia). Las condiciones de recubrimiento que se refieren al control eran idénticas a las descritas para la obtención del producto A.

La apetencia del alimento así obtenido se midió en el seno de la estructura PANELIS - Francia, en panel experto, y según un método de ensayo versus. Se repartieron dos comidas durante el día en panel de 36 perros. Se presentaron en forma simultánea 2 alimentos a cada animal, cada alimento anotado A o B, permitiendo cubrir las necesidades alimenticias de cada animal, y estando su posición invertida (derecha o izquierda) de una comida a otra para evitar una elección por lateralización. Se apuntó el 1º alimento hacia el cual se dirigía el animal (1ª elección) y el consumo final de cada alimento. Los resultados se expresan en % relativo de consumo de A o de B. Los resultados se procesaron estadísticamente (Prueba Chi² para la 1ª elección y prueba de student para el ratio de consumo). Se contabilizaron solamente los perros "válidos" que comieron normalmente. Los resultados recopilados en la tabla 1 muestran que los perros prefieren los alimentos recubiertos con el factor de apetencia procedente del ejemplo 1 con respecto a los de control.

TABLA 1

Prueba	1ª elección Ensayo Chi²	Ratio de consumo (% relativo)	Ratio Ensayo student Nivel 5%
Comida 1			
Producto A	17.06 ***	84	***
Control - Producto B		16	
Comida 2			
Producto A	11.65 ***	78	***
Control - Producto B		22	

(***): Significatividad muy alta (p<0,01)

IV-2- Ejemplo 10: ejemplo de un factor de apetencia incorporado en unos alimentos para perro y gato

La utilización del factor de apetencia procedente del ejemplo 1 se realizó "en inclusión" en una base estándar de alimento para perro o en una base estándar de alimento para gato durante la extrusión a nivel de 10% del peso total de la base alimenticia. La extrusión se realizó con la ayuda de una extrusora bitornillo co-rotativa Evolum 53 CLEXTRAL (Francia).

5 El alimento A-CT era el alimento para gato que contenía 10% del factor de
apetencia. Estaba recubierto por grasa de aves de coral a 45°C a nivel del 6% en el
Forberg de tipo RVC 120, a 25°C. El alimento A-CN era el alimento para perro que
10 contenía 10% del factor de apetencia. Estaba recubierto por grasa de manteca de
cerdo calentada a 60°C a nivel del 6% en el Forberg de tipo RVC 120, a 25°C. Los
alimentos T-CT y T-CN eran los alimentos secos de control sin ninguna inclusión de
factor de apetencia para gato y para perro respectivamente, pero recubiertos por grasa
como especificó anteriormente. Se utilizó una misma cantidad de estos alimentos
durante la segunda serie, pero esta vez con un recubrimiento externo de un factor de
15 apetencia Super-Premium SPF a base de proteínas animales, a 30°C, en el Forberg
de tipo RVC 120, a 25°C, en unas condiciones equivalentes a las del ejemplo 9. Los
20 lotes de esta segunda serie se etiquetaron Alimento A-CT-E, Alimento A-CN-E,
Alimento T-CT-E y Alimento T-CN-E.

15 La apetencia de los alimentos así obtenidos se midió en el seno de la
estructura PANELIS - Francia, en panel experto, y según un método de prueba versus.
Se repartieron 2 comidas durante el día en panel de 36 perros, o durante 2 días en
paneles de 40 gatos. Los ensayos se realizaron y se analizaron en las mismas
condiciones que las descritas en el ejemplo 9. Los resultados recapitulados en la tabla
20 2 muestran que los perros y los gatos prefieren los alimentos que contienen el factor
de apetencia procedente del ejemplo 1 con respecto a los de control.

TABLA 2

Panel	Prueba	1ª elección Prueba Chi ²	Ratio de consumo (% relativo)	Ratio Prueba student Nivel 5%
GATERA	Comida 1			
Serie 1	Alimento A-CT	nd	59	*
	Alimento T-CT		41	
	Comida 2			
	Alimento A-CT	nd	57	*
	Alimento T-CT		43	
PERRERA	Comida 1			
Serie 2	Alimento A-CT-E	nd	68	**
	Alimento T-CT-E		31	
	Comida 2			
	Alimento A-CT-E	nd	61	*
	Alimento T-CT-E		33	
PERRERA	Comida 1			
Serie 1	Alimento A-CN	16.20 ***	91	***
	Alimento T-CN		9	
	Comida 2			
	Alimento A-CN	9.14 **	84	***
	Alimento T-CN		16	
PERRERA	Comida 1			
Serie 2	Alimento A-CN-E	5.45 *	75	**
	Alimento T-CN-E		25	
	Comida 2			
	Alimento A-CN-E	4.80 *	70	*
	Alimento T-CN-E		30	

(***): Significatividad muy alta ($p < 0,01$)

(**): Significatividad alta ($p < 0,05$)

(*): Significatividad ($p < 0,1$)

(): No significativo

5

IV-3- Ejemplo 11: ejemplo de un factor de apetencia incorporado en alimentos para camarones

10

El factor de apetencia procedente del ejemplo 1 se incorporó en inclusión a nivel de 3% en un alimento de tipo comercial con la siguiente fórmula: harina de pescado 40%, trigo entero 25%, remolido de trigo 15%, tortas de soja 9.5%, harina de camarones 6%, aceite de pescado 2%, lecitina de soja 1%, mezcla vitamínica 1% y mezcla mineral 0.5%. El alimento obtenido (alimento A) mediante prensado sobre prensa Hobart (Alemania) se comparó con un alimento de fórmula idéntica pero sin factor de apetencia (alimento B = control).

15

20

Los ensayos se desarrollaron con la especie de camarón *P. vanamei* en un criadero (Brasil) en un tanque de 1.000 m². El peso medio de los camarones era de 8 g y la densidad era de 20 animales/m². Los camarones se alimentaron con la ayuda de 4 cestas dispuestas en unos puntos precisos en el tanque. Cada cesta estaba separada en dos partes en las que estaban los alimentos A y B. La figura 5A ilustra la repartición de las cestas en el tanque. Cada alimento se dispuso en las cestas a nivel de 4% de la biomasa por día, en dos distribuciones repartidas a lo largo del día. Los alimentos estaban dispuestos en las cestas a principio de la mañana y de la tarde, y las cestas se recogían al final de la mañana y de la tarde para cuantificar el alimento no ingerido por los camarones. Las operaciones se reiteraron cada día durante 15 días.

25

30

Se calculó el parámetro siguiente para cada día de ensayo: $[(\text{Alimento A ingerido} - \text{Alimento B ingerido}) / \text{Alimento B ingerido}] \times 100$. Los resultados se presentan en la fig. 5B.

35

Al final de los 15 días de ensayo, el consumo del alimento A que contenía el factor de apetencia fue 23% más elevado que el del alimento B sin factor de apetencia. El alimento A que contenía el factor de apetencia fue significativamente preferido al alimento B ($P < 0.05$).

V- Ejemplo 12: composición de factores de apetencia

40

Se preparó un factor de apetencia mezclando el producto procedente del ejemplo 1 con un factor de apetencia Super Premium a base de proteínas animales. Las proporciones de las mezclas se recapitulan en la tabla 3. Las mezclas se realizaron con la ayuda de un mezclador dispersor Ultraturrax T50.

SS

TABLA 3

Mezcla nº	Proporción de factor de apetencia del ejemplo 1 (%)	Proporción de factor de apetencia a base de proteínas animales (%)
1	10	90
2	20	80
3	33	66
4	50	50

5 Se realizaron alimentos para perros mediante pulverización de las mezclas sobre una base de croquetas en Forberg de tipo RVC 120. Se dispusieron 24.955 kg de croquetas estándares para perro a 25°C en el Forberg. Se pulverizaron con boquilla 1.654 kg de grasa de manteca de cerdo calentada a 60°C sobre las croquetas durante 50 segundos. La mezcla se efectuó durante 1 minuto. Después, se pulverizaron con boquilla 831 gramos de factor de apetencia calentado a 30°C durante 60 segundos. La mezcla se mantuvo durante 1 minuto más. Las croquetas recubiertas se vaciaron y se acondicionaron en saco para ser llevadas hacia la estructura de ensayo. El control era el alimento recubierto con el factor de apetencia a base de carne solo que había servido para la mezcla, procedente de la gama super-premium de la compañía SPF (Francia) y en las mismas condiciones.

10 La apetencia de los alimentos así obtenidos se midió en el seno de la estructura PANELIS - Francia, en las condiciones descritas en el ejemplo 9. Los resultados recapitulados en la tabla 4 muestran que los factores de apetencia constituidos por las mezclas hacen que los alimentos sobre los cuales se pulverizan resulten más apetitosos que los controles.

TABLA 4

Prueba	Ratio de consumo (% relativo)	Prueba student Nivel 5%
Comida 1		
Alimento mezclado 1	60	**
Control	40	
Comida 2		
Alimento mezclado 1	58	
Control	41	
Comida 1		
Alimento mezclado 2	68	*
Control	32	
Comida 2		
Alimento mezclado 2	72	**
Control	41	
Comida 1		
Alimento mezclado 3	75	**
Control	25	
Comida 2		
Alimento mezclado 3	70	
Control	30	
Comida 1		
Alimento mezclado 4	76	***
Control	24	
Comida 2		
Alimento mezclado 4	75	**
Control	25	

56

5

(***): Significatividad muy alta ($p < 0,01$)
(**): Significatividad ALTA ($p < 0,05$)
(*): Significatividad ($p < 0,1$)
(): No significativo

REIVINDICACIONES

5 1. Factor de apetencia fermentado destinado a ser añadido a la alimentación animal, caracterizado en que comprende el medio de fermentación obtenido después del cultivo de al menos una levadura, conteniendo dicho medio de fermentación al menos:

- 10 - humedad (H): de 80 a 96% en peso aproximadamente;
 - fracción proteica (FP): de 1.5 a 10.0% en peso aproximadamente;
 - materias grasas (MG): hasta 10% en peso aproximadamente;
 - azúcares (A): de 0.20 a 2.0% en peso aproximadamente; y
 - cenizas (C): de 0.3 a 8.0% en peso aproximadamente.

15 en el que dicha fracción proteica (FP) está desprovista de constituyentes de origen animal.

20 2. Factor de apetencia según la reivindicación 1, caracterizado en que dichos constituyentes de dicha fracción proteica (FP) se eligen entre unas proteínas, unos péptidos, unos aminoácidos, y sus combinaciones.

25 3. Factor de apetencia según la reivindicación 1 ó 2, caracterizado en que dicha fracción proteica (FP) comprende al menos 90% en peso aproximadamente de uno o varios aminoácidos elegidos entre la alanina, la treonina, la lisina, los aminoácidos azufrados, y elegidos entre los aminoácidos azufrados.

30 4. Factor de apetencia según la reivindicación 3, caracterizado en que dicha fracción proteica (FP) comprende al menos 95%, preferiblemente al menos 98%, con mayor preferencia al menos 99% en peso aproximadamente de dicho o dichos aminoácido(s).

35 5. Factor de apetencia según la reivindicación 3 ó 4, caracterizado en que dichos aminoácidos azufrados se eligen entre la metionina y la cisteína, y son preferiblemente unas metioninas.

40 6. Factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado en que presenta un pH comprendido entre 1.6 y 3.5 aproximadamente, preferiblemente un pH comprendido entre 2.6 y 3.2 aproximadamente.

45 7. Factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado en que dicha levadura se elige entre *Yarrowia* sp., *Saccharomyces* sp., *Candida* sp., *Kluyveromyces* sp., *Pichia* sp., *Debaryomyces* sp., *Zygosaccharomyces* sp.

- 5 8. Factor de apetencia según la reivindicación 7, caracterizado en que dicha levadura se elige entre *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida versatilis*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Pichia pastoris*, *Debaryomyces hansenii*, *Zygosaccharomyces rouxii*.
- 10 9. Factor de apetencia según la reivindicación 8, caracterizado en que dicha levadura es *Yarrowia lipolytica*.
- 15 10. Factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado en que se presenta en forma líquida lista para su uso.
- 20 11. Factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, como producto intermedio en la preparación de un factor de apetencia fermentado concentrado.
- 25 12. Factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado en que se aplica y/o se incorpora a dicha alimentación animal.
- 30 13. Factor de apetencia según la reivindicación 12, caracterizado en que se usa en asociación con uno o varios factores de apetencia tales como factores de apetencia de origen animal y/o vegetal.
- 35 14. Factor de apetencia según la reivindicación 12 ó 13, caracterizado en que se usa en una cantidad del 1 a 10% en peso aproximadamente, preferiblemente en una cantidad del 2 al 4% en peso aproximadamente.
- 40 15. Factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, caracterizado en que dicha alimentación animal está destinada a las mascotas.
- 45 16. Factor de apetencia fermentado concentrado susceptible de ser obtenido mediante concentración y/o deshidratación de al menos un factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15.
17. Composición de factores de apetencia destinada a ser añadida a la alimentación animal, caracterizada en que comprende al menos un factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16.
18. Procedimiento de preparación de un factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, que comprende al menos las siguientes etapas:

59

- 5 a) precultivo de al menos una levadura en un medio de crecimiento estándar, a una temperatura comprendida entre 22°C y 32°C aproximadamente, durante 6 a 25 horas aproximadamente;
- 10 b) inoculación de un medio de fermentación que contiene uno o varios aminoácidos, con la ayuda de dicho precultivo a un porcentaje de al menos $1 \cdot 10^5$ células/ml aproximadamente;
- 15 c) cultivo del medio de fermentación inoculado durante 12 a 72 horas aproximadamente, a una temperatura comprendida entre 20°C y 32°C aproximadamente;
- d) detención de la fermentación; y
- e) recuperación del medio de fermentación final útil como factor de apetencia.
- 20 19. Procedimiento según la reivindicación 18, caracterizado en que el medio de fermentación usado en la etapa b) comprende aproximadamente de 2 a 10% en peso, preferiblemente de 3 a 5% en peso, de uno o varios aminoácidos.
- 25 20. Procedimiento según la reivindicación 18 ó 19, caracterizado en que dicho o dichos aminoácidos se eligen entre la alanina, la treonina, la lisina, los aminoácidos azufrados, y se seleccionan preferiblemente entre los aminoácidos azufrados.
- 30 21. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 18 a 20, caracterizado en que la etapa d) se realiza mediante desactivación térmica de las levaduras.
- 35 22. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 18 a 21, caracterizado en que, antes de la etapa e), dicho medio de fermentación es liberado de la biomasa.
- 40 23. Procedimiento según la reivindicación 22, caracterizado en que las etapas d) a e) se realizan simultáneamente, preferiblemente mediante filtración esterilizante.
- 45 24. Procedimiento de mejora de la apetencia de la alimentación animal, que comprende la adición de al menos un factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o de al menos una composición según la reivindicación 17, a dicha alimentación animal.

25. Utilización de al menos una levadura para preparar un factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16.

- 5 26. Utilización según la reivindicación 25, caracterizado en que dicha levadura es *Yarrowia lipolytica*.

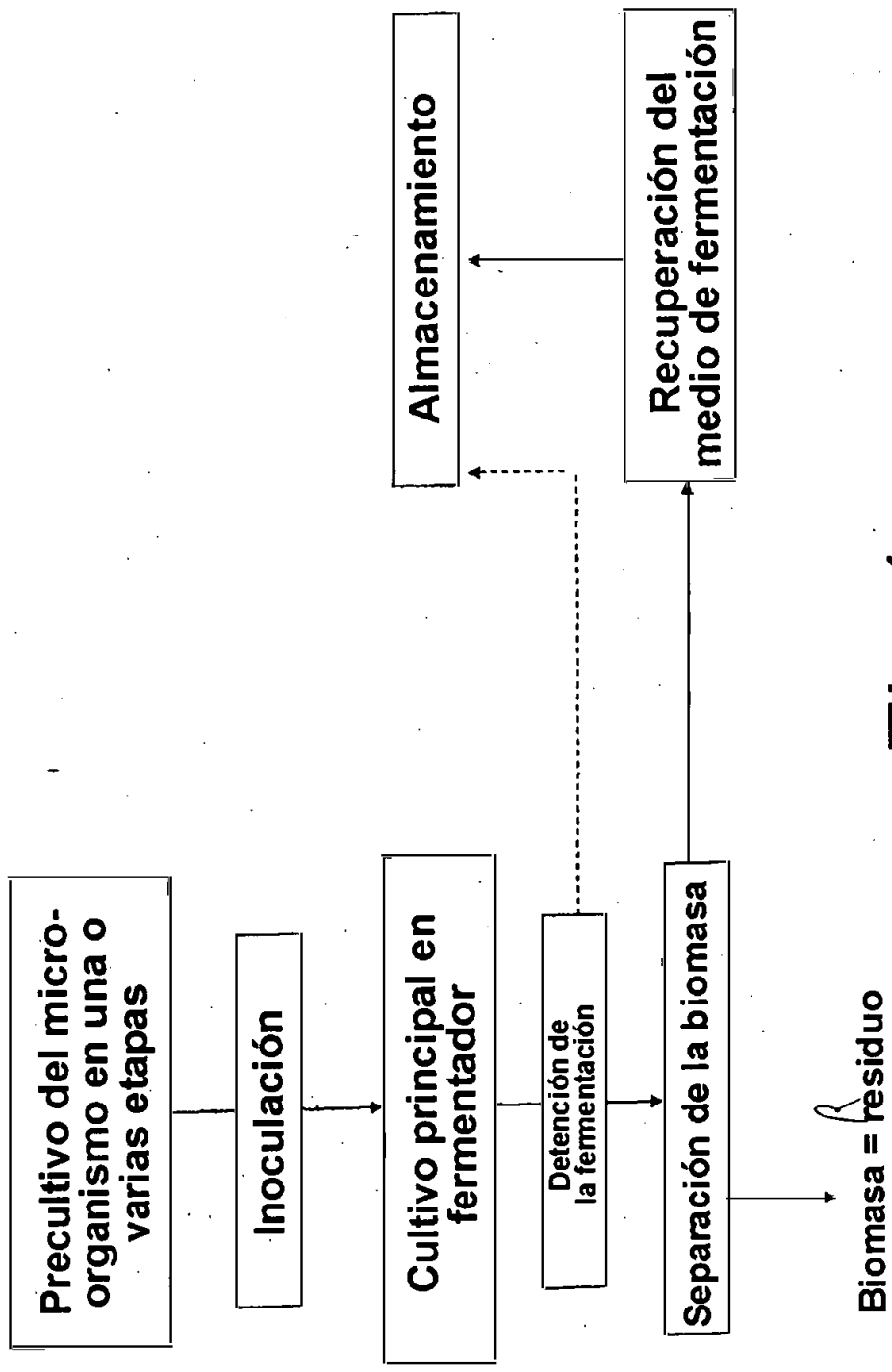


Fig-1

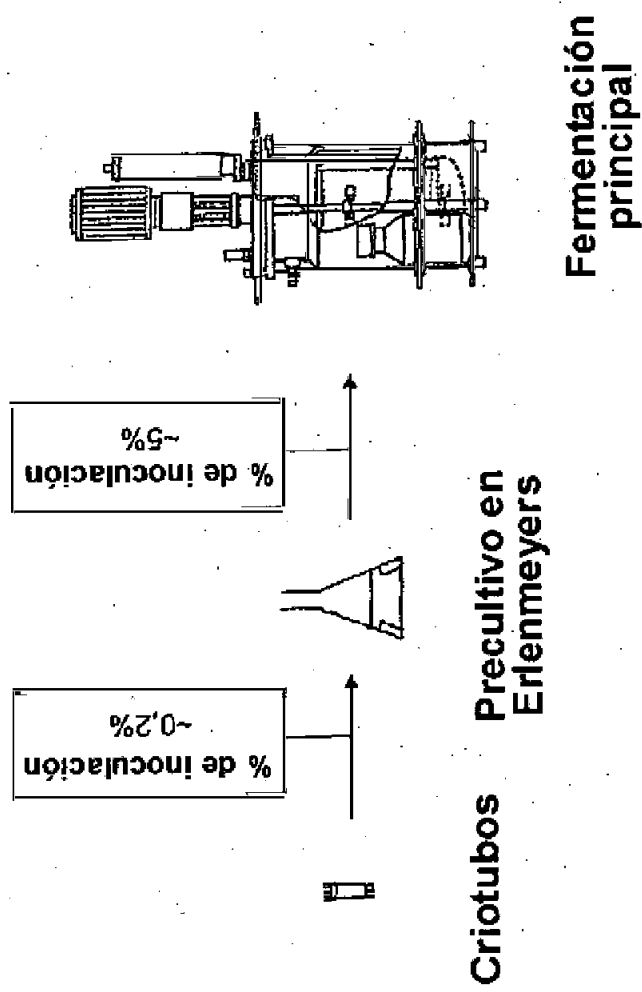


Fig-2

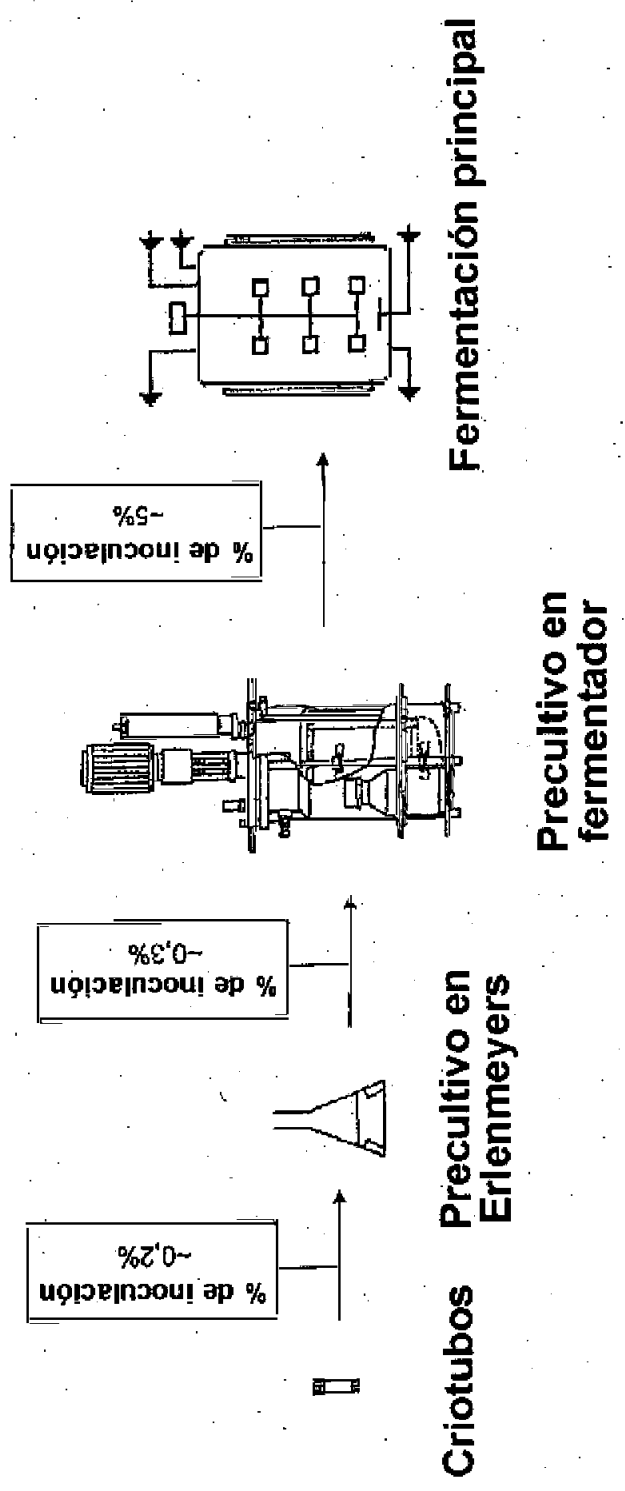


Fig-3

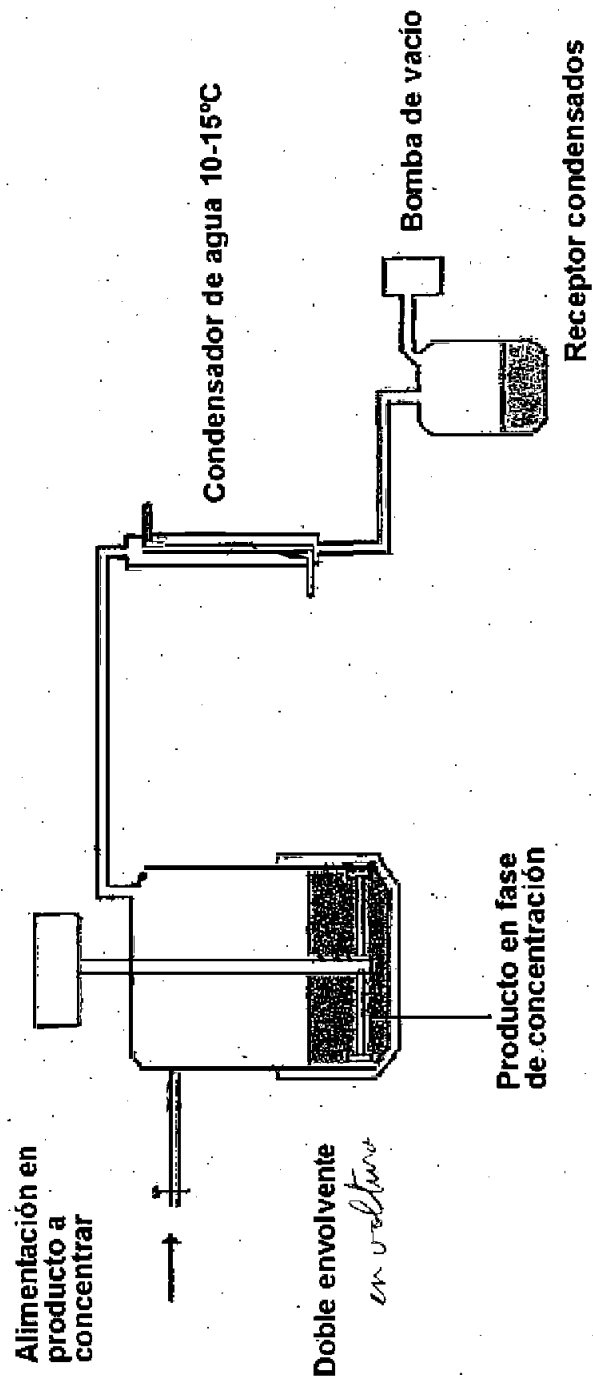
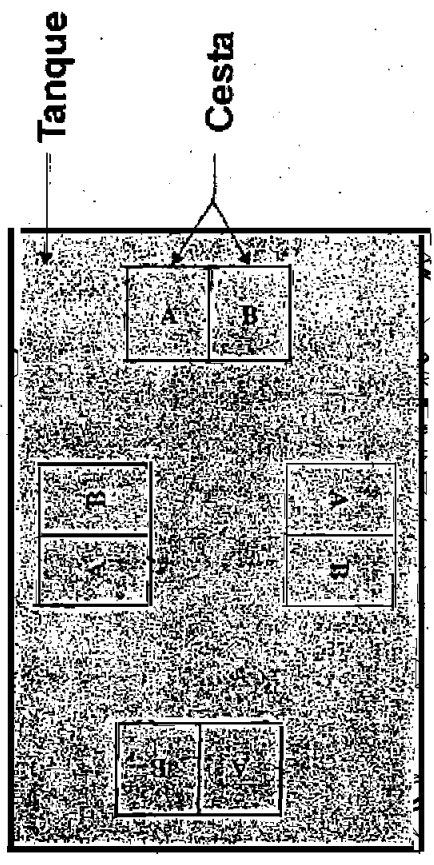


Fig-4



Alimento A = Alimento B +
3% de factor de apetencia

Alimento B = control

Fig-5A

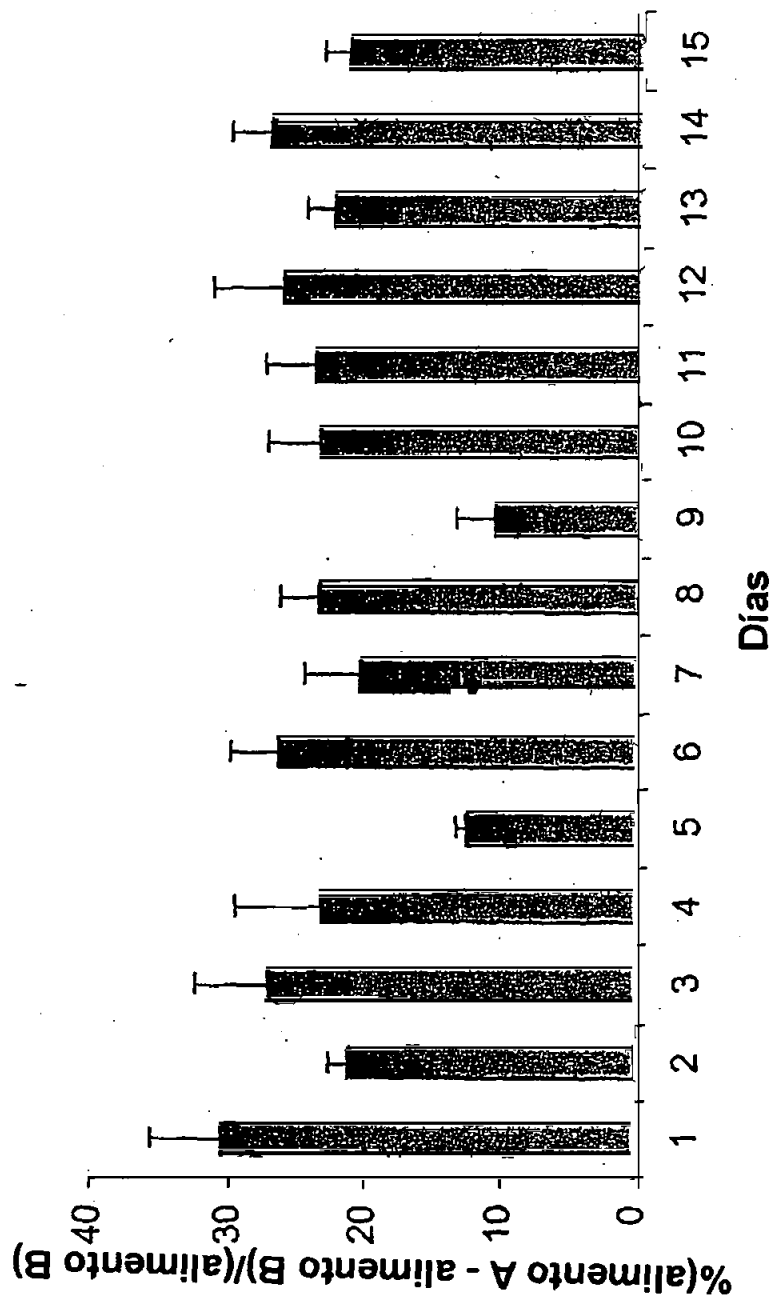


Fig-5B

58

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/064474A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A23K1/00 A23K1/18

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)
A23K

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, FSTA, BIOSIS, MEDLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 039 687 A (WEYN ET AL) 2 August 1977 (1977-08-02) cited in the application the whole document	1-26
A	US 4 800 093 A (HOGAN ET AL) 24 January 1989 (1989-01-24) cited in the application the whole document	1-26
A	GB 2 385 767 A (* NORFERM DA) 3 September 2003 (2003-09-03) cited in the application the whole document	1-26
A	US 5 000 964 A (MCCAULEY, III ET AL) 19 March 1991 (1991-03-19) the whole document	1-26
-/--		

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family 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
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

23 August 2006

Date of mailing of the International search report

04/09/2006

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

Vernier, F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/064474

68

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GB 1 584 539 A (RALSTON PURINA CO) 11 February 1981 (1981-02-11) the whole document	1-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2006/064474

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4039687	A	02-08-1977	BE 819267 A1	16-12-1974
			CA 1044943 A1	26-12-1978
			DE 2442557 A1	13-03-1975
			DK 471674 A	05-05-1975
			FR 2242935 A1	04-04-1975
			GB 1474481 A	25-05-1977
			IT 1018994 B	20-10-1977
			JP 50051872 A	08-05-1975
			NL 7411860 A	11-03-1975
			SE 7411073 A	10-03-1975
US 4800093	A	24-01-1989	NONE	
GB 2385767	A	03-09-2003	NONE	
US 5000964	A	19-03-1991	NONE	
GB 1584539	A	11-02-1981	AT 355901 B	25-03-1980
			AT 347278 A	15-08-1979
			AU 518400 B2	01-10-1981
			AU 3603578 A	15-11-1979
			BE 867130 A1	18-09-1978
			CH 632904 A5	15-11-1982
			DE 2821197 A1	23-11-1978
			DK 213078 A	17-11-1978
			FI 781524 A	17-11-1978
			FR 2390907 A1	15-12-1978
			JP 53149579 A	27-12-1978
			LU 79648 A1	06-11-1978
			NL 7804375 A	20-11-1978
			NO 781702 A	17-11-1978
			SE 425454 B	04-10-1982
			SE 7805514 A	17-11-1978

(21) N° de solicitud:					(51) Int Cl:	A23K 001/000	
22) Fecha de solicitud:					(71) Solicitante(s)	SPECIALITES PET FOOD	
(30) Prioridad	(31)	Prioridad	(32)	Fecha	(33)	País	
		0508451		09/08/2005		FR	
					(72) Inventor(es)	AURÉLLE DE RATULD Y OTROS	
					(74) Apoderado:	EMILIO FERRERO	
(85)	Fecha limite inicio fase nacional: 08/03/2008					(87)	Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT					Fecha:	15/02/2007
	Fecha de presentación de la solicitud: 20/07/2006					N° publicación:	WO 2007/017356 A1
No. de solicitud PCT/EP2006/064474							
(54) Titulo: FACTOR DE APETENCIA FERMENTADO Y DESPROVISTO DE PROTEINAS ANIMALES PARA ANIMALES							

Reivindicación(es):

1. Factor de apetencia fermentado destinado a ser añadido a la alimentación animal, caracterizado porque comprende el medio de fermentación obtenido después del cultivo de al menos una levadura, conteniendo dicho medio de fermentación al menos:

- humedad (H): de 80 a 96% en peso aproximadamente;
- fracción proteica (FP): de 1,5 a 10,0% en peso aproximadamente;
- materias grasas (MG): hasta 10% en peso aproximadamente;
- azúcares (A): de 0,20 a 2,0% en peso aproximadamente; y
- cenizas (C): de 0,3 a 8,0% en peso aproximadamente.

en el que dicha fracción proteica (FP) está desprovista de constituyentes de origen animal.

2. Factor de apetencia según la reivindicación 1, caracterizado porque dichos constituyentes de dicha fracción proteica (FP) se seleccionan de entre unas proteínas, unos péptidos, unos aminoácidos, y sus combinaciones.

3. Factor de apetencia según la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque dicha fracción proteica (FP) comprende al menos 90% en peso aproximadamente de uno o varios aminoácidos seleccionados de entre la alanina, la treonina, la lisina, los aminoácidos azufrados, y se seleccionan preferentemente de entre los aminoácidos azufrados.

4. Factor de apetencia según la reivindicación 3, caracterizado porque dicha fracción proteica (FP) comprende al menos 95%, preferentemente al menos 98%, todavía más preferentemente al menos 99% en peso aproximadamente de dicho o dichos aminoácido(s).

5. Factor de apetencia según la reivindicación 3 ó 4, caracterizado porque dichos aminoácidos azufrados se seleccionan de entre la metionina y la cisteína, y son preferentemente unas metioninas.

6. Factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque presenta un pH comprendido entre 1,6 y 3,5 aproximadamente, preferentemente un pH comprendido entre 2,6 y 3,2 aproximadamente.

7. Factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque dicha levadura se selecciona de entre *Yarrowia sp.*, *Saccharomyces sp.*, *Candida sp.*, *Kluyveromyces sp.*, *Pichia sp.*, *Debaryomyces sp.*, *Zygosaccharomyces sp.*

8. Factor de apetencia según la reivindicación 7, caracterizado porque dicha levadura se selecciona de entre *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida versatilis*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Pichia pastoris*, *Debaryomyces hansenii*, *Zygosaccharomyces rouxii*.

9. Factor de apetencia según la reivindicación 8, caracterizado porque dicha levadura es *Yarrowia lipolytica*.

10. Factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque se presenta en forma líquida lista para su uso.

11. Factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, como producto intermedio en la preparación de un factor de apetencia fermentado concentrado.

12. Factor de apetencia según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado porque se aplica y/o se incorpora a dicha alimentación animal.

13. Factor de apetencia según la reivindicación 12, caracterizado porque se usa en asociación con uno o varios factores de apetencia tales como unos factores de apetencia de origen animal y/o vegetal.

14. Factor de apetencia según la reivindicación 12 ó 13, caracterizado porque se usa en una cantidad de 1 a 10% en peso aproximadamente, preferentemente en una cantidad de 2 a 4% en peso aproximadamente.

71

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-024622- -00000-0000

Fecha: 2008-03-07 16:52:24 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 71

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 16,551
FECHA : FEBRERO 25 DE 2008

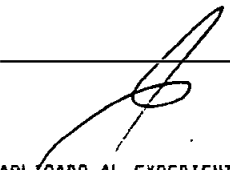
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	2808482	25/02/2008	40,274,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
		TOTAL :	\$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

0010 16258-841001-4



No. 08-024622- -00000-0000

Fecha: 2008-03-07 16:52:24

Dep. 2020 NUECREACIONI

Tra. 11 PATENTEIYII

Eva: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 71

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION

☒MODELO DE UTILIDAD ☐

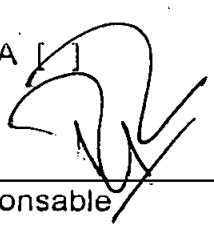
- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- ◆ Descripción de la invención ☒
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒

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

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
FERRERO EMILIO

REFERENCIA	Radicación No.	08 24622
	Solicitud internacional	PCT/EP2006/064474
	Fecha inicio fase nacional	09/03/2008
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	4648

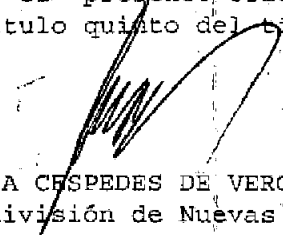
Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se 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 Única No.10 de 2001.


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

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 04 ABR 2008
jfernand