

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
19 de Agosto de 2004 (19.08.2004)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2004/070021 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: C12N 1/12
// (C12N 1/12, C12R 1:89)

S/N. ISLA DE LA CARTUJA, 41092 SEVILLA (ES).
GARCÍA GUERRERO, Miguel [ES/ES]; Universidad
de Sevilla, C/AMERICO VESPUCIO S/N. ISLA DE LA
CARTUJA, 41092 SEVILLA (ES).

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2004/070005

(74) Mandatario: **DOMINGO, REPRESA SÁNCHEZ**;
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS, OFICINA DE TRANSFERENCIA DE
TECNOLOGÍA, C/Serrano, 113, 28006 MADRID (ES).

(22) Fecha de presentación internacional:
6 de Febrero de 2004 (06.02.2004)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P200300309 7 de Febrero de 2003 (07.02.2003) ES

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,
para toda clase de protección nacional admisible): AE,
AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ,
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI,
NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,
SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(71) Solicitantes (para todos los Estados designados salvo
US): **CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGA-
CIONES CIENTÍFICAS** [ES/ES]; C/ Serrano, 117,
28006 MADRID (ES). **UNIVERSIDAD DE SEVILLA**
[ES/ES]; C/Valparaiso, 5, 3º, 41013 SEVILLA (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): **CAMPO
CASTILLO, José, Antonio, del** [ES/ES]; INSTO. BIO-
QUIMICA VEGETAL Y FOTOSINTESIS, CONSEJO
SUPERIOR INVESTIG. CIENTÍFICAS, C/AMERICO
VESPUCIO S/N. ISLA DE LA CARTUJA, 41092
SEVILLA (ES). **MORENO FERNÁNDEZ, José**
[ES/ES]; INSTO. BIOQUIMICA VEGETAL Y FO-
TOSINTESIS, CONSEJO SUPERIOR INVESTIG.
CIENTÍFICAS, C/AMERICO VESPUCIO S/N. ISLA
DE LA CARTUJA, 41092 SEVILLA (ES). **RIVAS
FLORIDO, Joaquín** [ES/ES]; INSTO. BIOQUIMICA
VEGETAL Y FOTOSINTESIS, CONSEJO SUPERIOR
INVESTIG. CIENTÍFICAS, C/AMERICO VESPUCIO

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,
para toda clase de protección regional admisible): ARIPO
(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE,
SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

— con informe de búsqueda internacional

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección
"Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al
principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.

(54) Title: METHOD OF OBTAINING LUTEIN-RICH CELLS FROM GREEN ALGA <I>MURIELLOPSIS</I> THROUGH
THE CULTURE THEREOF IN WEATHER-EXPOSED PONDS

(54) Título: PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE CÉLULAS DEL ALGA VERDE MURIELLOPSIS RICAS EN
LUTEÍNA, MEDIANTE SU CULTIVO EN ESTANQUES A LA INTEMPERIE

(57) Abstract: The invention relates to a method of obtaining a biomass of lutein-rich *Muriellopsis* microalga through the culture thereof in an open pond system which is agitated and exposed to adverse weather. The inventive method can be used to achieve high productivity values both for the biomass and the lutein carotenoid. In addition, said method can be used to widen the area of the culture process, thereby enabling large quantities of lutein-rich biomass to be obtained while maintaining the composition and quality of the product.

(57) Resumen: El objeto de la presente invención es un procedimiento para la obtención de biomasa de la microalga *Muriellopsis* rica en luteína mediante su cultivo a la intemperie en un sistema de estanque abierto con agitación. Mediante el procedimiento de la invención se alcanzan elevados valores de productividad, tanto de biomasa como del carotenoide luteína. Este sistema posibilita la ampliación del proceso de cultivo a extensiones mayores, permitiendo consecuentemente obtener elevadas cantidades de biomasa rica en luteína, manteniendo la composición y calidad del producto.



WO 2004/070021 A1

TÍTULO

Procedimiento para la obtención de células del alga verde *Muriellopsis* ricas en luteína, mediante su cultivo en estanques a la intemperie.

5 SECTOR DE LA TÉCNICA

Acuicultura. El objeto de la presente invención es un procedimiento para la obtención de biomasa rica en luteína de la microalga *Muriellopsis*, para su utilización como pigmento de origen biológico en alimentación animal (pollos, peces, etc.). Asimismo, la luteína obtenida mediante el presente procedimiento
10 puede ser utilizada como componente de alimentos funcionales para humanos en la prevención y tratamiento de diversas patologías, tales como cáncer, enfermedades cardiovasculares y degenerativas asociadas a la edad (cataratas, degeneración macular, etc.), así como en cosmética.

15 ESTADO DE LA TÉCNICA

Para el cultivo de microalgas a gran escala se han diseñado y empleado distintos sistemas abiertos al aire, que incluyen estanques de varios tipos. El cultivo de microalgas en sistema abierto combina características típicas de cultivos agrícolas (uso extensivo del terreno, agua y nutrientes, así como
20 dependencia del clima y la radiación solar) con otros propios de procesos industriales para el cultivo de microorganismos, tales como posibilidad de operación en continuo, con suministro de nutrientes a concentración óptima y control de los parámetros más importantes del proceso.

La generación de productos de interés comercial (pigmentos, antioxidantes,
25 vitaminas, ácidos grasos, etc.) constituye un aspecto central de la biotecnología de microalgas. Pocos son los sistemas establecidos industrialmente para la obtención de compuestos de microalgas, entre los que destacan carotenoides, ficobiliproteínas, lípidos o polisacáridos, provenientes de muy pocas estirpes de microalgas, tales como *Spirulina*, *Chlorella*, *Dunaliella*, *Haematococcus* o
30 *Porphyridium*. Entre estos compuestos con interés comercial sobresalen los carotenoides, que pueden presentarse en cantidades sustanciales en las células de determinadas microalgas, organismos que representan una fuente biológica idónea y casi exclusiva de algunos de estos pigmentos. Los

carotenoides son pigmentos isoprenoides liposolubles, con papel accesorio en la fotosíntesis, cuya coloración varía del amarillo al rojo. Los dos grupos generales de carotenoides son xantofilas y carotenos, que se diferencian entre sí porque sólo los primeros contienen oxígeno.

5 Las cada vez más restrictivas regulaciones del uso de colorantes sintéticos en la industria alimentaria han estimulado la investigación y desarrollo en la producción y empleo de pigmentos de origen biológico como aditivo en alimentos, así como en cosmética. La acuicultura, una de las áreas de mayor desarrollo actual en el campo de la producción alimentaria, demanda también
10 cantidades crecientes de carotenoides. Por otra parte, ensayos clínicos están poniendo de manifiesto propiedades beneficiosas de algunos carotenoides en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades, tales como cáncer, las cardiovasculares y las degenerativas asociadas a la edad, como cataratas o degeneración macular.

15 De entre los más de 600 carotenoides conocidos, sólo unos pocos tienen uso comercial. Su empleo como colorante natural en alimentación se extiende a una gran variedad de productos, como mantequilla, margarina, quesos y otros derivados lácteos, bebidas refrescantes, pasta, etc. Algunas xantofilas, como astaxantina o luteína se emplean también como aditivos en piensos para
20 incrementar la pigmentación de mariscos, salmónidos y otros peces, así como la de pollos y yemas de huevo.

A diferencia del caso del β -caroteno a partir de *Dunaliella*, no se ha autenticado todavía la operación de sistemas comerciales de producción de alguna xantofila de interés basado en microalgas en condiciones de cultivo
25 abierto al exterior. Sin embargo, su gran interés determina que se estén dedicando considerables esfuerzos a este fin. La mayoría de los intentos giran alrededor de la estirpe *Haematococcus pluvialis*, perteneciente al orden Volvocales, que puede presentar niveles de astaxantina de hasta el 2% del peso seco. En lo referente a microalgas productoras de otras xantofilas de
30 interés, tal como es la luteína, la información disponible es sumamente escasa. A este respecto, cabe señalar que el alga *Muriellopsis* tiene niveles considerables de luteína, disponiéndose de información sobre aspectos fisiológicos y bioquímicos de esta microalga, y de su cultivo en condiciones

controladas de laboratorio y en reactores cerrados (Del Campo *et al.* J. Biotechnol. (2000) 76, 51-59 y (2001) 85, 289-295), aunque hasta ahora se desconocía su comportamiento en cultivo en sistema abierto a la intemperie. Por último, existen patentes relacionadas con la producción del carotenoide β -caroteno en sistemas de cultivo abierto empleando el alga *Dunaliella* (JP57159484, IL54881, CN1044200, entre otras).

EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

El objeto de la presente invención es un procedimiento para la obtención de células de *Muriellopsis* ricas en luteína, mediante su cultivo a la intemperie en estanques abiertos con agitación y que comprende las etapas de:

- a) introducción en los estanques de una suspensión celular de *Muriellopsis* con una densidad comprendida entre 1 y 4×10^6 células ml^{-1} .
- b) circulación de la suspensión celular por el estanque a una velocidad comprendida entre $0,20$ y $0,55$ m s^{-1} durante un periodo comprendido preferentemente entre 1 y 30 días, pudiendo prolongarse dicho periodo más de 30 días, sin control de temperatura y sometido a la irradiancia solar habitual de la zona.
- c) crecimiento de las células y mantenimiento del cultivo en régimen semicontinuo, recogiendo la biomasa de *Muriellopsis* contenida en los estanques, retirando parte del volumen de la suspensión celular y reemplazándolo por medio de cultivo libre de células para alcanzar una densidad celular mínima de 4×10^6 células ml^{-1} .

El sistema de cultivo se encuentra a la intemperie, la fuente de iluminación es la luz solar, la temperatura no se controla en ningún momento del proceso, y el valor de pH del cultivo esta comprendido entre $6,5$ y 10 . La suspensión celular circula a una velocidad comprendida entre $0,20$ y $0,55$ m s^{-1} , mediante impulsión por rueda giratoria provista de paletas. La suspensión celular se mantiene a una profundidad comprendida entre 5 y 20 cm, y preferentemente a 10 cm.

El contenido en luteína de la biomasa producida por el presente procedimiento esta comprendido entre el $0,4$ y el 1% del peso seco.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

El objeto de la presente invención es un procedimiento para la obtención de biomasa del alga *Muriellopsis* rica en luteína, mediante su cultivo a la intemperie en sistemas abiertos de estanques poco profundos, con control de agitación, densidad celular, profundidad y pH del proceso, y que comprende las etapas de:

5 a) introducción en los estanques de una suspensión de células de *Muriellopsis* en medio de cultivo, con una densidad comprendida entre 1 y 4×10^6 células ml^{-1} , siendo la altura de la columna líquida entre 5 y 20 cm, y preferentemente de 10 cm.

10 b) agitación mediante una rueda giratoria provista de paletas que giran a una velocidad suficiente para provocar la circulación de la suspensión celular por el estanque a una velocidad comprendida entre $0,20$ y $0,55$ m s^{-1} , durante un periodo comprendido entre 1 y 30 días, siendo también posible prolongar el cultivo más de 30 días, sin control de temperatura, siendo la fuente de iluminación la radiación solar habitual de la zona.

15 c) recogida de la biomasa de *Muriellopsis* contenida en los estanques, retirando parte del volumen de la suspensión celular y reemplazándolo por medio de cultivo libre de células para alcanzar una densidad celular mínima de 4×10^6 células ml^{-1} , ya que el proceso se realiza en régimen semicontinuo.

20 Esta microalga tiene la capacidad de crecer en un amplio margen de pH, siendo capaz de desarrollarse a valores de pH comprendidos entre $6,5$ y 10 . Durante el proceso, el pH se mantiene próximo a su valor prefijado mediante la inyección de CO_2 a través de un tubo poroso, situado en el fondo del estanque, que suministra el gas en pequeñas burbujas que difunden en el medio líquido.

25 El caudal de CO_2 suministrado se regula con medidores de flujo y su suministro puede controlarse mediante la operación de una electroválvula conectada a un sistema detector de un parámetro de interés, tal como la irradiancia solar o el pH. El contenido en luteína de la biomasa producida por la presente invención

30 esta comprendido entre el $0,4$ y el 1% del peso seco.

EJEMPLO DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

El siguiente ejemplo sirve para ilustrar la invención y no debe ser considerado como limitativo del alcance de la misma.

Elementos de los estanques

- 5 Los cultivos de *Muriellopsis* sp. se llevan a cabo a la intemperie en estanques abiertos de 3 m² de superficie, dotados de un sistema de agitación compuesto por una rueda giratoria con tres paletas en ángulo de 120°, impulsada por un motor eléctrico, para provocar la mezcla continua de la suspensión celular. Este sistema permite obtener una velocidad lineal del fluido de 0,30 m s⁻¹ cuando las
- 10 paletas giran a 10 rpm y de 0,55 m s⁻¹ cuando giran a 20 rpm. Los estanques son de forma oblonga, siendo sus extremos curvos y desprovistos de aristas, y están contruidos con poliéster reforzado con fibra de vidrio (PRFV), siendo sus dimensiones de 2,8 m de longitud máxima, 1,2 m de anchura máxima y 0,3 m de altura, estando divididos transversalmente en dos mitades (canales) por un
- 15 tabique longitudinal de 1,6 m, que deja espacios libres de unos 0,6 m a cada uno de los extremos. La rueda giratoria con las tres paletas está situada en uno de los canales del estanque, con su eje cercano a uno de los extremos, teniendo las paletas el máximo ancho posible respecto a la sección del canal, llegando asimismo hasta el fondo del estanque, siendo estas condiciones
- 20 relevantes para su consideración en el diseño de estanques de mayor dimensión.

Condiciones óptimas para el cultivo de *Muriellopsis*

- 25 No se conocen experiencias previas del cultivo de *Muriellopsis* al exterior en estanques abiertos. Por ello, se ha verificado el crecimiento de la microalga y se han definido las condiciones óptimas para su cultivo en el sistema que aquí se presenta, considerando diversas variables, tales como densidad celular, velocidad de circulación, profundidad y pH para los valores de temperatura e irradiancia ambientales de la zona.
- 30 La influencia de los factores antes mencionados (densidad celular, profundidad, velocidad de circulación y pH) se han ensayado en distintas épocas del año. Se han conseguido valores de productividad de biomasa y luteína del orden de 12 y 0,07 g m⁻² día⁻¹, respectivamente, durante la primavera con una irradiancia

6

solar media de alrededor de $10 \text{ MJ m}^{-2} \text{ día}^{-1}$. Estos valores se han obtenido para una profundidad de la suspensión celular de 10 cm, manteniendo una densidad de población mínima de $4 \times 10^6 \text{ células ml}^{-1}$ y un valor de pH en torno a 8, con una velocidad de flujo de la suspensión de $0,45 \text{ m s}^{-1}$. A valores inferiores de velocidad de flujo y más elevados de profundidad o densidad celular, disminuía la productividad, tanto de biomasa como de luteína.

Las células de *Muriellopsis* obtenidas en estas condiciones poseen luteína como carotenoide mayoritario, que representa al menos el 65% del total de carotenoides, entre los que también se encuentran β -caroteno y violaxantina, aunque en inferior proporción.

El trabajo se ha desarrollado utilizando la microalga *Muriellopsis* proveniente de la marisma del Empordá.

REIVINDICACIONES

1.- Procedimiento para la obtención de células de *Muriellopsis* ricas en luteína, mediante su cultivo a la intemperie caracterizado por la utilización de estanques abiertos al aire y que comprende las etapas de:

- 5 a) introducción en los estanques de una suspensión celular de *Muriellopsis* con una densidad comprendida entre 1 y 4×10^6 células ml^{-1} .
- b) circulación de la suspensión celular por los estanques a una velocidad comprendida entre $0,20$ y $0,55$ m s^{-1} durante un periodo comprendido preferentemente entre 1 y 30 días sin control de temperatura y con la irradiancia solar habitual de la zona.
- 10 c) crecimiento de las células y mantenimiento del cultivo en régimen semicontinuo, recogiendo la biomasa de *Muriellopsis* contenida en los estanques, retirando parte del volumen de la suspensión celular y reemplazándolo por medio de cultivo libre de células para alcanzar una densidad celular mínima de 4×10^6 células ml^{-1} .

15

2.- Procedimiento para la obtención de células de *Muriellopsis* ricas en luteína según la reivindicación 1, caracterizado porque el sistema de cultivo se encuentra a la intemperie y la fuente de iluminación es la luz solar.

- 20 3.- Procedimiento para la obtención de células de *Muriellopsis* ricas en luteína según las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado porque la suspensión celular circula a una velocidad comprendida entre $0,20$ y $0,55$ m s^{-1} .

- 25 4.- Procedimiento para la obtención de células de *Muriellopsis* ricas en luteína según las reivindicaciones 1-3, caracterizado porque la circulación de la suspensión celular se realiza mediante impulsión por rueda giratoria provista de paletas.

5.- Procedimiento para la obtención de células de *Muriellopsis* ricas en luteína según las reivindicaciones 1-4, caracterizado porque la temperatura no se controla en ningún momento del proceso.

5 6.- Procedimiento para la obtención de células de *Muriellopsis* ricas en luteína según las reivindicaciones 1-5, caracterizado porque la suspensión celular se mantiene circulando por los estanques durante un periodo comprendido preferentemente entre 1 y 30 días.

10 7.- Procedimiento para la obtención de células de *Muriellopsis* ricas en luteína según las reivindicaciones 1-6, caracterizado porque la suspensión celular se mantiene circulando por los estanques durante un periodo superior a 30 días.

15 8.- Procedimiento para la obtención de células de *Muriellopsis* ricas en luteína según las reivindicaciones 1-7, caracterizado porque el valor de pH de dicho cultivo está comprendido entre 6,5 y 10.

20 9.- Procedimiento para la obtención de células de *Muriellopsis* ricas en luteína según las reivindicaciones 1-8, caracterizado porque la suspensión celular se mantiene a una profundidad comprendida entre 5 y 20 cm, y preferentemente a 10 cm.

25 10.- Procedimiento para la obtención de células de *Muriellopsis* ricas en luteína según las reivindicaciones 1-9, caracterizado porque el contenido en luteína de la biomasa producida por dicho procedimiento está comprendido entre el 0,4 y el 1% del peso seco.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES 2004/070005

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7 C12N 1/12 // (C12N 1/12, C12R 1:89)		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC 7 C12N		
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 practicable, search terms used)		
CIBEPAT, EPODOC, WPI, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, XPESP		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DEL CAMPO, J.A. et al. Lutein production by Muriellopsis sp. in an outdoor tubular photobiorreactor. Journal of Biotechnology. 23.02.2001, vol 85, n° 3, pages 289-295.	1-10
A	DEL CAMPO, J.A. et al. Carotenoid content of chlorophycean microalgae: factors determining lutein accumulation in Muriellopsis sp. (chlorophyta) Journal of Biotechnology. 07.012000, volumen 76, n° 1, pages 51-59.	1-10
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
18 MAY 2004 (18.05.04)		25 MAY 2004 (25.05.04)
Name and mailing address of the ISA/ S.P.T.O.		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ ES 2004/070005

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

CIP⁷ C12N 1/12 // (C12N 1/12, C12R 1:89)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y la CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

CIP⁷ C12N

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

CIBEPAT, EPODOC, WPI, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, XPESP

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	DEL CAMPO, J.A. et al. Lutein production by Muriellopsis sp. in an outdoor tubular photobiorreactor. Journal of Biotechnology. 23.02.2001, volumen 85, nº 3, páginas 289-295.	1-10
A	DEL CAMPO, J.A. et al. Carotenoid content of chlorophycean microalgae: factors determining lutein accumulation in Muriellopsis sp. (chlorophyta) Journal of Biotechnology. 07.012000, volumen 76, nº 1, páginas 51-59.	1-10

En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T"	documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&"	documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.		
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.		

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.

18 Mayo 2004 (18.05.2004)

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional

25 MAY 2004 25.05.2004

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional

O.E.P.M.

Funcionario autorizado

Fco. J. Haering Pérez

C/Panamá 1, 28071 Madrid, España.

Nº de fax 34 91 3495304

Nº de teléfono + 34 91 3495473