



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 356 607**

51 Int. Cl.:
A23K 1/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03787741 .2**

96 Fecha de presentación : **12.08.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1531682**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.05.2005**

54 Título: **Composición de pienso y método de alimentación de animales.**

30 Prioridad: **14.08.2002 DK 2002 01207**
20.05.2003 DK 2003 00762

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
11.04.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
11.04.2011

73 Titular/es: **NOVOZYMES A/S**
Krogshøjvej 36
2880 Bagsværd, DK
OERAVEIEN INDUSTRIPARK AS.

72 Inventor/es: **Pedersen, Bent Piiil y**
Standal, Hakon

74 Agente: **Tomás Gil, Tesifonte Enrique**

ES 2 356 607 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición de pienso y método de alimentación de animales.

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a una composición de pienso que comprende proteínas de pescado hidrolizadas y un método para alimentar animales.

10 Antecedentes de la invención

La proteína en el pienso es esencial para los animales en crecimiento. Para conseguir un índice de crecimiento máximo, la proteína debería estar disponible no sólo en la cantidad óptima sino también en una forma más adecuada para la absorción y utilización por el animal en crecimiento. Las proteínas de pescado se utilizan en composiciones de pienso para alimentar muchas especies de animales diferentes tal como pez, cerdos, ave, ganado bovino y animales de pelaje, frecuentemente en forma de harina de pescado. La harina de pescado se obtiene a partir de materia prima de pescado por un proceso de calentamiento, prensado, separación, y secado, después de lo cual el producto se halla en forma seca conocida como harina de pescado. El valor nutritivo de harina de pescado es variable, dependiendo de factores tales como la especie y la frescura de la materia prima y de las condiciones del tratamiento. Para aumentar el valor nutritivo de las composiciones de pienso, se ha propuesto el uso de hidrolizado de proteínas de pescado como una sustitución de la harina de pescado y otras fuentes de proteína. El hidrolizado de proteínas de pescado tiene un contenido más alto de péptidos y aminoácidos libres, que deberían ser más fácilmente digeribles, especialmente para animales jóvenes cuyo sistema digestivo no está completamente desarrollado. El hidrolizado de proteínas de pescado adicionalmente tiene la ventaja de que se puede producir a partir de desechos de pescaderías e industrias de tratamiento.

El hidrolizado de proteínas de pescado puede estar en forma de ensilado de pescado producido por hidrólisis ácida de proteínas de pescado. Espe *et al.* (Aquaculture 174 (1999) 119-137) divulga la sustitución parcial de harina de pescado por concentrado de ensilado de pescado en una composición de pienso para salmón atlántico. Ellos observaron un índice de crecimiento máximo cuando el 15% de harina de pescado fue sustituido por concentrado de ensilado de pescado. Con la sustitución del 25% o más de harina de pescado, observaron un índice de crecimiento inferior que sin sustitución de harina de pescado.

Hidrolizado de proteínas de pescado puede también ser preparado por hidrólisis enzimática de proteínas de pescado, por ejemplo por el proceso descrito en US 3697285 utilizando una proteasa alcalina bacteriana.

Oliva-Teles *et al.* (Aquaculture 179 (1999) 195-201) divulga la sustitución de harina de pescado por hidrolizado de proteínas de pescado producido enzimáticamente en una composición de pienso para especies juveniles de rodaballo. Sustituyeron un 7%, 21%, y 35% de harina de pescado, respectivamente, en la composición de pienso para 3 grupos de pescado, pero encontraron índices de crecimiento inferiores cuando se sustituyó harina de pescado por hidrolizado de proteínas de pescado que en un grupo de control alimentado con una composición de pienso sin sustitución.

Cahu *et al.* (Aquaculture 171 (1999) 109-119) compararon el índice de crecimiento de larvas de lubina alimentadas con composiciones de pienso donde cantidades variables de harina de pescado fueron sustituidas por hidrolizado de proteínas de pescado producido enzimáticamente. Encontraron el índice de crecimiento máximo cuando nada o un 25% de harina de pescado fue sustituido, mientras que el índice de crecimiento fue significativamente inferior cuando el 50% o 75% de harina de pescado fue sustituido por hidrolizado de proteínas de pescado.

Los documentos US-A3578461 y US-A-4473589 revelan reacciones enzimáticas en materias conteniendo proteínas.

Un hidrolizado de proteínas de pescado que puede reemplazar cantidades sustanciales de fuentes de proteína tradicionales en composiciones de pienso con impacto provechoso en el índice de crecimiento animal es deseado.

55 Resumen de la invención

La presente invención se refiere a una composición de pienso para alimentar animales, preparada por un método que comprende a) hidrolizar carne de pescado con una proteasa neutra y una proteasa alcalina, y b) inactivar las proteasas por tratamiento térmico.

En otro aspecto la invención se refiere a un método de alimentación de animales con una composición de pienso que comprende un hidrolizado de proteínas de pescado preparado por un método que comprende: a) hidrolizar carne de pescado con una proteasa neutra y una proteasa alcalina; y b) inactivar las proteasas por tratamiento térmico.

65

Descripción detallada de la invención*Materia prima para hidrólisis de carne de pescado*

5 La carne de pescado usada en la presente invención puede ser cualquier tipo de proteína que comprenda materia de pescado. La carne de pescado puede ser cuerpos de pescado enteros o partes de los mismos. Así, el proceso de la invención puede comprender una etapa de dividir cuerpos de pescado enteros en pedazos. La materia de pescado puede también ser desecho de fileteado de pez rojo, por ejemplo salmón o trucha, pez blanco, por ejemplo bacalao, eglefino o merluza, atún y caballa. La materia de pescado puede ser de cualquier tipo de pescado, por ejemplo seleccionado del grupo que consiste en pez blanco, pez rojo o pez pelágico, tal como arenque pequeño, bacalao, eglefino, atún, anguila de mar, salmón, arenque, sardina, caballa, paparda, arenque redondo, merluza de Alaska, pez plano, anchoa, sardina, bacaladilla, trucha, siluro, lubina, capelán, faneca noruega y locha o cualquier combinación de los mismos. En una forma de realización preferida la materia de pescado comprende carne de pescado cruda. Por carne de pescado cruda se entiende carne de pescado que no ha sido sometida a temperaturas superiores a la temperatura de desnaturalización de las proteínas, es decir en una forma de realización por encima de 70°C. En otra forma de realización de la invención la carne de pescado ha sido calentada a más de 80°C, preferiblemente a temperaturas entre 90°C y 100°C, y puede además haber sido prensada para eliminar el aceite. En una forma de realización la carne de pescado es el desecho de la producción de aceite de pescado.

20 *Proteasas*

Una proteasa neutra según la invención es definida como una proteasa con un pH óptimo entre 6.5 y 7.5, medido según el método Anson como por ejemplo se describe en “Kinetic dimethyl casein method for determination of Alcalase activity by means of <Cobas> FARA centrifugal analyzer (SM-0218.02/01)” disponible bajo pedido por Novozymes A/S, Bagsværd, Dinamarca. Una proteasa alcalina según la invención es definida como una proteasa con un pH óptimo entre 8 y 10, medido según el método Anson. Las proteasas neutras y proteasas alcalinas pueden ser de cualquier origen, tal como de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal.

En una forma de realización preferida de la invención la proteasa neutra se deriva de un microorganismo de la especie *Bacillus*, en una forma de realización más preferida la proteasa neutra se deriva de *Bacillus amyloliquefaciens*. En otra forma de realización preferida la proteasa neutra se deriva de un microorganismo de la especie *Aspergillus*, más preferiblemente la proteasa neutra se deriva de *Aspergillus oryzae*. Un ejemplo de una proteasa neutra disponible comercialmente según la invención es Neutrase™ (Novozymes A/S, Bagsværd, Dinamarca).

35 En una forma de realización preferida de la invención la proteasa alcalina se deriva de un microorganismo de la especie *Bacillus*, en una forma de realización más preferida la proteasa alcalina se deriva de *Bacillus licheniformis*. En otra forma de realización preferida la proteasa alcalina se deriva de un microorganismo de la especie *Aspergillus*, más preferiblemente la proteasa alcalina se deriva de *Aspergillus oryzae*. Un ejemplo de una proteasa alcalina disponible comercialmente según la invención es Alcalase™ (Novozymes A/S, Bagsværd, Dinamarca).

40 *Hidrólisis*

Según la invención la carne de pescado se hidroliza con una proteasa neutra y una proteasa alcalina. La hidrólisis se puede realizar por cualquier método apropiado conocido en la técnica. En una forma de realización preferida la carne de pescado se mezcla con agua antes de la hidrólisis. En una forma de realización la cantidad de agua está entre 20% y 200% del peso de la carne de pescado, tal como entre 40% y 150%, especialmente entre 75% y 125% del peso de la carne de pescado. La hidrólisis se puede realizar a cualquier temperatura apropiada. La temperatura usualmente será seleccionada para conseguir una actividad elevada de las enzimas. En una forma de realización preferida la temperatura está por debajo de la temperatura de desnaturalización de las proteínas, es decir en una forma de realización por debajo de aprox. 70°C, tal como por ejemplo entre 20°C y 70°C, preferiblemente entre 40°C y 60°C, más preferiblemente entre 50°C y 60°C. El pH de la hidrólisis puede ser cualquier pH. En una forma de realización preferida el pH se selecciona para conseguir una actividad elevada de las enzimas. En otra forma de realización preferida el pH se halla entre 4 y 10, tal como entre 5 y 9, más preferiblemente entre 6 y 8. El pH puede ser el pH natural de la mezcla de hidrólisis o se puede ajustar por cualquier método conocido en la técnica tal como adición de ácido o base. La hidrólisis se puede realizar para cualquier tiempo apropiado para conseguir el resultado deseado, tal como entre 10 minutos y 10 horas, preferiblemente entre 20 minutos y 4 horas, más preferiblemente entre 30 minutos y 2 horas.

En una forma de realización preferida las proteasas se añaden a carne de pescado fría, por ejemplo a una temperatura de, 0-30°C, preferiblemente a 0-20°C, más preferiblemente a 2-10°C. Después de la adición de enzimas la carne de pescado puede ser gradualmente calentada, por ejemplo a una temperatura de 40-100°C, preferiblemente 60-100°C, más preferiblemente 80-100°C. En una forma de realización la temperatura final es suficiente para inactivar la enzima.

En una forma de realización preferida la hidrólisis resulta en un grado de hidrólisis (DH) entre 5% y 50%, tal como entre 10% y 30%, más preferiblemente entre 15% y 20%. El DH se puede determinar por el método de reacción de OPA como se describe por Nielsen *et al.* Journal of Food Science 66 (2001) 642-646 y en “ED-9512723” disponible bajo pedido por Novozymes A/S, Bagsværd, Dinamarca.

ES 2 356 607 T3

Tratamiento térmico

Según la invención la hidrólisis es terminada inactivando las proteasas por tratamiento térmico. El tratamiento térmico se puede realizar a cualquier temperatura y durante un tiempo suficiente para inactivar las proteasas. En una forma de realización preferida el tratamiento térmico se realiza a 80-110°C durante 10 segundos-1 hora, más preferiblemente a 85-100°C durante 5-30 minutos, de la forma más preferible a 90-95°C durante 10-20 minutos. En otra forma de realización preferida el calentamiento se realiza a 90-100°C durante 10-60 minutos.

Eliminación de aceite

En una forma de realización de la invención la parte esencial del aceite se elimina después de la hidrólisis y de la inactivación de las enzimas para producir un producto de hidrólisis sustancialmente sin grasa. El aceite se puede eliminar por cualquier método adecuado conocido en la técnica. En una forma de realización preferida de la invención el aceite se elimina por centrifugado en un separador o centrífuga de decantación. En otra forma de realización preferida el aceite se elimina en un decantador trifásico que además elimina la materia insoluble de la fase acuosa. Por “sustancialmente sin grasa” se entiende que se elimina la parte esencial del aceite, conservando sólo la cantidad de aceite normalmente que se conserva cuando se usan métodos convencionales conocidos en la técnica para la eliminación de aceite. La cantidad de aceite en el producto de hidrólisis sustancialmente sin grasa puede por ejemplo ser 0-10% (p/p) de la sustancia seca, tal como 0-8% (p/p) de la sustancia seca, preferiblemente 0-5% (p/p) de la sustancia seca, más preferiblemente 0-2% (p/p) de la sustancia seca, incluso más preferiblemente 0-1% (p/p) de la sustancia seca.

En una forma de realización la cantidad de aceite se reduce en comparación con la harina de pescado convencional. En una forma de realización preferida la cantidad de aceite en el producto de hidrólisis se reduce en comparación con el mismo producto producido sin el uso de enzimas proteolíticas. La cantidad de aceite en el producto de hidrólisis puede por ejemplo ser 5-90%, tal como 10-80%, preferiblemente de 20-70%, más preferiblemente 30-60% de la cantidad de aceite en el mismo producto producido sin el uso de enzimas proteolíticas.

Muchos contaminantes medioambientales, por ejemplo dioxinas y PCB (bifenilos policlorados), que pueden estar presentes en la carne de pescado, son conocidos por seguir la fase lípida. En una forma de realización la cantidad de dioxinas y/o PCB es reducida en comparación con la harina de pescado convencional. En una forma de realización preferida la cantidad de dioxinas y/o PCB en el producto de hidrólisis se reduce en comparación con el mismo producto producido sin el uso de enzimas proteolíticas. La cantidad de dioxinas y/o PCB en el producto de hidrólisis puede por ejemplo ser 5-90%, tal como 10-80%, preferiblemente 20-70%, más preferiblemente 30-60% de la cantidad de dioxinas y/o PCB en el mismo producto producido sin el uso de enzimas proteolíticas.

En una forma de realización preferida de la invención la mezcla de hidrólisis se pasa a través de una criba o filtro antes de la eliminación del aceite, para eliminar todo o parte del material insoluble. En otra forma de realización preferida la mezcla de hidrólisis se pasa a través de un filtro después de la eliminación de aceite para reducir la turbidez del producto.

En una forma de realización, los sólidos insolubles se eliminan de la mezcla de hidrólisis después de la inactivación de la enzima. Los sólidos pueden por ejemplo ser eliminados en una prensa, un decantador, y/o un separador. En una forma de realización preferida la mezcla de hidrólisis se prensa para separar el líquido y los sólidos. Después de prensar el aceite se puede eliminar del líquido por cualquier método conocido en la técnica, preferiblemente en un decantador y/o un separador.

Concentración

En una forma de realización preferida el producto de hidrólisis se concentra por eliminación de agua. La concentración se puede realizar por cualquier método conocido en la técnica, tal como evaporación o filtración. En una forma de realización preferida la mezcla de hidrólisis se concentra en un evaporador de película descendente y posteriormente secado por atomización.

En una forma de realización el concentrado se mezcla con sólidos que han sido eliminados de la mezcla de hidrólisis, por ejemplo por prensado o decantación.

Secado

En una forma de realización preferida el producto de hidrólisis es secado.

El secado es preferiblemente conducido después de la concentración.

En una forma de realización el secado se conduce por secado por discos. El secado por discos se conoce en la técnica para el secado de harina de pescado. En una forma de realización preferida el producto de hidrólisis se seca en un secador por discos al vacío.

ES 2 356 607 T3

En otra forma de realización preferida el producto de hidrólisis se seca por secado en tambores. El secado en tambores es bien conocido en la técnica para el secado de productos alimenticios, por ejemplo la leche. Un secador rotativo funciona aplicando una capa fina de líquido en tambores calentados rotatorios. Durante el secado una película de materia sólida se forma en la superficie de los tambores cuando el agua se evapora. Cuchillas raspadoras eliminan continuamente la materia seca de los tambores.

En una forma de realización se añade sal al hidrolizado para la conservación. En una forma de realización preferida se añade un 5-25% (p/p) de sal al hidrolizado, tal como 10-20% (p/p) de sal, más preferiblemente 10-15% (p/p) de sal. Se puede añadir sal en cualquier punto apropiado del proceso, tal como antes, después, o durante la concentración.

Composición de pienso

En un aspecto la invención se refiere a una composición de pienso preparada por un método que comprende a) hidrolizar carne de pescado con una proteasa neutra y una proteasa alcalina; y b) inactivar las proteasas por tratamiento térmico. El término “composición de pienso” significa cualquier compuesto, preparación, mezcla, o composición adecuada para, o destinada para la ingesta por un animal. La composición de pienso puede comprender además cualquier otro ingrediente adecuado para la ingesta por animales, por ejemplo comprendiendo fuentes de proteína, lípidos, carbohidratos, sales, minerales y vitaminas. Los ingredientes pueden ser seleccionados, y mezclados en cualquier proporción adecuada para reunir las necesidades nutritivas de los animales para ser alimentados con la composición de pienso y/o para mantener el coste de materia prima de la composición de pienso dentro de los límites deseados y/o para conseguir otras propiedades deseadas de la composición de pienso. Los ingredientes están normalmente seleccionados entre, pero no limitados a, las siguientes materias: productos derivados de plantas, tales como semillas, granos, hojas, raíces, tubérculos, flores, vainas, cáscaras, aceite, harina de soja, aislado de proteínas de soja, polvo de proteína de patata, trigo, cebada, maíz, aceite de soja, y harina de gluten de maíz; productos derivados de animales, tales como harina de pescado, aceite de pescado, leche en polvo, leche desnatada en polvo, extracto de hueso, extracto de carne, extracto de sangre, y similares; aditivos, tales como minerales, vitaminas, compuestos de aroma, y enzimas que mejoran los piensos.

La composición de pienso según la invención puede contener cualquier cantidad de hidrolizado de carne de pescado según la invención adecuada para reunir las necesidades nutritivas de los animales para ser alimentados con la composición de pienso y/o para tener el coste de materia prima de la composición de pienso dentro de los límites deseados y/o para conseguir otras propiedades deseadas de la composición de pienso. En una forma de realización preferida el hidrolizado de carne de pescado según la invención constituye un 0.5-40% (p/p) de la materia seca de la composición de pienso, preferiblemente 1-30% (p/p) de la materia seca de la composición de pienso, más preferiblemente 2-16% (p/p) de la materia seca de la composición de pienso.

La composición de pienso se puede preparar por cualquier método conocido en la técnica, tal como aglomeración, extrusión, expansión, o granulación.

Método de alimentación de animales

En un aspecto la invención se refiere a un método para alimentar animales con una composición de pienso según la invención. La composición de pienso según la invención puede estar en cualquier forma adecuada y ser administrada a los animales en cualquier modo adecuado conocido en la técnica.

Animales

El término “animales”, como se utiliza en este caso, incluye todos animales. Ejemplos de animales son no rumiantes, y rumiantes tales como ganado bovino, ovejas y caballos. En una forma de realización particular el animal es un animal no rumiante. Animales no rumiantes incluyen animales monogástricos, por ejemplo cerdos o puercos (incluyendo, pero no limitados a, lechones, cochinitos destetados, cerdos en crecimiento, y cerdas); aves tales como pavos y pollos (incluyendo pero no limitados a pollos broiler y gallinas ponedoras); terneros jóvenes; peces incluyendo, pero no limitados a, peces de agua dulce y de agua salada, larvas de peces, peces en crecimiento, salmón, trucha, rodaballo, lubina, bacalao, merluza, besugo, siluro, lenguado, anguila, carpa; gamba y erizo de mar; y animales de pelaje incluyendo, pero no limitados a, visón y zorro.

Ejemplos

Hidrolizado de proteínas de pescado

Hidrolizado de proteínas de pescado según la invención fue producido a partir de peces enteros, cabezas, esqueleto e intestinos de salmón, trucha, merluza y arenque, por el siguiente proceso:

- Materia prima y agua fueron mezcladas en la proporción 1:1.
- La mezcla fue calentada en un reactor con agitación a 55°C.

ES 2 356 607 T3

- 1 kg de Protamex™ (una mezcla de una proteasa neutra y una proteasa alcalina disponible por Novozymes A/S, Bagsværd, Dinamarca) por 1000 kg de materia prima fue añadido, y la reacción fue seguida de la medición de pH, 0 Brix y osmolalidad; la reacción enzimática se efectuó durante 45 minutos, seguido de una inactivación térmica de la enzima a 95°C durante 15 minutos.
- Tamizado para eliminar materia ósea.
- La mezcla fue separada usando Westfalia SC35 y SB-7 separadores. La mezcla fue separada en una fase de aceite líquida, una fracción de proteína soluble, y una pasta de fracción de proteína insoluble.
- La fracción de proteína soluble fue evaporada usando un evaporador de película descendente Niro Atomizer FF 150.
- El concentrado evaporado fue secado por atomización usando un secador por atomización Niro Atomizer P-6.

Ejemplo 1

Sustitución de harina de pescado por hidrolizado de proteínas de pescado en una composición de pienso para salmón

50 peces (salmón atlántico, aprox. 125 g de peso inicial) fueron asignados de forma aleatoria a cada uno de los tanques de 161 metros cúbicos conteniendo agua salada a 7-8°C. Los tanques fueron divididos en 4 grupos y cada grupo fue alimentado con una de 4 dietas experimentales según la tabla 2. Las dietas fueron formuladas para ser isonitrógenas e isoenergéticas en una proteína cruda y base de energía bruta, y contenían 10% de harina de soja, aprox. 14% almidón de trigo, 35% de lípido de aceite de pescado y 35% de proteína cruda. Las 4 dietas experimentales contenían cantidades variables de harina de pescado LT (Norse LT-94 Norsildmel, Fyllingsdalen, Noruega) e hidrolizado de proteínas de pescado preparado como se ha descrito anteriormente. La composición de harina de pescado e hidrolizado de proteínas de pescado se da en la tabla 1.

El pienso no comido fue recogido del agua de salida de los tanques como se describe por Helland *et al.*, Aquaculture 139, 1996, 157-163. Los peces fueron alimentados aprox. un 15% en exceso basado en los requisitos alimentarios previstos y el pienso no comido en los colectores de vertido. Los peces fueron pesados individualmente con intervalos predeterminados durante el experimento y ayunados durante un día antes de la ponderación.

TABLA 1

Composición de harina de pescado e hidrolizado de proteínas de pescado

	Harina de pescado LT	Hidrolizado de proteínas de pescado
Materia seca (DM), g/kg	934.9	977.4
Lípido, g/kg DM	141.2	55.9
Almidón, g/kg DM	3.1	0.7
Ceniza, g/kg DM	151.0	64.3
Proteína cruda, g/kg DM	752.2	902.9

ES 2 356 607 T3

TABLA 2

Formulación y composición de composiciones de pienso, y datos de crecimiento para salmón alimentado con composiciones de pienso respectivas (promedio ± desviación estándar)

	FM	FPH-05	FPH-10	FPH-15
Formulación:				
Harina de pescado ¹ , g/kg	411.1	344.9	279.0	211.6
Hidrolizado de proteínas de pescado, (FPH) G/kg	0.0	51.2	102.8	154.3
Aceite de pescado, g/kg	313.0	320.1	327.5	334.4
Harina de semilla de soja ² , g/kg	102.2	102.5	102.8	102.9
Trigo, g/kg	170.4	178.1	184.6	193.6
Ingredientes constantes ³ , g/kg	3.3	3.3	3.3	3.3
Composición:				
Materia seca, g/kg	948.7	945.0	946.8	943.7
Proteínas de pescado crudas, g/kg	279	279	280	279
- de harina de pescado	279	234	189	143

ES 2 356 607 T3

- de FPH	0	45	91	136
% de proteínas de pescado crudas de FPH	0	16	33	49
Energía bruta, MJ	26.2	26.5	26.5	26.5
Peso de pescado alimentado con las composiciones de pienso respectivas:				
0 días, g	163±1	164±1	163±1	163±1
28 días, g	210±3	227±1	231±2	233± 2
56 días, g	285±8	310±7	325±8	335±5
Índice de crecimiento específico⁴ (SGR) de peces alimentados con las composiciones de pienso respectivas:				
0-28 días	1.02±0.06	1.29±0.03	1.39±0.02	1.43±0.03
29- 60 días	1.22±0.06	1.25±0.08	1.36±0.07	1.45±0.03
¹ Norse LT-94 (Norsildmel, Fyllingsdalen, Noruega).				
² Denosoy (Denofa, Fredrikstad, Noruega).				
³ Ingredientes constantes, por kg: 2.9 g de vitamina y premezcla mineral (G.O. Johnsen, Oslo, Noruega); 0.3 g de vitamina C fosforilada (G.O. Johnsen); 0.1 g Y2 O3 (Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo, EEUU).				
⁴ Índice de crecimiento específico: el aumento de peso diario porcentual.				

45 *Resultados*

La Tabla 2 muestra el peso medio e índice de crecimiento específico de los peces en los 4 grupos diferentes. Se puede observar que el índice de crecimiento aumenta al aumentar la sustitución de harina de pescado con el hidrolizado de proteínas de pescado de la invención. Sorprendentemente, el índice de crecimiento máximo se obtiene al nivel máximo de sustitución, donde el 49% (basado en proteína cruda) de harina de pescado ha sido sustituido por el hidrolizado de proteínas de pescado de la invención.

Ejemplo 2

55 *Crecimiento de lechones cuando el aislado de proteínas de soja se sustituye por hidrolizado de proteínas de pescado en la composición de pienso*

60 48 lechones de 24 días de edad y con un peso 7.6 kg de media fueron distribuidos en 4 grupos según un diseño en bloques aleatorio. Los lechones fueron alojados individualmente bajo condiciones estandarizadas. Durante 3 semanas los lechones fueron alimentados con una mezcla de pienso de preiniciación y durante las 3 semanas posteriores una mezcla de pienso de iniciación. Ambas fueron granuladas y ofrecidas para la ingesta *ad libitum*. Un grupo actuó como control, en los 3 grupos restantes cantidades variables de aislado de proteínas de soja fueron sustituidas con el hidrolizado de proteínas de pescado de la invención. La composición de las dietas se da en la tabla 1 y 2. Se registró el aumento de masa corporal, consumo de pienso *ad libitum* y la relación de conversión de pienso (g de pienso/g de aumento de peso).

ES 2 356 607 T3

TABLA 1

Composición de las dietas de preiniciación (%)

Grupo	I	II	III	IV
Hidrolizado de proteínas de pescado	-	2.0	4.0	6.0
Aislado de proteínas de soja	6.0	4.0	2.0	-
Leche desnatada en polvo	15.0	15.0	15.0	15.0
Proteína de patata en polvo	3.5	3.5	3.5	3.5
Harina de gluten de maíz	2.76	2.85	2.92	3.00
Cebada	20.0	20.0	20.0	20.0
Maíz	20.0	20.0	20.0	20.0
Trigo	28.93	28.98	29.04	29.10
Aceite de soja	0.74	0.69	0.63	0.57
L-Lisina · HCl	0.16	0.11	0.06	0.01
L-triptófano	-	-	0.01	0.02
Minerales y premezcla de vitaminas	2.91	2.87	2.84	2.80

TABLA 2

Composición de dietas de iniciación (%)

Grupo	I	II	III	IV
Hidrolizado de proteínas de pescado	-	2.0	4.0	6.0
Aislado de proteínas de soja	6.0	4.0	2.0	-
Proteína de patata en polvo	5.54	5.62	5.69	5.76
Cebada	44.68	44.73	44.79	44.85
Maíz	20.0	20.0	20.0	20.0
Trigo	20.0	20.0	20.0	20.0
Aceite de soja	0.45	0.40	0.34	0.29
L-Lisina · HCl	0.26	0.20	0.15	0.09
L-triptófano	-	0.01	0.02	0.03
Minerales y premezcla de vitaminas	3.07	3.04	3.01	2.98

ES 2 356 607 T3

Resultados

Los valores medios de pesos finales e iniciales, índice de crecimiento y consumo de pienso durante el periodo total experimental se dan en la tabla 3. Se puede observar que la sustitución de harina de soja por hidrolizado de proteínas de pescado según la invención tiene influencia provechosa en el crecimiento de los lechones.

TABLA 3

Rendimiento del crecimiento de lechones durante el periodo total experimental (promedio \pm desviación típica)

Grupo	I	II	III	IV
Hidrolizado de proteínas de pescado (%)	0	2	4	6
Peso inicial (kg)	7.66 \pm 57	7.64 \pm 0.71	7.65 \pm 0.93	7.66 \pm 0.64
Peso Final (kg)	27.45 \pm 2.80	27.83 \pm 2.71	28.15 \pm 3.51	28.34 \pm 1.36
relativo	100	101.4	102.6	103.2
Índice de crecimiento (g/día)	471 \pm 67	480 \pm 57	488 \pm 67	493 \pm 30
relativo	100	101.9	103.6	104.7
Consumo de pienso (g/día)	732 \pm 94	743 \pm 87	760 \pm 104	767 \pm 50
relativo	100	101.5	103.8	104.8

Ejemplo 3

Secado en tambores de producto de hidrólisis

Un hidrolizado de carne de pescado fue producido como en los ejemplos precedentes a excepción de que el secado fue realizado en un secador de tambor calentado por vapor.

Las siguientes condiciones fueron usadas en el secador de tambor:

Presión de vapor: 7.3 bar(g)

Temperatura de superficie: \sim 165°C.

Contenido de sólidos de pienso líquido: 49%

Velocidad de rotación de tambor: 5 r.p.m.

Ajuste del secador: 1.5 m² tambores de contra-rotación de tambor doble

Capacidad de producción: 15.3 kg/m²/hr de producto final

Consumo de energía: consumo de vapor aprox. 1.4 kg/kg de agua evaporado.

El hidrolizado formó una película de líquido óptima dando como resultado una buena hoja de materia seca que se separa de las cuchillas raspadoras.

ES 2 356 607 T3

El hidrolizado tuvo las siguientes propiedades:

Contenido de humedad residual: 2.1%

5 Densidad en masa: 340 g/l no sellado, 390 g/l sellado.

Referencias citadas en la descripción

10 *Esta lista de referencias citada por el solicitante ha sido recopilada exclusivamente para la información del lector. No forma parte del documento de patente europea. La misma ha sido confeccionada con la mayor diligencia; la OEP sin embargo no asume responsabilidad alguna por eventuales errores u omisiones.*

Documentos de patente citados en la descripción

- 15
- US 3697285 A [0004]
 - US 3578461 A [0007]

20

 - US 4473589 A [0007]

Bibliografía distinta de patentes citada en la descripción

- 25
- Espe *et al. Aquaculture*, 1999, vol. 174, 119-137 [0003]
 - Oliva-Teles *et al. Aquaculture*, 1999, vol. 179, 195-201 [0005]
 - Cahu *et al. Aquaculture*, 1999, vol. 171, 109-119 [0006]

30

 - Nielsen *et al. Journal of Food Science*, 2001, vol. 66, 642-646 [0017]
 - Helland *et al. Aquaculture*, 1996, vol. 139, 157-163 [0037]
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

ES 2 356 607 T3

REIVINDICACIONES

1. Composición de pienso para alimentar animales, preparada por un método que comprende:
- 5 a) hidrolizar carne de pescado con una proteasa neutra y una proteasa alcalina, y
b) inactivar las proteasas por tratamiento térmico.
- 10 2. Composición de pienso según la reivindicación 1 que comprende además la eliminación de la parte esencial del aceite de la carne de pescado hidrolizada después de la fase b).
3. Composición de pienso según la reivindicación 1 donde los animales son peces.
- 15 4. Composición de pienso según la reivindicación 3 donde los peces son seleccionados del grupo que consiste en salmón, trucha, rodaballo, lubina, bacalao, merluza, besugo, siluro, lenguado, anguila, carpa.
5. Composición de pienso según la reivindicación 1 donde los animales son gambas o erizos de mar.
- 20 6. Composición de pienso según la reivindicación 1 donde los animales son cerdos o puercos.
7. Composición de pienso según la reivindicación 1 donde la proteasa neutra y/o la proteasa alcalina se derivan de *Bacillus*.
- 25 8. Composición de pienso según la reivindicación 1 donde la proteasa neutra se deriva de *Bacillus amyloliquefaciens*.
9. Composición de pienso según la reivindicación 1 donde la proteasa alcalina se deriva de *Bacillus licheniformis*.
- 30 10. Composición de pienso según la reivindicación 1 donde la carne de pescado es cruda.
11. Composición de pienso según la reivindicación 1 donde la carne de pescado no ha sido sometida a temperaturas superiores a 70°C antes de la hidrólisis.
- 35 12. Composición de pienso según la reivindicación 1 donde la carne de pescado se hidroliza a un grado de hidrólisis de 10-30%.
- 40 13. Composición de pienso según la reivindicación 1 donde la carne de pescado se hidroliza a un grado de hidrólisis de 15-20%.
14. Composición de pienso según la reivindicación 1 donde el método además comprende la eliminación de sólidos después de la fase b).
- 45 15. Composición de pienso según la reivindicación 14 donde los sólidos se eliminan en una prensa y/o un separador y/o un decantador.
16. Composición de pienso según la reivindicación 1 donde el método además comprende secar el producto de la hidrólisis después de la fase b).
- 50 17. Composición de pienso según la reivindicación 16 donde el secado se realiza por secado en tambores.
18. Método de alimentación de animales con una composición de pienso que comprende un hidrolizado de proteínas de pescado preparado por un método que comprende:
- 55 a) hidrolizar carne de pescado con una proteasa neutra y una proteasa alcalina, y
b) inactivar las proteasas por tratamiento térmico.
- 60 19. Método de preparación de una composición de pienso que comprende:
- a) hidrolizar carne de pescado con una proteasa neutra y una proteasa alcalina, y
65 b) inactivar las proteasas por tratamiento térmico.