

Doctora:
EDNA MARCELA RAMÍREZ
Directora de Nuevas Creaciones
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

REFERENCIA: Expediente NC2017/0003230 PATENTE DE INVENCION
ASUNTO: Respuesta a 2º Requerimiento Artículo 45.

**"MÉTODO DE OBTENCIÓN DE HARINA PROTEICA HIDROLIZADA DE VÍSCERAS
DE TRUCHA CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA PARA
PROCESOS DE ALIMENTACIÓN ANIMAL, Y HARINA OBTENIDA"**

FELIPE EDUARDO FIGUEROA CARDOZO, identificado como aparece al pie de mi firma, abogado en ejercicio, portador de la Tarjeta Profesional No. 140.243 expedida por el Consejo Superior de la Judicatura, actuando en nombre y representación de la UNIVERSIDAD DEL CAUCA, solicitante de la patente de invención radicada en el Expediente de la referencia, procedo a dar respuesta al Oficio N° 9123 de 29 de julio de 2020 en los términos que se exponen a continuación:

1. Reivindicaciones.

Se presenta a consideración un nuevo capítulo reivindicatorio con siete (7) cláusulas, el cual se encuentra completamente sustentado en el contenido de la solicitud originalmente presentada, cumpliendo así con lo establecido por el artículo 34 de la Decisión Andina 486 de 2000.

En la modificación del capítulo reivindicatorio se realiza la caracterización de la harina proteica hidrolizada, a partir del proceso reclamado. A su vez, se incluye en la reivindicación independiente 1, la característica técnica fundamental del método, relacionada con disponer la mezcla conformada por vísceras y ácido fórmico en un cuarto frío a una temperatura de 15°C **durante 144 horas**, para lograr la mayor capacidad antioxidante y una importante capacidad antimicrobiana frente a cepas patógenas que afectan cultivos de tilapia.

4. DEL EXAMEN DE PATENTABILIDAD.

4.1. Nivel Inventivo.

La respetada examinadora considera que los siguientes documentos son relevantes para afectar la patentabilidad de la presente solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	Goosen, Aquaculture Research	"Rainbow trout silage as immune stimulant and feed ingredient in diets for Mozambique tilapia (<i>Oreochromis mossambicus</i>)"	3 de junio de 2014
D3	Raghunath, Journal of Agricultural and Food Chemistry	"Influence of pH on the proteinase complement and proteolytic products in rainbow trout viscera silage"	1990

En estas condiciones, como consecuencia del análisis expuesto en el Oficio objeto de respuesta, la respetada Examinadora concluye que los documentos D1 y D3 afectan el nivel inventivo de las reivindicaciones presentadas.

En este contexto, se observa que el documento D1 tiene como objetivo determinar el potencial del ensilaje de vísceras de trucha arco iris como estimulante inmune e ingrediente alimenticio para la tilapia de Mozambique y establecer si el ácido fórmico utilizado durante la preparación del ensilaje, contribuyó a algún efecto.

Se evaluaron cuatro dietas: una dieta de referencia (R), una que contenía 6,5 g kg⁻¹ de ácido fórmico (FA) y dos dietas de ensilaje que contenían 160 g kg⁻¹ (SL, baja inclusión) y 285 g kg⁻¹ (SH, alta inclusión) ensilaje. Se concluye en D1 que el ensilaje de vísceras de trucha arco iris puede estimular la inmunidad celular no específica de *Oreochromis mossambicus*, y que los productos de hidrólisis proteica (y no el ácido fórmico) son responsables de la estimulación. El ensilaje también puede servir como fuente de proteínas dietéticas y aminoácidos esenciales en las dietas de tilapia. Sin embargo, tanto el rendimiento del crecimiento de los peces como la mejora de la inmunidad celular dependen del nivel de inclusión del ensilaje (Resumen Documento D1).

A diferencia de D1, la presente solicitud tiene como objeto desarrollar un método controlado para obtener un producto estable rico en proteínas a partir de vísceras de trucha, con capacidad antioxidante y antimicrobiana, el cual se define con etapas, condiciones y parámetros específicos. Adicionalmente, la presente invención tiene como uno de los objetos de protección, el producto obtenido por el anterior método, es decir, la harina proteica hidrolizada de vísceras de trucha, la cual también presenta características específicas que no están definidas en el documento D1.

En este sentido, las etapas consideradas como novedosas por la respetada Examinadora en el Oficio objeto de respuesta, son la concentración de ácido fórmico, el ajuste del pH entre 3,0 y 3,2, moler y tamizar, al igual que las condiciones de tiempo, frecuencia y temperatura, bajo las cuales se llevan a cabo las etapas de agitación manual, separación y secado, respectivamente.

En consecuencia, las diferencias advertidas por la respetada Examinadora inciden en que el producto obtenido, a partir del método reivindicado, configure una harina proteica hidrolizada, con capacidad antioxidante y antimicrobiana, y no una formulación dietética como la divulgada por D1.

Así mismo, se observa que en la etapa de secado de D1 es otro producto el que se compara, dado que la composición de cada una de las dietas experimentales tiene una dieta basal y solo las dietas SL y SH tienen una parte del ensilaje de trucha.

Por lo anterior, se hace necesaria la implementación de un proceso adicional de extrusión¹ a 70°C a la formulación dietaria, operación unitaria que es diferente al secado. Luego, el producto extruido es secado a 55°C, sin mencionar el tiempo de secado.

Por otra parte, tal como se expuso en la memoria descriptiva, el método cuya protección se solicita tiene una duración de 144 horas, a una temperatura de 15 grados Celsius, para lograr la mayor capacidad antioxidante y una importante capacidad antimicrobiana frente a cepas patógenas que afectan cultivos de tilapia. Una vez finalizado el periodo de tiempo mencionado, se realiza la separación de la fase grasa.

A diferencia de lo anterior, el documento D1, menciona que la fase grasa se separa con centrifugación después de 37 días, con lo cual obtienen la materia prima rica en proteína para realizar los ensayos.

En consecuencia, se observa otra diferencia marcada respecto a D1 y el método objeto de la invención, dado que en la presente solicitud se reporta con precisión la combinación de tiempo y temperatura para la obtención un producto con capacidad antioxidante y antimicrobiana, siendo el grado de hidrólisis una variable de respuesta clave, derivada de la combinación de dichas condiciones.

En este punto, resulta necesario resaltar que el efecto inesperado de la presente invención se logró a través de una serie de experimentos y desarrollos realizados en los laboratorios de la entidad solicitante (Universidad del Cauca), para identificar las condiciones específicas de

¹ La extrusión es un proceso usado para crear objetos con un perfil de sección transversal fija en donde un material es empujado o jalado a través de un dado con la sección transversal deseada. Las dos ventajas principales de este proceso sobre otros procesos de fabricación son su capacidad de crear secciones transversales muy complejas y trabajar con materiales frágiles (quebradizos) ya que el material sólo se somete a esfuerzos de compresión y de fricción. También forma partes con un excelente acabado superficial. <https://todoenpolimeros.com/procesos-de-extrusion/>

concentración de reactivos, tiempos, pH's, revoluciones por minuto (rpm), temperaturas y tiempos, mediante la implementación de equipos con tecnología de punta, adquiridos mediante la financiación del Fondo CTel del Sistema General de Regalías, Proyecto ID 3883 SGR "Alternativas para el uso de subproductos derivados de la agroindustria piscícola".

En este contexto, la implementación de los diferentes experimentos por parte de los inventores conllevó a la obtención de un método inventivo, cuyas características de control, permiten obtener un producto estable, rico en proteínas, con capacidad antioxidante y antimicrobiana.

Al respecto, con el ánimo de profundizar en los efectos técnicos logrados mediante la implementación del método cuya protección se solicita, se exponen a continuación los resultados de diferentes experimentos realizados dentro del marco del referido Proyecto ID 3883 financiado por el SGR:

- **Digestibilidad *in vivo*, digestibilidad *in vitro* y parámetros zootécnicos de dietas con inclusión de harina proteica hidrolizada con capacidad antioxidante y antimicrobiana de vísceras de trucha en tilapia roja.**

Se estudió la digestibilidad *in vivo* de diferentes niveles de harina proteica hidrolizada de vísceras de trucha con capacidad antioxidante y antimicrobiana (HPHVT). Se utilizó una dieta de referencia T1 (control - sin inclusión de HPHVT), y dos dietas a las cuales se adicionó HPHVT en base seca en proporciones de 10% (90% de dieta control + 10% de HPHVT) y 20% (80% de dieta control + 20% de HPHVT).

Para la evaluación de la digestibilidad de las dietas balanceadas con inclusión de HPHVT, se formularon tres dietas; T1 (control-Alimentación convencional); T2 (10% de inclusión HPHVT) y T3 (20% de inclusión HPHVT). Los tratamientos y las variables de respuestas evaluados para determinar la calidad nutricional de las dietas formuladas con HPHVT de vísceras de Trucha, se presentan en la Tabla 1.

Tratamientos	Descripción	Variables de respuesta
T1	Ración alimenticia sin inclusión de HPHVT de residuos de pescado	-Digestibilidad aparente total - DAT -DAMS -DAPC -DAEE -DAEB -DAFC -ACEN -Absorción de Ca y P -DIVMS -GP, CA, ICA, IT

Tabla 1. Tratamientos y variables de respuestas para determinar la calidad nutricional de las dietas balanceadas con HPHT

Para la determinación de la evaluación se trabajó con juveniles reversados de tilapia roja (*Oreochromis* spp). Las variables analizadas en el HPHVT y a las dietas balanceadas con HPHVT fueron; digestibilidad aparente de la materia seca (DAMS), proteína cruda (DAPC), extracto etéreo (DAEE), fibra cruda (DAFC), energía bruta (DAEB) y la absorción aparente de cenizas (ACEN), calcio (ACa), fósforo (AP), digestibilidad in vitro de materia seca, ganancia de peso (GP), conversión alimenticia (CA), índice de conversión alimenticia (ICA), incremento de talla (IT).

Nivel de HPHVT evaluado						
Variable (%)		10 %		20 %		ANOVA Pr > F
DAMS	94,50 ±	3,09 ^b	93,81 ±	1,48 ^b	0,0132	
DAEE	83,30 ±	0,75 ^c	90,97 ±	0,65 ^b	0,0001	
DAPC	87,80 ±	0,94 ^b	95,34 ±	0,39 ^a	0,0001	
DAFC	33,19 ±	3,50 ^c	40,61 ±	2,23 ^b	0,0001	
DAEB	82,69 ±	1,67 ^c	88,27 ±	0,51 ^b	0,0001	
ACEN	56,41 ±	2,16 ^c	61,70 ±	1,69 ^b	0,0001	
ACa	32,50 ±	2,03 ^c	45,94 ±	1,74 ^b	0,0001	

AP	43,96 ±	0,89 ^c	55,80 ±	2,56 ^b	0,0001
----	---------	-------------------	---------	-------------------	--------

Letras diferentes en la misma fila, difieren estadísticamente ($P < 0,05$) y ($P < 0,01$).

Tabla 2. Coeficientes de digestibilidad aparente de nutrientes, energía y absorción aparente de minerales de la HPHVT en Tilapia roja.

Variable	T1 (Testigo)			T2 (10%)			T3 (20%)			ANOVA Pr > F
DAMS	95,84	±	0,34 ^b	97,97	±	0,42 ^a	98,30	±	0,29 ^a	0,0001
DAEE	94,77	±	1,92 ^a	95,00	±	0,61 ^a	95,93	±	0,16 ^a	0,1166
DAPC	83,71	±	1,81 ^c	86,19	±	0,67 ^b	88,51	±	0,05 ^a	0,0001
DAFC	18,01	±	0,27 ^d	23,14	±	0,43 ^c	36,35	±	0,34 ^b	0,0001
DAEB	80,40	±	1,27 ^d	84,91	±	0,55 ^b	86,26	±	0,39 ^a	0,0001
ACEN	30,15	±	3,82 ^c	53,44	±	2,60 ^a	52,19	±	2,92 ^a	0,0001
ACa	58,19	±	5,76 ^b	67,40	±	6,11 ^a	70,14	±	2,73 ^a	0,0051
AP	61,68	±	1,85 ^c	66,33	±	1,23 ^b	69,04	±	0,22 ^a	0,0001

Letras diferentes en la misma fila, difieren estadísticamente ($P < 0,05$) y ($P < 0,01$).

Tabla 3. Coeficientes de digestibilidad aparente de nutrientes, energía y absorción aparente de minerales de dietas balanceadas con HPHV.

Tratamientos	DIVMS (%)		
T1	96,67	±	0,22 ^d
T2	98,55	±	0,16 ^b
T3	98,99	±	0,16 ^a

Letras diferentes en la misma columna, difieren estadísticamente ($P < 0,01$).

Tabla 4. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) de HPHV

Variable	T1 (Control)			T2 (10%)			T3 (20%)			ANOVA Pr > F
Peso inicial (g)	140,17	±	7,52a	137,44	±	4,83a	139,08	±	9,82a	0,8249
Peso final (g)	208,63	±	7,61b	217,51	±	4,77a b	229,02	±	14,10 a	0,0005
GP (g)	68,46	±	3,52c	80,75	±	4,19b	89,94	±	5,16a	0,0001

Letras diferentes en la misma fila, difieren estadísticamente ($P < 0,01$).

Tabla 5. Valores medios de ganancia de peso (GP) obtenidos en tilapia roja, alimentadas con dietas balanceadas a partir de la HPHVT durante 60 días.

Variable	T1 (Control)			T2 (10%)			T3 (20%)			ANOVA Pr > F
GP (g)	68,46	±	3,52c	80,75	±	4,19 b	89,94	±	5,16 a	0,0001
CA (gMS ¹ pez ⁻¹)	142,39	±	4,80a	142,10	±	6,38 a	136,81	±	8,65 a	0,0003
ICA	2,08	±	0,08a	1,76	±	0,10 b	1,52	±	0,05 b	0,0003

Letras diferentes en la misma fila, difieren estadísticamente ($P < 0,01$).

¹MS (Materia seca).

Tabla 6. Valores medios de consumo de alimento (CA) e índice de conversión alimenticia (ICA), obtenidos en tilapia, alimentadas con dietas balanceadas a partir de HPHVT durante 60 días.

Variable	T1 (Control)			T2 (10%)			T3 (20%)			ANOVA Pr > F
Talla inicial (cm)	19,63	±	0,42a	19,40	±	0,18 a	19,53	±	0,40 a	0,7618
Talla final (cm)	22,61	±	0,80a	22,58	±	0,21 a	22,98	±	0,21 a	0,0694
IT (cm)	2,98	±	0,76ba	3,18	±	0,16 a	3,45	±	0,37 a	0,0411

Letras diferentes en la misma fila, difieren estadísticamente ($P < 0,01$).

Tabla 7. Valores medios de incremento de talla (IT) obtenidos en tilapia roja, alimentadas con dietas balanceadas a partir de la HPHVT durante 60 días.

Los experimentos expuestos evidencian que la proteína hidrolizada, obtenida por el método objeto de reclamación, aporta beneficios para el crecimiento de especies respecto a productos de alimentación convencional. En consecuencia, es una materia prima para alimentación de especies y no un suplemento dietario. El método de la presente invención logra obtener las condiciones apropiadas para un producto termo-sensible, como son las proteínas de la harina proteica hidrolizada, configurando un producto con un alto porcentaje de proteínas de 69%, resultado que, a la fecha, no se había obtenido en el Estado de la técnica, teniendo en cuenta, por ejemplo, que el porcentaje de proteína del ensilaje de D1 es solo del 10,7%².

En este punto, se resalta que el método revelado en la presente invención enseña una forma conveniente de producir un producto valioso, como lo es la harina proteica hidrolizada con un alto valor de proteína, con capacidad antioxidante y antimicrobiana, susceptible de aplicación en procesos de alimentación animal.

En virtud de lo expuesto en precedencia de manera respetuosa consideramos que la materia reclamada en la reivindicación 1 no puede ser considerada como obvia, teniendo en cuenta, tanto que los documentos citados en el estado del arte solucionan problemas diferentes al revelado en la presente invención, como que las características técnicas del método distan ampliamente de los documentos citados.

En todo caso, con el ánimo de alejar, en mayor medida, la materia reclamada en la presente invención, se incluye en el nuevo capítulo reivindicatorio la característica técnica del tiempo de duración del proceso (144 horas), modificación que se sustenta en la materia originalmente divulgada en el capítulo descriptivo.

² ++ Análisis aproximado del ensilaje de trucha: humedad 794 g kg-1 ceniza 10 g kg-1 Grasa cruda 63 g kg-1 y **proteína cruda 107 g kg-1**, (Goosen, 2016, p. 331).

En estas condiciones, se presenta un nuevo capítulo reivindicatorio con siete cláusulas, ajustando la materia a reclamar y atendiendo todas las recomendaciones presentadas por la respetada Examinadora.

Las modificaciones efectuadas al capítulo reivindicatorio cumplen a cabalidad con lo estipulado por el Artículo 34 de la Decisión Andina 486 de 2000, en el sentido que la modificación que se presenta a consideración, de ninguna manera implica ampliación de la protección correspondiente a la divulgación contenida en la solicitud original, y se presentan con el ánimo de brindar mayor claridad, y concisión a la materia objeto de reclamación, así como de alejar la misma del estado de la técnica citado por la respetada Examinadora.

En virtud de lo anteriormente expuesto, consideramos que las objeciones presentadas por la respetada Examinadora en su examen de fondo han sido resueltas y por consiguiente solicito respetuosamente que el Despacho tenga por cumplidos los requisitos de patentabilidad de la presente solicitud.

3. Anexos.

- i) Copia del nuevo capítulo reivindicatorio compuesto por siete (7) cláusulas que reemplaza el anteriormente presentado.

4. Petición.

En virtud de lo anteriormente expuesto, ruego a usted proceder a estudiar los documentos allegados al presente escrito y, en consecuencia, conceder el título de patente a la invención tramitada bajo el Expediente de la Referencia.

Atentamente,


FELIPE EDUARDO FIGUEROA CARDOZO

C.C. 16.940.582

T.P. 140243 C.S. de la J.

