



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



①Número de publicación: 2 725 350

21) Número de solicitud: 201800070

61 Int. Cl.:

C05F 11/08 (2006.01) C05F 11/10 (2006.01) C12N 1/12 (2006.01)

(12)

### SOLICITUD DE PATENTE

Α1

(22) Fecha de presentación:

23.03.2018

43 Fecha de publicación de la solicitud:

23.09.2019

71 Solicitantes:

ARMAS PÉREZ-BORROTO, Evidio (50.0%) Avda. Velázquez 9-A portal 2 piso 6 K 29003 Málaga ES y FERRÁNDIZ PASTOR, Juan (50.0%)

(72) Inventor/es:

ARMAS PÉREZ-BORROTO, Evidio y FERRÁNDIZ PASTOR, Juan

(74) Agente/Representante:

HERRERA DÁVILA, Álvaro

(54) Título: Extracto enzimático y procedimiento de obtención

(57) Resumen:

Extracto enzimático y procedimiento de obtención. Constituido a partir de proteínas de la Cianobacteria Spirulina enriquecida con elementos minerales, obteniendo un producto formado principalmente por 17 aminoácidos, 11 variedades de vitaminas y oligopéptidos, a partir de las siguientes etapas: i.ruptura celular; ii.- hidrólisis de los enlaces peptídicos; iii.- obtención del extracto y los aminoácidos; iv.- evaporación y concentración; y v.- conformación, estabilización y preservación.

### **DESCRIPCIÓN**

Extracto enzimático y procedimiento de obtención.

### 5 Objeto de la invención

10

15

35

40

45

50

La presente invención se refiere a un procedimiento para obtener un extracto enzimático con acción estimulante y promotor del crecimiento vegetal y regenerador de la flora bacteriana del suelo, mediante procedimientos bioquímicos y utilizando como materia prima, biomasa de la cianobacterias Arthrospira platensis.

La necesidad de nuevas alternativas de fertilización para los cultivos, se ha convertido en una de los motivos para el desarrollo de productos, que sean amigables con el medio ambiente. Los fertilizantes agroquímicos están siendo remplazados por sustancias de origen natural, que mitigan los efectos nocivos de la fertilización química. Los biofertilizantes a base de aminoácidos y extractos vegetales con acción promotora de crecimiento vegetal constituyen una importante fuente de elementos indispensables para el desarrollo de las plantas y facilitan la asimilación de estos en los tejidos vegetales.

La obtención de un biofertilizante a base de aminoácidos y otros biofactores provenientes de la hidrólisis de la proteína que posee la cianobacteria Arthrospira (espirulina), es en lo que se basa el objeto principal de la presente invención.

La Espirulina es una cianobacteria planctónica que forma poblaciones masivas en cuerpos de agua tropicales y subtropicales caracterizados por altos niveles de carbonato y bicarbonato y alto pH, también se encuentran como componentes del plancton, en lagos y océanos tropicales y templados. Existen especies adaptadas a hábitats terrestres en suelos tropicales y terrenos inundados. Esta cianobacteria es capaz de sintetizar sustancias nutritivas que son almacenadas en su citoplasma. Las cianobacterias poseen una fisiología versátil y una amplia tolerancia ecológica.

La Espirulina también es considerada una microalga, de color verde-azul, que realiza procesos fotosintéticos y es de estructura multicelular filamentosa con forma helicoidal. Las dos especies más importantes y las de mayor uso como suplemento nutricional son la espirulina máxima y espirulina platensis.

La espirulina crece en agua, puede ser cosechada y procesada debido a su alto contenido en macro y micronutrientes. Ha sido analizada químicamente, y ha demostrado ser una excelente fuente de proteínas, vitaminas, minerales, polisacáridos y ácidos grasos esenciales. Entre los principales componentes químicos están las proteínas, con entre un 60 y 70% de su peso seco. También contiene 16 aminoácidos, ocho de los cuales son esenciales. Los aminoácidos que se encuentran en mayor cantidad son: el ácido glutámico en un 17.4%, el ácido aspártico en un 12.2%, la leucina en un 10.9 %, la valina en un 7.5% y la isoleucina 6.8%. La espirulina, con su alta proporción de absorción corporal y su contenido de 50 macro/micronutrientes, produce un estimulo demostrado y saludable que potencia todas las actividades fisiológicas como parte de sus maravillosas propiedades.

El producto obtenido de la hidrólisis de la proteína que posee esta cianobacteria puede sustituir cantidades significativas de fertilizantes químicos y pesticidas dañinos que se aplican a los cultivos y por tanto, los agricultores de productos orgánicos y de productos tradicionales podrán adquirir y aplicar un producto totalmente ecológico y biodegradable que no deja residuos y es beneficioso para el medio ambiente y para las personas que consuman los frutos y vegetales de las cosechas, donde se haya aplicado, ya sea de forma foliar o radicular.

Las ventajas de esta invención son las siguientes:

- Favorece el proceso de germinación de las semillas.
- 5 Activa la formación del sistema radicular.
  - Estimula la asimilación de los macroelementos aportados al suelo o a la planta.
  - Acelera la formación y crecimiento de las hojas.

Activa el proceso de fotosíntesis de sustancias nutricionales y de reserva en las plantas.

- Favorece la formación de flores, la capacidad de fecundación y cuajado de las mismas.
- Disminuye los efectos de estrés provocados por acciones climáticas, químicas o de otro 15 tipo. (Salinidad, seguías, fitotoxicidad, altas temperaturas, etc.).
  - Facilita la regeneración de tejidos dañados (podas, golpes de vareo, pedriscos, fitotoxicidades, quemaduras, etc.).
  - Favorece la permeabilidad de todo producto agroquímico, mejorando la actuación de sus materias activas, pudiéndose reducir sus dosis de aplicación a las mínimas recomendadas.
- 25 - Favorece la permeabilidad de todo producto agroquímico, mejorando la actuación de sus materias activas, pudiéndose reducir sus dosis de aplicación a las mínimas recomendadas.
- Preserva al medio ambiente al no contener metales pesados, no ser tóxico, peligrosos, 30 ni inflamables y al permitir la reducción de las dosis de aplicación de pesticidas.
  - Estimula la inmunología adquirida, aumentando la resistencia de las plantas a enfermedades endémicas.
- Con los nutrientes que proporciona favorece la restauración del suelo y la flora 35 bacteriana benéfica de este.
  - Aumenta los rendimientos de las cosechas, la uniformidad, coloración y calidad de los frutos.

La aplicación industrial de esta invención se encuentra dentro de la producción de productos para cultivo y jardinería y más concretamente, extractos enzimáticos para aumento de crecimiento de cultivo.

### 45 Antecedentes de la invención

Aunque no se ha encontrado ninguna invención idéntica a la descrita, exponemos a continuación los documentos encontrados que reflejan el estado de la técnica relacionado con la misma.

Así el documento ES2602877A1 hace referencia a un procedimiento de obtención de un concentrado de proantocianidinas poliméricas con un contenido superior al 90%, caracterizado por la utilización de tratamientos enzimáticos y por la ausencia de disolventes orgánicos y/o

10

20

40

50

extracción con disolventes orgánicos. Este concentrado es útil como ingrediente funcional, complemento alimenticio, como producto cosmético y como producto farmacéutico. La citada invención comprende un concentrado diferente al de la invención principal aparte de aplicarse a otro campo.

5

10

WO2012098119A2 describe una expresión de proteínas en plantas, particularmente la producción a gran escala de polipéptidos recombinantes en plantas enteras de Nicotiana tabacum. El uso de combinación preseleccionada de variedades de N. tabacum y cepas de Agrobacterium, que incluye opcionalmente una o más mejoras de los métodos transitorios basados en la expresión de la invención, permite la producción de grandes cantidades de polipéptidos heterólogos económicamente y en un corto período de tiempo. Al igual que en el caso anterior, se trata de un compuesto proteínico distinto al que comprende a la invención principal.

15 ES2 enz Inic pret etap 20 85-9

ES2632224A1 describe un procedimiento para la producción biotecnológica de un extracto de enzimas fúngicas lignocelulolíticas empleando podas de vid como sustrato microbiano. Inicialmente, las podas de vid son sometidas a una etapa de acondicionamiento y pretratamiento del sustrato (podas de vid). El acondicionamiento comprende a su vez, una etapa inicial de secado hasta alcanzar un porcentaje de materia seca comprendido en el rango 85-95% y, una etapa posterior de molienda para reducir el tamaño de partícula a un rango comprendido entre 2 mm-1 cm; mientras que la etapa de pretratamiento consiste en humectar el sustrato empleando una disolución de nutrientes y sales, y posterior esterilización por vapor. Posteriormente, se inicia la fermentación en estado sólido para la obtención de enzimas mediante la inoculación del sustrato en condiciones de esterilidad con una cepa del genero Aspergillus. Finalmente, se procede a la obtención del extracto enzimático mediante una extracción sólido-líquido. El objetivo del extracto enzimático que propone la citada invención es distinto al buscado por la invención principal.

30

25

EP1541023A2 se refiere a una composición para uso agrícola comprende: al menos un agente biocida, un bioactivador y adyuvantes y aditivos opcionalmente habituales. - La composición para uso agrícola comprende: al menos un agente biocida, un bioactivador, que es una betaína de fórmula R-CONH- (CH2) a -N + (R1R2) - (CH2) b-COO- (I) y opcionalmente adyuvantes y aditivos estándar - R = 6-22, el mejor 10-14, hidrocarbilo C, opcionalmente ramificado, que contiene enlaces múltiples y / o R1 y R2 sustituidos = alquilo 1-4C, preferiblemente Me-a = 1-5, preferiblemente 2 o 3-b = 1 o 2. Se trata de un compuesto para uso agrícola distinto al que comprende la invención principal.

Conclusiones: Como se desprende de la investigación realizada, ninguno de los documentos encontrados soluciona los problemas planteados como lo hace la invención propuesta.

40

35

### Descripción de la invención

El extracto enzimático objeto de la presente invención se constituye a partir de proteínas de la Cianobacteria Espirulina enriquecida con elementos minerales, obteniendo un producto formado principalmente por 17 aminoácidos, 11 variedades de vitaminas y oligopéptidos, que permite que las plantas obtengan un óptimo crecimiento, donde los oligopéptidos estimulan e incrementan la capacidad natural de las plantas para producir sus propias hormonas, enzimas y otros productos basados en los aminoácidos.

50

También se estimula el crecimiento vegetal, actuando en la división de las células, la producción de carbohidratos, proteínas y en la producción de clorofila gracias a los siguientes agentes activos: Macronutrientes y microelementos, fitohormonas, aminoácidos y péptidos de cadenas cortas, polisacáridos, vitaminas, enzimas y ácidos orgánicos.

Los pesos de los constituyentes para la obtención de 100 gramos del producto:

### Vitaminas (mg):

| 5  | B-Car | oteno          | 138 |      |
|----|-------|----------------|-----|------|
|    | -     | Е              |     | 10   |
| 40 | -     | B1             |     | 3.1  |
| 10 | -     | B2             |     | 3,8  |
|    | -     | В3             |     | 14   |
| 15 | -     | B6             |     | 0,8  |
|    | -     | B12            |     | 0,3  |
| 20 | -     | Ácido Fólico   |     | 0,01 |
|    | Amino | pácidos (g):   |     |      |
| 25 | -     | Alanina        |     | 4,30 |
| 23 | -     | Arginina       |     | 4,25 |
|    | -     | Ácido Aspártio | co  | 6,10 |
| 30 | -     | Cistina        |     | 0,47 |
|    | -     | Glicina        |     | 3,10 |
| 35 | -     | Histidina      |     | 0,95 |
| 33 | -     | Isoleucina     |     | 3,81 |
|    | -     | Leucina        |     | 5,40 |
| 40 | -     | Lisina         |     | 2,95 |
|    | -     | Metionina      |     | 1,33 |
| 45 | -     | Fenilalanina   |     | 2,41 |
| 40 | -     | Prolina        |     | 2,40 |
|    | -     | Serina         |     | 3,11 |
| 50 | -     | Treonina       |     | 3,00 |
|    | -     | Triptófano     |     | 0,89 |
|    | -     | Tirosina       |     | 2,90 |

|    | -      | Valina                 | 3,75 |
|----|--------|------------------------|------|
| 5  | -      | Ácido Glutámico        | 8,90 |
| 5  | Minera | ales (mg):             |      |
|    | -      | Calcio                 | 1136 |
| 10 | -      | Fósforo                | 840  |
|    | -      | Magnesio               | 440  |
| 15 | -      | Hierro                 | 160  |
|    | -      | Potasio                | 1300 |
|    | -      | Sodio                  | 650  |
| 20 | Pigme  | entos (g):             |      |
|    | -      | Ficocianina            | 15   |
| 25 | -      | Clorofila              | 1,05 |
|    | -      | Carotenoides           | 0,38 |
|    | Ácidos | s grasos esenciales (g | g):  |
| 30 | -      | Gamma Linolénico       | 1,34 |
|    | -      | Palmitoleico           | 0,32 |
| 35 | -      | Palmítico              | 2,10 |
| SS | -      | Oleico                 | 0,37 |
|    | -      | Esteárico              | 0,04 |
|    |        |                        |      |

40 Y el procedimiento para la obtención del mismo se desarrolla en las siguientes etapas:

i.- Ruptura celular.

50

Se realiza la liberación de las proteínas en forma soluble de las células por medios mecánicos, agentes químicos o por vía enzimática. El método a seleccionar depende de la especie de microalga y del destino final del producto.

La materia prima en polvo es sometida a un proceso de trituración mecánica o a un proceso de congelación a 0 C° y descongelación. El procedimiento se realiza preparando una suspensión de polvo de algas a una concentración de 100g por litro (10% de materia seca), la jalea de algas se vierte en una licuadora y se bate a 800 rpm hasta obtener una crema de algas bien homogénea o se somete a un proceso de congelación y descongelación. (Los mejores resultados se consiguen combinando ambos métodos, congelando primero la jalea de algas y posteriormente sometiéndola a trituración mecánica en la licuadora.)

Otro procedimiento sería mediante la utilización de enzimas para debilitar o lisar la pared celular antes de la hidrólisis, la enzima utilizada para este fin es la lisozima. Esto se logra suspendiendo la jalea de algas en una solución buffer de fosfato de sodio 0.1 Molar a PH-7 que contenga de 40 a 60 microgramo por mililitros de lisozima y 10mM de EDTA, la suspensión se mantiene bajo agitación a 30 °C o a temperatura ambiente por un tiempo de 6 a 8 horas.

### ii. - Hidrólisis de los enlaces peptídicos.

·

La hidrólisis de los enlaces peptídicos se realiza por vía enzimática, utilizando enzimas digestivas del páncreas, papaina y/o bromelina.

Se prepara en el reactor una suspensión de polvo de alga triturada, proveniente del paso anterior, a una concentración de 10Og/l, a la cual se le inocula la enzima seleccionada en la cantidad de 15 a 20g/l, inmediatamente después de la ruptura celular. La suspensión se mantiene de 4 a 6 horas en el reactor bajo agitación constante a la temperatura y PH que específica la enzima que ha sido utilizada.

### iii. - Obtención del extracto y los aminoácidos.

El extracto y los aminoácidos libres se obtienen después del proceso de hidrólisis, respetando el tiempo de fermentación y las cantidades de enzimas referidas, el 80 % de todas las proteínas contenidas en la materia prima son hidrolizadas, obteniéndose un extracto rico en aminoácidos libres, péptidos de bajo peso molecular, vitaminas, ácidos grasos esenciales, minerales, pigmentos y enzimas.

Finalmente se eleva la temperatura del reactor cinco minutos para desactivar las enzimas y finalizar el proceso de hidrólisis.

### iv. - Evaporación y concentración

El extracto obtenido, puede ser utilizado tal y como se obtiene en la etapa anterior, pero también puede ser sometido a un proceso de evaporación al vacío, utilizando un rota evaporador al vacío u otros métodos de concentración, siempre que la temperatura no exceda de los 50 °C, para evitar descomponer las vitaminas y los pigmentos termo sensible, con este proceso se obtiene un extracto concentrado, con un contenido de materia seca de 25%.

### v. - Conformación, estabilización y preservación.

Finalmente tanto al extracto diluido, obtenido en la etapa número iii, como el extracto concentrado obtenido en la etapa numero iv, se le adicionan sales minerales para lograr su estabilización y reforzar su acción como fertilizante, también se le añade 0.01% de preservante de origen natural y lograr su estabilidad por un año sin que se degraden sus componentes, siempre que se almacene en un lugar donde no le de la luz solar directamente.

El extracto puede ser aplicado a todo tipo de cultivo diluido en el agua de riego en dosis que pueden ir desde 3 a 7 cm3 por litro y la vía de aplicación puede ser tanto radicular como foliar, se recomienda también dar de tres a cinco aplicaciones durante el ciclo de cultivo, dependiendo del tipo de suelo y cultivo.

7

10

5

15

20

30

25

40

35

45

50

### Descripción de una realización preferente

Una realización preferente del procedimiento de obtención del extracto enzimático objeto de la presente invención puede basarse en las siguientes etapas:

i.- Ruptura celular.

5

10

15

30

35

40

45

50

Se realiza la liberación de las proteínas en forma soluble de las células por medios mecánicos, agentes químicos o por vía enzimática; donde la materia prima en polvo es sometida a un proceso de trituración mecánica o a un proceso de congelación a 0 C° y descongelación. El procedimiento se realiza preparando una suspensión de polvo de algas a una concentración de 100g por litro (10% de materia seca), la jalea de algas se vierte en una licuadora y se bate a 800 rpm hasta obtener una crema de algas bien homogénea o se somete a un proceso de congelación y descongelación. (Los mejores resultados se consiguen combinando ambos métodos, congelando primero la jalea de algas y posteriormente sometiéndola a trituración mecánica en la licuadora.)

ii. - Hidrólisis de los enlaces peptídicos.

La hidrólisis de los enlaces peptídicos se realiza por vía enzimática, utilizando enzimas digestivas del páncreas, papaína y/o bromelina; preparando una suspensión de polvo de alga triturada, proveniente del paso anterior, a una concentración de 100g/l, a la cual se le inocula la enzima seleccionada en la cantidad de 15 a 20g/l, inmediatamente después de la ruptura celular. La suspensión se mantiene de 4 a 6 horas en el reactor bajo agitación constante a la temperatura y PH que específica la enzima que ha sido utilizada.

iii. - Obtención del extracto y los aminoácidos.

El extracto y los aminoácidos libres se obtienen después del proceso de hidrólisis, respetando el tiempo de fermentación y las cantidades de enzimas referidas, el 80% de todas las proteínas contenidas en la materia prima son hidrolizadas, obteniéndose un extracto rico en aminoácidos libres, péptidos de bajo peso molecular, vitaminas, ácidos grasos esenciales, minerales, pigmentos y enzimas. Finalmente se eleva la temperatura del reactor cinco minutos para desactivar las enzimas y finalizar el proceso de hidrólisis.

iv. - Evaporación y concentración.

El extracto obtenido, se utiliza tal y como se obtiene en la etapa anterior, pero también puede ser sometido a un proceso de evaporación al vacío, utilizando un rota evaporador al vacío u otros métodos de concentración, siempre que la temperatura no exceda de los 50 °C, para evitar descomponer las vitaminas y los pigmentos termo sensible, con este proceso se obtiene un extracto concentrado, con un contenido de materia seca de 25%.

v. - Conformación, estabilización y preservación.

Finalmente tanto al extracto diluido, obtenido en la etapa número iii, como el extracto concentrado obtenido en la etapa numero iv, se le adicionan sales minerales para lograr su estabilización y reforzar su acción como fertilizante, también se le añade 0.01% de preservante de origen natural y lograr su estabilidad por un año sin que se degraden sus componentes, siempre que se almacene en un lugar donde no le de la luz solar directamente.

El extracto puede ser aplicado a todo tipo de cultivo diluido en el agua de riego en dosis que pueden ir desde 3 a 7 cm3 por litro y la vía de aplicación puede ser tanto radicular como foliar,

se recomienda también dar de tres a cinco aplicaciones durante el ciclo de cultivo, dependiendo del tipo de suelo y cultivo.

### **REIVINDICACIONES**

- 1. Procedimiento de obtención del extracto enzimático, caracterizado porque comprende las siguientes etapas:
  - i.- Ruptura celular.

Se realiza la liberación de las proteínas en forma soluble de las células por medios mecánicos, agentes químicos o por vía enzimática. El método a seleccionar depende de la especie de microalga y del destino final del producto.

La materia prima en polvo es sometida a un proceso de trituración mecánica o a un proceso de congelación a 0 C° y descongelación. El procedimiento se realiza preparando una suspensión de polvo de algas a una concentración de 100g por litro (10% de materia seca), la jalea de algas se vierte en una licuadora y se bate a 800 rpm hasta obtener una crema de algas bien homogénea o se somete a un proceso de congelación y descongelación. (Los mejores resultados se consiguen combinando ambos métodos, congelando primero la jalea de algas y posteriormente sometiéndola a trituración mecánica en la licuadora.).

ii. - Hidrólisis de los enlaces peptídicos.

La hidrólisis de los enlaces peptídicos se realiza por vía enzimática, utilizando enzimas digestivas del páncreas, papaína y/o bromelina.

Se prepara en el reactor una suspensión de polvo de alga triturada, proveniente del paso anterior, a una concentración de 10Og/l, a la cual se le inocula la enzima seleccionada en la cantidad de 15 a 20g/l, inmediatamente después de la ruptura celular. La suspensión se mantiene de 4 a 6 horas en el reactor bajo agitación constante a la temperatura y PH que específica la enzima que ha sido utilizada.

iii. - Obtención del extracto y los aminoácidos.

El extracto y los aminoácidos libres se obtienen después del proceso de hidrólisis, respetando el tiempo de fermentación y las cantidades de enzimas referidas, el 80 % de todas las proteínas contenidas en la materia prima son hidrolizadas, obteniéndose un extracto rico en aminoácidos libres, péptidos de bajo peso molecular, vitaminas, ácidos grasos esenciales, minerales, pigmentos y enzimas.

Finalmente se eleva la temperatura del reactor cinco minutos para desactivar las enzimas y finalizar el proceso de hidrólisis.

iv. - Evaporación y concentración.

El extracto obtenido, puede ser utilizado tal y como se obtiene en la etapa anterior, pero también puede ser sometido a un proceso de evaporación al vacío, utilizando un rota evaporador al vacío u otros métodos de concentración, siempre que la temperatura no exceda de los 50 °C, para evitar descomponer las vitaminas y los pigmentos termo sensible, con este proceso se obtiene un extracto concentrado, con un contenido de materia seca de 25%.

v. - Conformación, estabilización y preservación.

Finalmente tanto al extracto diluido, obtenido en la etapa número iii, como el extracto concentrado obtenido en la etapa numero iv, se le adicionan sales minerales para lograr su estabilización y reforzar su acción como fertilizante, también se le añade 0.01% de preservante

10

15

10

5

20

30

40

35

45

50

de origen natural y lograr su estabilidad por un año sin que se degraden sus componentes, siempre que se almacene en un lugar donde no le de la luz solar directamente.

2. Procedimiento de obtención del extracto enzimático, según reivindicación 1, caracterizado porque el paso i, ruptura celular, también se puede conseguir mediante la utilización de enzimas para debilitar o lisar la pared celular antes de la hidrólisis, la enzima utilizada para este fin es la lisozima. Esto se logra suspendiendo la jalea de algas en una solución buffer de fosfato de sodio 0.1 Molar a PH-7 que contenga de 40 a 60 microgramo por mililitros de lisozima y 10mM de EDTA, la suspensión se mantiene bajo agitación a 30 °C o a temperatura ambiente por un tiempo de 6 a 8 horas.

5

10

15

3. Extracto enzimático obtenido a partir del procedimiento descrito según reivindicaciones 1 y 2, caracterizado porque puede ser aplicado a todo tipo de cultivo diluido en el agua de riego en dosis que pueden ir desde 3 a 7 cm³ por litro y la vía de aplicación puede ser tanto radicular como foliar, se recomienda también dar de tres a cinco aplicaciones durante el ciclo de cultivo, dependiendo del tipo de suelo y cultivo.



(21) N.º solicitud: 201800070

22 Fecha de presentación de la solicitud: 23.03.2018

32 Fecha de prioridad:

### INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

| ⑤ Int. Cl.: | Ver Hoja Adicional |  |  |
|-------------|--------------------|--|--|
|             |                    |  |  |

### **DOCUMENTOS RELEVANTES**

| Categoría         | 66   | Documentos citados  | Reivindicaciones afectadas |  |
|-------------------|--|---|----------------------------|--|
| X                 | BR 102015019184 A2 (UNIV I<br>Reivindicaciones 1-7   | FEDERAL DO PARANA) 06/03/2018, Párrafos [005]-[008],  | 1-3                        |  |
| А                 | platensis extract. Journal of Applied  | PORN et al. Evaluation of the toxicity of Arthrospira (Spirulina) d Phycology OCT 2010., 30/09/2010, Vol. 22, Páginas 599-605, 07/s10811-009-9499-5>. Materiales y Métodos.   | 1-3                        |  |
| А                 | Microbiological Culture Media. Jou   | Protein Hydrolysate from Spirulina platensis used as Peptone in edia. Journal of Natural Products and Resources, 2016, Vol. 2, Páginas online), <doi: 10.30799="" doi.org="" https:="" jnpr="">. Materiales y Métodos</doi:>                                |                            |  |
| Α                 | de cultivo. Espirulina: Biotecnolo Fundación para el Conocimiento  | RNANDO. Introducción a la Espirulina: Historia, aplicaciones y sistemas iotecnología y aplicaciones industriales, 17/11/2015. Madri d Blogs. cimiento Madri d. [recuperado el 10/10/2018]. Recuperado de Internet: isd.org/blogs/espirulina/2015/11/17/40/> |                            |  |
|                   |  |   |                            |  |
|                   |  |   |                            |  |
|                   |  |   |                            |  |
|                   |  |   |                            |  |
|                   |  |   |                            |  |
| X: d<br>Y: d<br>r | egoría de los documentos citados<br>e particular relevancia<br>e particular relevancia combinado con ot<br>nisma categoría<br>efleja el estado de la técnica | O: referido a divulgación no escrita ro/s de la P: publicado entre la fecha de prioridad y la de pr de la solicitud E: documento anterior, pero publicado después d de presentación de la solicitud   |                            |  |
|                   | presente informe ha sido realizado<br>para todas las reivindicaciones  | para las reivindicaciones nº:   |                            |  |
| Fecha             | de realización del informe<br>30.10.2018   | <b>Examinador</b><br>J. L. Vizán Arroyo   | <b>Página</b><br>1/2       |  |

### INFORME DEL ESTADO DE LA TÉCNICA

Nº de solicitud: 201800070

# CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD C05F11/08 (2006.01) C05F11/10 (2006.01) C12N1/12 (2006.01) Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación) C05F, C12N Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados) INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, INSPEC, NPL, INTERNET