

Señores
DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Bogotá, D.C.

Re.: Expediente No. NC2020/0006844
Fase nacional de Solicitud PCT
NCH CORPORATION

En relación con el expediente de la referencia y dando cumplimiento a la última providencia recaída sobre este asunto por medio del presente escrito me permito manifestarles lo siguiente:

1. De conformidad con precisas instrucciones de la sociedad solicitante, adjunto un nuevo capítulo reivindicatorio el cual ha sido revisado y corregido.
Hemos modificado las reivindicaciones de composición para abordar las cuestiones de claridad planteadas. También hemos modificado la reivindicación de composición 1 para requerir que todos los ingredientes se encuentren en forma sólida o en polvo y para requerir (1) fosfato monosódico y/o fosfato disódico como amortiguadores y (2) cloruro de potasio.

2. Objeciones del Examinador sobre el Nivel Inventivo

D1 WO2016022779

D1 enseña varios ingredientes germinantes para usar en aplicaciones industriales y agrícolas, incluidos los alimentos, pero no enseña ni sugiere ninguna composición probiótica en forma de polvo o sólida para consumo humano que comprenda los ingredientes específicos de acuerdo con la reivindicación 1 o el método con ingredientes específicos y calentamiento de acuerdo con la reivindicación 13.

D1 no enseña ni sugiere el uso de cloruro de potasio, el cual es requerido en la reivindicación 1. D1 tampoco enseña ni sugiere el uso de fosfato monosódico y/o fosfato disódico como lo requiere la reivindicación 1. Más bien, D1 enseña a usar fosfatos de potasio como amortiguadores. Además, D1 no enseña una composición probiótica que incluya los amortiguadores específicos y el cloruro de potasio en forma sólida o en polvo

como se reivindica. Más bien, D1 enseña una mezcla íntima secada por aspersión de esporas y L-alanina que “posteriormente se introduce en una *solución* que consiste en un amortiguador de fosfato 0,01 M”. (sin cursivas en el original) Véase, por ejemplo, D1, p. 42, líneas 8-9 y 17-18; p. 58, líneas 18-19; p. 59, líneas 11-12. Por lo tanto, D1 no enseña ni sugiere una composición probiótica como se revela en la reivindicación 1.

D1 tampoco enseña ni sugiere como osmoprotector (ectoína) como se revela en la reivindicación 3, las combinaciones específicas de *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis* como se reivindica en las reivindicaciones 7-9, el uso específico tanto de fosfato monosódico como de fosfato disódico como se reivindica en las reivindicaciones 10-12.

D1 tampoco enseña ni sugiere calentar una composición probiótica con ingredientes nutritivos-germinantes como se revela en la reivindicación 13. En los ejemplos 2, 3, 5, 11 en D1, las esporas con L-alanina y una solución de amortiguador de fosfato de potasio se calentaron a temperaturas que oscilaron entre 25 °C y 37 °C. En el Ejemplo 13 de D1, las esporas se sometieron a un choque térmico a 55 °C *antes* de añadir los ingredientes germinantes (aminoácidos, glucosa y fructosa). El único calentamiento después de la adición de los germinantes en el Ejemplo 13 fue a 30 °C. D1, p. 57, líneas 3-17; véase también p. 19, líneas 25-27 (que describe el choque térmico). El calentamiento con germinantes enseñado en D1 está a una temperatura inferior al intervalo reivindicado de 42-100 °C en la reivindicación 13 y el intervalo de 65-100 °C en la reivindicación 17, y 80-100 °C en la reivindicación 21. Por lo tanto, D1 no enseña ni sugiere el método reivindicado en la reivindicación 13 y sus reivindicaciones dependientes.

D2 US 2008/241226

De manera similar, D2 no enseña ni sugiere la combinación específica de ingredientes revelados en las reivindicaciones 1 o 13. D2 enseña múltiples categorías diferentes de ingredientes que se pueden usar, pero no hay ninguna enseñanza o sugerencia que lleve a la persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente a seleccionar ingredientes específicos como ahora se afirma. Además, D2 no enseña ni sugiere ningún calentamiento de una composición probiótica antes del consumo humano, como se revela en la reivindicación 13. Como se enseña en la presente solicitud y en los ejemplos adicionales que se analizan a continuación, el calentamiento de la composición declarada da como resultado una germinación más rápida de las esporas y un tiempo de crecimiento vegetativo más rápido.

Resultados inesperados

Los inventores han encontrado que el uso de los germinantes específicos revelados en las reivindicaciones 1 y 13 con especies de *Bacillus* en forma de esporas proporciona mejoras significativas en la eficiencia de la germinación y el tiempo hasta el crecimiento vegetativo sustancial. Cuando se usa en un producto o bebida alimenticios, es importante que las esporas comiencen a germinar en el momento de la ingestión o cerca de él, pero que no se conviertan completamente en bacterias vegetativas antes de llegar al intestino delgado. Tener las bacterias aún en estado de esporas activadas (cuya germinación ha comenzado, pero no son completamente vegetativas) ayuda a las bacterias a sobrevivir en el estómago para llegar al intestino delgado, en donde se vuelven vegetativas y son útiles como probióticos. Sin el uso de germinante de acuerdo con la invención, es posible que las esporas no germinen lo suficientemente pronto como para convertirse en vegetativas en el intestino delgado.

La capacidad de germinar eficazmente las esporas utilizando la composición y el método revelados se muestra en los dos ejemplos de la solicitud. También se han preparado otros ejemplos, como se muestra a continuación.

Ejemplos 1A-2D. Estas composiciones incluyen especies de *Bacillus* en forma de esporas con ingredientes germinantes de acuerdo con la reivindicación 13, que se probaron para determinar la eficiencia de la germinación y el tiempo hasta el crecimiento vegetativo sustancial en comparación con los controles que no incluían un germinante. Estos ejemplos no incluían un producto o bebida alimenticios de acuerdo con la reivindicación 13, pero se esperaba que los resultados fueran similares cuando se añadiera el producto o bebida alimenticios. Los ejemplos "A" (utilizando un nutriente de ingredientes germinantes de acuerdo con la reivindicación 13) y "B" (control, sin uso de ingredientes nutritivos germinantes) se incubaron a 42 °C, la temperatura mínima en el intervalo de temperatura de incubación de acuerdo con la reivindicación 13. Además, los ejemplos "C" (utilizando un nutriente de ingredientes germinantes de acuerdo con la reivindicación 13) y "D" (control, sin uso de ingredientes nutritivos germinantes) se incubaron sin calentar manteniéndolos a temperatura ambiente de alrededor de 23 °C. Los *bacilos* en estas pruebas incluyeron *B. subtilis* y *B. licheniformis*. A continuación se presentan tablas que resumen los ingredientes nutritivos germinantes en estos ejemplos, el tiempo y las temperaturas de incubación, y el momento en que las esporas comenzaron a mostrar un crecimiento vegetativo sustancial o un porcentaje de eficiencia de germinación.

Ejemplo No.	Ingredientes nutrientes-germinantes	Tiempo de incubación/ Temperatura	Eficiencia de germinación %
-------------	-------------------------------------	-----------------------------------	-----------------------------

Ejemplo No.	Ingredientes nutrientes-germinantes	Tiempo de incubación/ Temperatura	Eficiencia de germinación %
1A	• L-alanina (L-aminoácido) • Fosfato monosódico (amortiguador de fosfato) • Fosfato disódico (amortiguador de fosfato)	60 minutos a 42 °C	96,8 %
1B	Ninguno (ejemplo de control)	60 minutos a 42 °C	1,2 %
1C	• L-alanina (L-aminoácido) • Fosfato monosódico (amortiguador de fosfato) • Fosfato disódico (amortiguador de fosfato)	60 minutos a 23 °C	2,3 %
1D	Ninguno (ejemplo de control)	60 minutos a 23 °C	2,6 %
2A	• L-alanina (L-aminoácido) • Fosfato monosódico (amortiguador de fosfato) • Fosfato disódico (amortiguador de fosfato)	60 a 42 °C	~12,5 a ~16,5 horas
2B	Ninguno (ejemplo de control)	60 a 42 °C	~16 a ~21 horas
2C	• L-alanina (L-aminoácido) • Fosfato monosódico (amortiguador de fosfato) • Fosfato disódico (amortiguador de fosfato)	60 a 23 °C	~18 a ~21 horas
2D	Ninguno (ejemplo de control)	60 minutos a 23 °C	~18 a ~21 horas

Aunque una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente esperaría tener una mejora en la eficiencia de la germinación y en el tiempo hasta el crecimiento vegetativo cuando se usa un germinante, estos resultados son mucho mejores de lo que se esperaría. Como puede verse, el uso de un nutriente germinante de acuerdo con la reivindicación 13 que se incubó a 42 °C en los ejemplos “A” dio lugar a una eficiencia de germinación mucho mayor y a un tiempo de crecimiento vegetativo mucho más rápido que los ejemplos de control “B” sin un nutriente germinante o los

ejemplos “C” que también utilizaron un nutriente germinante pero no se calentaron. A temperaturas más elevadas por encima de los 42 °C, a las que normalmente se consumirían los productos alimenticios y bebidas calentados, se esperaría que los resultados del uso de un nutriente germinante como se reivindica fueran aún mejores. Además, la eficiencia de germinación y el tiempo hasta el crecimiento vegetativo utilizando un nutriente germinante pero sin calentamiento en los ejemplos “C” fue esencialmente el mismo que en los ejemplos de control “B” con calentamiento y los ejemplos de control “D” sin calentamiento. Por estas razones, una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente encontraría que los resultados de usar los ingredientes germinantes nutritivos declarados con un producto o bebida alimenticios que se calienta antes de ser consumido son inesperados.

Ejemplos 3A-5B. Los inventores también llevaron a cabo experimentos adicionales con productos alimenticios/bebidas que demuestran aún más los resultados inesperados de la composición de la reivindicación 1 y el método de la reivindicación 13. El *Bacilo* que se utiliza en estos experimentos es el *B. subtilis*. A continuación se muestra una tabla que resume los ingredientes de la composición de nutrientes y germinantes en estos ejemplos, el tiempo y las temperaturas de incubación y el porcentaje de eficiencia de germinación. Los ejemplos 3A, 4, 5A y 5B están todos dentro del alcance de los ingredientes de la reivindicación 1 y del alcance de los ingredientes y las temperaturas de calentamiento de la reivindicación 13. El Ejemplo 3B no incluyó los amortiguadores de fosfato monosódico y fosfato disódico de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 13 y utilizados en los otros Ejemplos.

Ejemplo No.	Ingredientes nutrientes-germinantes	Tiempo de incubación/ Temperatura	Eficiencia de germinación %
3A	• L-alanina (L-aminoácido) • Fosfato monosódico (amortiguador de fosfato) • Fosfato disódico (amortiguador de fosfato) • Cloruro de potasio (fuente de potasio) • Café solo	60 minutos a 60 °C	95 %
3B	• L-alanina (L-aminoácido) • Cloruro de potasio (fuente de potasio) • Café solo	60 minutos a 60 °C	5 %

Ejemplo No.	Ingredientes nutrientes-germinantes	Tiempo de incubación/ Temperatura	Eficiencia de germinación %
4	• L-alanina (L-aminoácido) • Fosfato monosódico (amortiguador de fosfato) • Fosfato disódico (amortiguador de fosfato) • Cloruro de potasio (fuente de potasio) • Salsa (salsa de pavo asado casera Heinz)	60 minutos a 65 °C	>95 %
5A	• L-alanina (L-aminoácido) • Fosfato monosódico (amortiguador de fosfato) • Fosfato disódico (amortiguador de fosfato) • Cloruro de potasio (fuente de potasio) • Sopa (sopa vegetariana de verduras Campbell's)	60 minutos a 65 °C	71 %
5B	• L-alanina (L-aminoácido) • Fosfato monosódico (amortiguador de fosfato) • Fosfato disódico (amortiguador de fosfato) • Cloruro de potasio (fuente de potasio) • Ectoína (osmoprotectora) • Sopa (sopa vegetariana de verduras Campbell's)	60 minutos a 65 °C	82 %

La bebida en los ejemplos 3A y 3B era café negro, que es ácido. Con los amortiguadores de fosfato que se reivindican, el pH de la composición en el Ejemplo 3A fue de 7. Sin los amortiguadores, el pH de la composición en el Ejemplo 3B fue solo de 5, lo que dio lugar a una tasa de germinación muy baja de 5 % en comparación con 95 % cuando se utilizó la composición de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 13.

En el Ejemplo 4 se usaron los mismos ingredientes germinantes de nutrientes del Ejemplo 3A, dentro del alcance de las reivindicaciones 1 y 13, pero se usó una salsa como producto/bebida alimenticios. En el ejemplo 4 también se utilizó una temperatura de incubación ligeramente superior a 65 °C dentro del alcance de las reivindicaciones 13 y 17. La eficiencia germinativa fue >95 %.

Se seleccionó la sopa utilizada en los ejemplos 5A y 5B porque tiene un alto contenido de sodio (650 mg/porción). Las composiciones tanto del Ejemplo 5B como del Ejemplo 5A caen dentro del alcance de las reivindicaciones 1 y 13, pero el Ejemplo 5B también incluyó un osmoprotector específicamente dentro del alcance de las reivindicaciones 3-4 y 15-16. Aunque la eficiencia de germinación de 71 % del Ejemplo 5A fue inesperadamente mejor que la de otros Ejemplos que no caen dentro del alcance de las reivindicaciones 1 y 13 (por ejemplo, en comparación con las tasas de 1,2-2,6 % en los Ejemplos 1B-1D), el uso de un osmoprotector arrojó resultados aún mejores de 82 % de eficiencia germinativa en el Ejemplo 5B. Se esperaba que el uso de un osmoprotector proporcionara alguna mejora en la germinación de un producto/bebida alimenticios con alto contenido de sal, pero el aumento de 11 % observado en el Ejemplo 5B es mayor de lo esperado.

Aunque una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente esperaba tener una mejora en la eficiencia de la germinación y en el tiempo hasta el crecimiento vegetativo cuando se utilizan ingredientes germinantes de nutrientes y calentamiento, los resultados de los ejemplos aquí expuestos son mucho mejores de lo esperado. Por estas razones, una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente encontraría que los resultados de usar los ingredientes germinantes nutritivos declarados con esporas de *Bacillus* y un producto o bebida alimenticios en una composición calentada son inesperados.

En consecuencia, de las modificaciones introducidas al capítulo reivindicatorio y los argumentos arriba expuestos se puede concluir que la materia reclamada en esta solicitud cumple con los requisitos de novedad y nivel inventivo exigidos por la Decisión 486 de la Comunidad Andina.

Renuncio al término faltante de traslado, y les solicito otorgar el privilegio e patente de invención aquí tramitado.

De Ustedes Atentamente,

LUIS FELIPE CASTILLO GIBSON
T.P. No. 68.995 del C.S.J.

Reivindicaciones Modificadas

1. Una composición probiótica para consumo humano, la cual composición probiótica comprende los siguientes ingredientes:

- (a) especies de *Bacillus* en forma de esporas;
- (b) aminoácidos que comprendan L-alanina, L-asparagina, L-valina, L-cisteína, un hidrolizado de proteína de soya o una combinación de estos;
- (c) un producto o bebida alimenticios que comprende té, café, chocolate caliente, sopa o salsa;
- (d) amortiguadores de fosfato para mantener un pH de la composición probiótica cuando se agregan al agua en un intervalo de alrededor de 6-8, en donde los amortiguadores de fosfato comprenden fosfato monosódico o fosfato disódico, o ambos; y
- (e) cloruro de potasio;

en donde todos los ingredientes son generalmente considerados seguros (GRAS por sus siglas en inglés) para consumo humano de acuerdo con los estándares federales de EE. UU.; y

en donde todos los ingredientes se encuentran en forma sólida o en polvo.

2. La composición probiótica de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque los aminoácidos comprenden L-alanina.

3. La composición probiótica de acuerdo con la reivindicación 2, que además comprende ectoína.

4. La composición probiótica de acuerdo con la reivindicación 3, que se caracteriza porque el producto o bebida alimenticios es sopa.

5. La composición probiótica de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque las especies de *Bacillus* comprenden *Bacillus licheniformis* o *Bacillus subtilis* o ambas.

6. La composición probiótica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que se caracteriza porque *las especies de Bacillus comprenden Bacillus licheniformis, Bacillus subtilis, Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus polymyxa,*

Bacillus thuringiensis, Bacillus megaterium, Bacillus coagulans, Bacillus lentus, Bacillus clausii, Bacillus circulans, Bacillus firmus, Bacillus lactis, Bacillus laterosporus, Bacillus laevolacticus, Bacillus pumilus, Bacillus simplex, Bacillus sphaericus, Bacillus sonorensis, Bacillus, horneckiae, Bacillus axarquiensis, Bacillus mucilaginosus, Bacillus olivae.

7. La composición probiótica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que se caracteriza porque las especies de *Bacillus* comprenden *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis*.

8. La composición probiótica de acuerdo con la reivindicación 7, que se caracteriza porque las especies de *Bacillus* comprenden dos cepas diferentes de *Bacillus licheniformis* y una cepa de *Bacillus subtilis*.

9. La composición probiótica de acuerdo con la reivindicación 8, que se caracteriza porque las especies de *Bacillus* comprenden 40% de una primera cepa de *Bacillus licheniformis*, 40% de una segunda cepa de *Bacillus licheniformis* y 20% de una cepa de *Bacillus subtilis*.

10. La composición probiótica de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que se caracteriza porque las especies de *Bacillus* consisten en *Bacillus licheniformis* o *Bacillus subtilis* o ambas; y

en donde los amortiguadores de fosfato comprenden fosfato monosódico y fosfato disódico.

11. La composición probiótica de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que se caracteriza porque los aminoácidos comprenden L-alanina; y

en donde los amortiguadores de fosfato comprenden fosfato monosódico y fosfato disódico.

12. La composición probiótica de la reivindicación 1, que se caracteriza porque los aminoácidos comprenden L-alanina;

en donde las especies de *Bacillus* comprende *Bacillus licheniformis* o *Bacillus subtilis* o ambas;

en donde los amortiguadores de fosfato comprenden fosfato monosódico y fosfato disódico;

en donde el producto o bebida alimenticios comprende café, sopa o salsa.

13. Método de preparación de un alimento o bebida probiótico para consumo humano, que comprende:

mezclar (1) un líquido que comprende agua con (2) una composición en polvo o sólida para formar una mezcla que comprende una solución o una suspensión, en donde la composición en polvo o sólida comprende:

- (a) especies de *Bacillus* en forma de esporas;
- (b) aminoácidos que comprenden L-alanina, L-asparagina, L-valina, L-cisteína, un hidrolizado de proteína de soya o una combinación de estos;
- (c) un producto o bebida alimenticios que comprende té, café, chocolate caliente, sopa o salsa;
- (d) amortiguadores de fosfato para mantener un pH de la mezcla en un intervalo de alrededor de 6-8, en donde los amortiguadores de fosfato comprenden fosfato monosódico o fosfato disódico, o ambos;

calentar a una temperatura en un intervalo de 42 °C a 100 °C (1) el líquido antes de la etapa de mezcla o (2) la mezcla después de la etapa de mezcla; y

en donde todos los componentes y la mezcla son generalmente considerados como seguros (GRAS) para consumo humano de acuerdo con las normas federales de EE. UU.

14. El método de la reivindicación 13, que se caracteriza porque la composición en polvo o sólida comprende además cloruro de potasio.

15. El método de la reivindicación 14, que se caracteriza porque la composición en polvo o sólida comprende además un osmoprotector.

16. El método de la reivindicación 15, que se caracteriza porque el producto o bebida alimenticios es sopa.

17. El método de cualquiera de las reivindicaciones 13-16, que se caracteriza porque las especies de *Bacillus* comprenden *Bacillus licheniformis* o *Bacillus subtilis* o ambos y en donde el intervalo en la etapa de calentamiento es de 65 °C a 100 °C.

18. El método de la reivindicación 17, que se caracteriza porque la composición en polvo o sólida comprende *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis*.

19. El método de cualquiera de las reivindicaciones 13-16, que se caracteriza porque la composición en polvo o sólida comprende dos cepas diferentes de *Bacillus licheniformis* y al menos una cepa de *Bacillus subtilis*.

20. El método de cualquiera de las reivindicaciones 13-16, que se caracteriza porque la composición en polvo o sólida comprende 40% de una primera cepa de *Bacillus licheniformis*, 40% de una segunda cepa de *Bacillus licheniformis* y 20% de una cepa de *Bacillus subtilis*.

21. El método de la reivindicación 20, que se caracteriza porque el intervalo en el paso de calentamiento es de 80-100 °C.