



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 364 896**

51 Int. Cl.:

**C12P 1/00** (2006.01)

**A23K 1/06** (2006.01)

**A23K 1/165** (2006.01)

**A23K 1/18** (2006.01)

**A23L 1/015** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08862938 .1**

96 Fecha de presentación : **12.12.2008**

97 Número de publicación de la solicitud: **2231863**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.09.2010**

54

Título: **Proceso para degradar zearalenona en un producto de alimentación para animales utilizando lacasa.**

30

Prioridad: **14.12.2007 EP 07150032**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.09.2011**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.09.2011**

73

Titular/es: **NOVOZYMES A/S**  
**Krogshøjvej 36**  
**2880 Bagsvaerd, DK**

72

Inventor/es: **Viksoe-Nielsen, Anders y**  
**Soerensen, Birthe, Hauerbach**

74

Agente: **Tomás Gil, Tesifonte Enrique**

ES 2 364 896 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

Proceso para degradar zearalenona en un producto de alimentación para animales utilizando lacasa

5 **Referencia a listado de secuencias**

[0001] Esta solicitud contiene un listado de secuencias en forma legible por ordenador.

10 **Campo de la invención**

[0002] La presente invención se refiere a un método para destoxificación de productos alimenticios contaminados por la micotoxina zearalenona.

15 **Antecedentes de la invención**

[0003] Diferentes especies de *Fusarium* de plantas patógenas y/o post-cosecha en cereales producen sustancias tóxicas de interés considerable para los ganaderos y avicultores, por ejemplo, desoxinivalenol, toxina T-2, toxina HT-2, diacetoxiscirpenol y zearalenona.

20 [0004] Zearalenona se encuentra a nivel mundial en un número de brotes de cereales, tales como maíz, cebada, avena, trigo, centeno, arroz, milla y sorgo. La producción de zearalenona no parece ocurrir en cantidades significantes antes de la cosecha, pero bajo condiciones medioambientales apropiadas, es fácilmente producida en maíz y granos pequeños durante el almacenamiento.

25 [0005] Cuando el grano de cereal se usa en la producción de etanol y el almidón se consume, la zearalenona se concentra en los subproductos de fermentación, por ejemplo, en el grano seco de la destiladora. El contenido de zearalenona en los subproductos de fermentación puede ser aumentado triplemente con respecto al grano de cereal.

30 [0006] La toxina es termoestable, y no se destruye por un largo almacenamiento, por asado, o por la adición de ácido propiónico o retardadores de molde.

[0007] A pesar de su desemejanza estructural a los estrógenos esteroidales, la zearalenona y varios de sus derivados poseen actividad estrogénica. La zearalenona sufre un pliegue de manera que grupos hidróxilo o hidróxilo potenciales se vuelven apropiadamente orientados para facilitar la unión a receptores tisulares que normalmente se enlazan a estrógenos.

35 [0008] La zearalenona es la toxina primaria causante de infertilidad, aborto u otros problemas de la gestación, especialmente en puercos. Los síntomas son especialmente severos en los lechones prepubertales incluyendo mamas aumentadas, hinchazón del útero y la vulva, y atrofia de los ovarios. En casos severos, puede ocurrir un prolapso de la vulva y el recto. Los jabalíes muestran mamas aumentadas y testículos atrofiados.

40 [0009] La zearalenona está presente en la carne de animales que se alimentan con grano contaminado al igual que en pan cocido a partir de trigo contaminado. Mientras casos de envenenamiento de seres humanos son raros hay interés sobre el efecto de la exposición de seres humanos a tal actividad estrogénica durante un periodo largo.

45 [0010] La inactivación de micotoxinas, incluyendo la zearalenona, usando epoxidasa o lactonasa se describe en WO9612414.

[0011] El documento de patente WO 2007/133263 A (GENENCOR INTERNATIONAL, INC., 22 Noviembre 2007) divulga un proceso para degradar micotoxinas en productos de alimentación para animales utilizando transferasas de acilo en combinación con peróxido de hidrógeno.

50 [0012] El resumen DATABASE WPI Week 200281 Derwent Publications Ltd., AN 2002-743666 (correspondiente al documento de patente japonesa JP 2002 153257 A (IDEMITSU KOSAN CO LTD, 28 de mayo de 2002)) divulga un proceso para degradar sustancias de hidrocarburo halogenado tóxico en la tierra utilizando lacasas.

55 [0013] Hay una necesidad de más métodos de destoxificación de productos de alimentación para animales, por ejemplo, tal como fermentación de subproductos, incluyendo grano seco y húmedo de destilería, contaminado por la micotoxina zearalenona.

60 **Resumen de la invención**

[0014] Los inventores de la presente invención han descubierto que zearalenona en un producto de alimentación para animales se puede degradar en sustancias no tóxicas tratando el producto de alimentación para animales con una lacasa. Por consiguiente, en un primer aspecto la invención proporciona un proceso para degradar zearalenona en un producto de alimentación para animales, dicho proceso comprende tratar dicho producto de alimentación para animales con una lacasa.

[0015] En un segundo aspecto la invención proporciona un uso de una lacasa para degradar zearalenona.

### Descripción detallada de la invención

#### Zearalenona

[0016] En el contexto de esta invención el término "zearalenona" comprende la micotoxina zearalenona producida a partir de ciertas *Fusarium sp.* El nombre de la IUPAC es (4S,12E)-15, 17-Dihidroxi-4-metil-3-oxabicyclo[12.4.0]octadeca-12, 15, 17, 19-tetraeno-2, 8-diona. El término "zearalenona" también comprende cualquier derivado de zearalenona que comprende uno o más grupos hidróxilo susceptibles de modificación por una lacasa.

#### Productos de alimentación para animales

[0017] El término "animal" incluye todos los animales, incluyendo seres humanos. Ejemplos de animales son ganado bovino, (incluyendo pero no limitado a vacas y terneros); animales mono-gástricos, por ejemplo cerdos o puercos (incluyendo, pero no limitado a, lechones, cerdos en crecimiento, y cerdas); aves tales como pavos y pollos (incluyendo pero no limitado a pollos para asar, gallinas ponedoras); y peces (incluyendo pero no limitado a salmón).

[0018] El término "alimentación para animales" o "producto de alimentación para animales" significa cualquier compuesto, preparación, mezcla, o composición adecuada para, o destinada para la ingesta por un animal.

[0019] El producto de alimentación para animales puede ser un producto que aparte de un nivel indeseado de zearalenona es conveniente para el consumo por un animal. El producto de alimentación para animales puede también ser un producto sospechoso de comprender un nivel indeseado de zearalenona, y/o un producto con un nivel desconocido de zearalenona, incluyendo productos que no comprenden un nivel detectable de zearalenona.

[0020] Preferiblemente el producto de alimentación para animales es un producto a base de grano. Preferiblemente el producto a base de grano comprende cereal(es), por ejemplo, uno o más de maíz, trigo, cebada, centeno, arroz, sorgo y mijo. En una forma de realización, el producto de alimentación para animales puede por ejemplo derivar solamente de cereal(es), y en otra forma de realización parcialmente de leguminosas, por ejemplo de semilla de soja, y parcialmente de cereales. El producto a base de grano puede comprender grano molido o entero, por ejemplo, grano molido seco o húmedo, incluyendo producto a base de grano que comprende fracciones de grano molido seco o húmedo, por ejemplo, fracciones de gluten, proteína, almidón, y/o aceite. También se prefieren productos que comprenden subproducto de procesos de elaboración y/o de fermentación, por ejemplo, granos agotados. Granos agotados son los subproductos de la producción de bebidas alcohólicas y combustibles de etanol. Grano agotado de cervecería (BSG) es el residuo de producción de cerveza en cervecerías, usando la cebada malteada como la materia prima principal. Grano agotado de destilería (DSG) es el producto dejado en destilerías después de que el alcohol haya sido eliminado por destilación de los granos fermentados tales como maíz, trigo, cebada, arroz, y centeno. Grano agotado de destilería es también conocido como grano de destilería. Grano húmedo de destilería (WDG) se seca para producir grano seco de destilería (DDG) que se usa principalmente como alimentación para animales.

#### Lacasas

[0021] En el contexto de esta invención el término "lacasas" incluye enzimas comprendidas por la clasificación enzimática E.C. 1.10.3.2.

[0022] Preferidas son las enzimas mencionadas más abajo, especialmente enzimas recombinantes y/o sustancialmente purificadas.

[0023] Preferiblemente, la lacasa empleada se deriva de una cepa de *Polyporus sp.*, en particular una cepa de *Polyporus pinisitus* o *Polyporus versicolor*, o una cepa de *Myceliophthera sp.*, por ejemplo *M. thermophila* o una cepa de *Rhizoctonia sp.*, en particular una cepa de *Rhizoctonia praticola* o *Rhizoctonia solani*, o una cepa de un *Rhus sp.*, en particular *Rhus vernicifera*.

[0024] En formas de realización específicas de la invención la lacasa es una lacasa de *Polyporus sp.* especialmente la lacasa de *Polyporus pinisitus* (también llamada lacasa de *Trametes villosa*) descrita en WO 96/00290 o una lacasa de

*Myceliophthera* sp. especialmente la lacasa *Myceliophthera thermophila* descrita en WO 95/33836.

[0025] Además, la lacasa puede ser una lacasa de *Scytalidium* sp., tal como la lacasa de *S. thermophilum* descrita en WO 95/33837 o una lacasa de *Pyricularia* sp., tal como la lacasa de *Pyricularia oryzae* que se puede comprar a SIGMA bajo la marca registrada SIGMA N°. L5510, o una lacasa de *Coprinus* sp., tal como una lacasa de *C. cinereus*, especialmente una lacasa de *C. cinereus* IFO 30116, o una lacasa *Rhizoctonia* sp., tal como una lacasa de *R. solani*, especialmente la lacasa neutra de *R. solani* descrita WO 95/07988 con un pH óptimo en el intervalo de 6,0 a 8,5.

[0026] La lacasa puede también ser derivada de un hongo tal como *Collybia*, *Fomes*, *Lentinus*, *Pleurotus*, *Aspergillus*, *Neurospora*, *Podospora*, *Phlebia*, por ejemplo *P. radiata* (WO 92/01046), *Coriolus* sp., por ejemplo *C. hirsitus* (JP 2-238885), o *Botrytis*.

[0027] En formas de realización preferidas la lacasa es una lacasa de *Myceliophthera thermophila* (MtL) con la secuencia de aminoácidos depositada como GENESEQP: AAR88500 y mostrada aquí como SEC ID NO:1., una lacasa de *Polyporus pinsitus* (PpL) con la secuencia de aminoácidos depositada como UNIPROT: Q99044 y mostrada aquí como SEC ID NO:2, una lacasa de *Streptomyces coelicolor* SCL con la secuencia de aminoácidos depositada como SWISSPROT: Q9XAL8 y mostrada aquí como SEC ID NO:3, o una lacasa con una secuencia de aminoácidos homóloga a cualquiera de estas secuencias.

[0028] La lacasa debe estar presente en el medio que debe ser destoxificada en cantidades eficaces. Preferiblemente la lacasa está presente en concentraciones de 0,01-100 mg de proteína enzimática por kg de materia seca, preferiblemente 0.1-10 mg de proteína enzimática por kg de materia seca, o más preferiblemente 1-5 mg de proteína enzimática por kg de materia seca.

#### El mediador

[0029] En una forma de realización un mediador que actúa como donante electrónico para la lacasa se usa con la lacasa. El mediador debería estar presente en el medio para ser destoxificado en cantidades eficaces.

[0030] Varios mediadores son conocidos; véase por ejemplo WO9412620, WO9412621, WO9501626, WO9600179 y WO9923887.

[0031] Preferido para la invención es un mediador seleccionado de metilsiringato (MES), ácido fenotiazina-10-propiónico (PPT), N-(4-cianofenil)acetohidroxámico (NCPA), acetosiringona, siringaldehído, ácido p-cumárico, 2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato), 1-hidroxibenzotriazol, 2,4-pentanodiona, y fenotiazina.

[0032] Dichos mediadores están disponibles comercialmente o pueden ser hechos por métodos conocidos en la técnica.

#### El medio

[0033] En una forma de realización la lacasa está degradando la zearalenona en un medio que comprende el producto de alimentación para animales. El medio es preferiblemente acuoso y puede ser un líquido, una pasta o un compuesto acuoso. Para formar un agua de medio adecuado se puede adicionar al producto de alimentación para animales. La lacasa y el mediador pueden ser comprendidos, bien separadamente o juntos, en formulaciones sólidas o líquidas adecuadas para la aplicación a dicho medio.

[0034] En una forma de realización la lacasa está degradando la zearalenona a una extensión por la cual el contenido de zearalenona por kg de producto de alimentación para animales en materia seca se reduce a menos del 50%, menos del 60%, menos del 70%, preferiblemente menos del 80%, más preferiblemente menos del 85%, aún más preferiblemente menos del 90%, y de la forma más preferible menos del 95% de la cantidad inicial.

[0035] La eficiencia de destoxificación de la invención depende de por ejemplo disponibilidad de oxígeno, pH, temperatura y tampón del medio. Por ejemplo, el tratamiento puede ocurrir a un valor de pH en el que la actividad relativa de la lacasa real es al menos del 50, o 60, o 70, o 80 o 90%. Asimismo, por ejemplo, el tratamiento puede ocurrir a una temperatura en la que la actividad relativa de la lacasa real es al menos del 50, o 60, o 70, o 80 o 90%. La actividad relativa se calcula con respecto a la actividad al valor de pH donde la actividad máxima es observada.

#### Oxígeno en el medio

[0036] La fuente de oxígeno requerida por la lacasa puede ser oxígeno de la atmósfera o un precursor de oxígeno para la producción *in situ* de oxígeno. El oxígeno de la atmósfera usualmente estará presente en cantidad suficiente. Si se necesita

más O<sub>2</sub>, se puede añadir oxígeno adicional, por ejemplo como aire atmosférico presurizado o como oxígeno puro presurizado.

#### pH en el medio

[0037] Dependiendo, entre otras cosas, de las características de la lacasa y del mediador empleado, el pH en el medio empleado debería normalmente estar en el intervalo de 5-11, preferiblemente en el intervalo 6-10, por ejemplo 6,5-8,5.

#### Temperatura en el medio

[0038] Preferiblemente se aplica una temperatura de reacción que está próxima de la temperatura óptima para la lacasa. En numerosas formas de realización de la invención, temperaturas en el intervalo de 10-65°C, más preferiblemente 30-50°C, deberían ser empleadas.

#### Duración del tratamiento

[0039] La duración del tratamiento depende, entre otras cosas, del tipo de tratamiento, del tipo de artículo para ser tratado, de las propiedades del medio, por ejemplo temperatura y pH y del tipo y cantidades de enzima y mediador empleado.

[0040] La reacción enzimática es continuada hasta que el resultado deseado es conseguido, tras lo cual éste puede o no ser detenido inactivando la enzima, por ejemplo, por una etapa de tratamiento térmico.

[0041] Para fines de destoxificación, los tiempos de tratamiento se pueden emplear en el intervalo de 1 minuto a 1 semana. En muchos casos un tiempo de tratamiento en el intervalo de 6 a 48 horas será adecuado.

#### Identidad

[0042] La relevancia entre dos secuencias de aminoácidos o entre dos secuencias de nucleótidos es descrita por el parámetro "identidad".

[0043] Para los fines de la presente invención, el grado de identidad entre dos secuencias de aminoácidos es determinado usando el algoritmo Needleman-Wunsch (Needleman y Wunsch, 1970, J. Mol. Bio. 48: 443-453) según está implementado en el programa de Needle del paquete EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, Trends in Genetics 16: 276-277), preferiblemente versión 3.0.0 o posterior. Los parámetros opcionales usados son penalización abierta de hueco de 10, penalización de extensión de hueco de 0.5, y la matriz de sustitución EBLOSUM62 (versión EMBOSS de BLOSUM62). El resultado de Needle marcado "identidad más larga" (obtenida usando la opción -nobrief) se usa como la identidad en porcentaje y se calcula de la siguiente manera:

$$\text{(Residuos Idénticos x 100)/(Longitud de Alineamiento - Número total de huecos en el Alineamiento)}$$

[0044] Para objetivos de la presente invención, el grado de identidad entre dos secuencias de desoxirribonucleótido es determinado usando el algoritmo Needleman-Wunsch (Needleman y Wunsch, 1970, supra) según está implementado en el programa de Needle del paquete EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, supra), preferiblemente versión 3.0.0 o posterior. Los parámetros opcionales usados son penalización abierta de hueco de 10, penalización de extensión de hueco de 0.5, y la matriz de sustitución EDNAFULL (versión EMBOSS de NCBI NUC4.4). El resultado de Needle marcado "identidad más larga" (obtenida usando la opción -nobrief) se usa como la identidad en porcentaje y se calcula de la siguiente manera:

$$\text{(Desoxirribonucleótidos Idénticos x 100)/(Longitud de Alineamiento - Número Total de huecos en el Alineamiento)}$$

#### Secuencia homóloga

[0045] El término "secuencia homóloga" se define como una proteína predicha que da un valor E (o puntuación de expectación) inferior a 0,001 en una búsqueda rápida (Pearson, W.R., 1999, en Bioinformatics Methods and Protocols, S. Misener y S. A. Krawetz, ed., págs. 185-219) con una secuencia específica.

[0046] El término "secuencia homóloga" puede también ser definida como una secuencia que tiene un grado de identidad de al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o incluso 100%, a una secuencia específica.

#### **EJEMPLOS**

**Ejemplo 1****Materiales y métodos**

5

Enzimas

[0047] Una lacasa de *Myceliophthora thermophila* (MtL) con la secuencia de aminoácidos mostrada aquí como SEC ID NO:1.

10 Una lacasa de *Polyporus pinsitus* (PpL) con la secuencia de aminoácidos mostrada aquí como SEC ID NO:2.

Una lacasa de *Streptomyces coelicolor* (ScL) con la secuencia de aminoácidos mostrada aquí como SEC ID NO:3.

Mediadores

15 [0048] Metilsiringato (MeS)

Ácido fenotiazina-10-propiónico (PPT)

[0049] Ensayo: Las reacciones fueron realizadas en volúmenes de 300 microL en tubos eppendorf comprendiendo zearalenona 30 microM, mediador 0.2 mM, acetato sódico 100 mM y enzima 0.1 mg EP/ml. En reacciones de control el volumen enzimático fue sustituido una cantidad equivalente de H<sub>2</sub>O. Las reacciones fueron incubadas 24 horas a 37°C antes de ser terminadas añadiendo 600 microL de una solución de parada de acetonitrilo de 100 microM. Las reacciones fueron almacenadas a -20° C hasta el análisis cromatográfico.

20 [0050] Análisis cromatográfico: Las muestras fueron centrifugadas y el sobrenadante analizado para zearalenona por HPLC-DAD como se describe por Smedsgaard (J. Chromatogr. A, 1997, 760, 264-270). El DAD escaneado de 200-600 nm. La separación fue hecha en un Phenomenex (Torrance; CA) Luna C18(2) 10x2 mm ID, 3 micrómetro, columna 2, usando una forma de movimiento de gradiente lineal del 5% al 100% de acetonitrilo en 20 min. La zearalenona residual fue calculada con respecto al control. Los resultados se presentan en tablas 1 y 2.

30 Tabla 1. Zearalenona residual (ZEA) después de 24 horas de incubación con 3 lacasas diferentes y dos mediadores a pH 4,5.

Enzima	Mediador	pH	ZEA residual (%)
Control	MeS	4.5	100
MtL	MeS	4.5	8,8
PpL	MeS	4.5	4
ScL	MeS	4.5	43,2
Control	PPT	4.5	100
MtL	PPT	4.5	0
PpL	PPT	4.5	0
ScL	PPT	4.5	0

35 Tabla 2. Zearalenona residual (ZEA) después de 24 horas de incubación con 3 lacasas diferentes y dos mediadores a pH 6.

Enzima	Mediador	pH	ZEA residual (%)
Control	MeS	6.0	100
MtL	MeS	6.0	0
PpL	MeS	6.0	0
ScL	MeS	6.0	0
Control	PPT	6.0	100
MtL	PPT	6.0	0
PpL	PPT	6.0	0
ScL	PPT	6.0	0

40

LISTADO DE SECUENCIAS

[0051]

- 5 <110> Novozymes A/S  
<120> LACASA PARA DESTOXIFICACIÓN DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS
- 10 <130> 11338.204-WO  
<160> 3  
<170> Versión de patentIn 3.5
- 15 <210> 1  
<211> 620  
<212> PRT  
<213> Myceliophthora thermophila
- 20 <220>  
<221> mat\_péptido  
<222> (1)..(620)
- <400> 1

Met Lys Ser Phe Ile Ser Ala Ala Thr Leu Leu Val Gly Ile Leu Thr  
 1 5 10 15  
 Pro Ser Val Ala Ala Ala Pro Pro Ser Thr Pro Glu Gln Arg Asp Leu  
 20 25 30  
 Leu Val Pro Ile Thr Glu Arg Glu Glu Ala Ala Val Lys Ala Arg Gln  
 35 40 45  
 Gln Ser Cys Asn Thr Pro Ser Asn Arg Ala Cys Trp Thr Asp Gly Tyr  
 50 55 60  
 Asp Ile Asn Thr Asp Tyr Glu Val Asp Ser Pro Asp Thr Gly Val Val  
 65 70 75 80  
 Arg Pro Tyr Thr Leu Thr Leu Thr Glu Val Asp Asn Trp Thr Gly Pro  
 85 90 95  
 Asp Gly Val Val Lys Glu Lys Val Met Leu Val Asn Asn Ser Ile Ile  
 100 105 110  
 Gly Pro Thr Ile Phe Ala Asp Trp Gly Asp Thr Ile Gln Val Thr Val  
 115 120 125  
 Ile Asn Asn Leu Glu Thr Asn Gly Thr Ser Ile His Trp His Gly Leu  
 130 135 140  
 His Gln Lys Gly Thr Asn Leu His Asp Gly Ala Asn Gly Ile Thr Glu  
 145 150 155 160  
 Cys Pro Ile Pro Pro Lys Gly Gly Arg Lys Val Tyr Arg Phe Lys Ala  
 165 170 175  
 Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Trp Tyr His Ser His Phe Ser Ala Gln Tyr

ES 2 364 896 T3

180 185 190  
 Gly Asn Gly Val Val Gly Ala Ile Gln Ile Asn Gly Pro Ala Ser Leu  
 195 200 205  
 Pro Tyr Asp Thr Asp Leu Gly Val Phe Pro Ile Ser Asp Tyr Tyr Tyr  
 210 215 220  
 Ser Ser Ala Asp Glu Leu Val Glu Leu Thr Lys Asn Ser Gly Ala Pro  
 225 230 235 240  
 Phe Ser Asp Asn Val Leu Phe Asn Gly Thr Ala Lys His Pro Glu Thr  
 245 250 255  
 Gly Glu Gly Glu Tyr Ala Asn Val Thr Leu Thr Pro Gly Arg Arg His  
 260 265 270  
 Arg Leu Arg Leu Ile Asn Thr Ser Val Glu Asn His Phe Gln Val Ser  
 275 280 285  
 Leu Val Asn His Thr Met Cys Ile Ile Ala Ala Asp Met Val Pro Val  
 290 295 300  
 Asn Ala Met Thr Val Asp Ser Leu Phe Leu Gly Val Gly Gln Arg Tyr  
 305 310 315 320  
 Asp Val Val Ile Glu Ala Asn Arg Thr Pro Gly Asn Tyr Trp Phe Asn  
 325 330 335  
 Val Thr Phe Gly Gly Gly Leu Leu Cys Gly Gly Ser Arg Asn Pro Tyr  
 340 345 350  
 Pro Ala Ala Ile Phe His Tyr Ala Gly Ala Pro Gly Gly Pro Pro Thr  
 355 360 365  
 Asp Glu Gly Lys Ala Pro Val Asp His Asn Cys Leu Asp Leu Pro Asn  
 370 375 380  
 Leu Lys Pro Val Val Ala Arg Asp Val Pro Leu Ser Gly Phe Ala Lys  
 385 390 395 400  
 Arg Ala Asp Asn Thr Leu Asp Val Thr Leu Asp Thr Thr Gly Thr Pro  
 405 410 415  
 Leu Phe Val Trp Lys Val Asn Gly Ser Ala Ile Asn Ile Asp Trp Gly  
 420 425 430  
 Arg Ala Val Val Asp Tyr Val Leu Thr Gln Asn Thr Ser Phe Pro Pro  
 435 440 445  
 Gly Tyr Asn Ile Val Glu Val Asn Gly Ala Asp Gln Trp Ser Tyr Trp  
 450 455 460

Leu Ile Glu Asn Asp Pro Gly Ala Pro Phe Thr Leu Pro His Pro Met  
 465 470 475 480  
 His Leu His Gly His Asp Phe Tyr Val Leu Gly Arg Ser Pro Asp Glu  
 485 490 495  
 Ser Pro Ala Ser Asn Glu Arg His Val Phe Asp Pro Ala Arg Asp Ala  
 500 505 510  
 Gly Leu Leu Ser Gly Ala Asn Pro Val Arg Arg Asp Val Ser Met Leu  
 515 520 525  
 Pro Ala Phe Gly Trp Val Val Leu Ser Phe Arg Ala Asp Asn Pro Gly  
 530 535 540  
 Ala Trp Leu Phe His Cys His Ile Ala Trp His Val Ser Gly Gly Leu  
 545 550 555 560  
 Gly Val Val Tyr Leu Glu Arg Ala Asp Asp Leu Arg Gly Ala Val Ser  
 565 570 575  
 Asp Ala Asp Ala Asp Asp Leu Asp Arg Leu Cys Ala Asp Trp Arg Arg  
 580 585 590  
 Tyr Trp Pro Thr Asn Pro Tyr Pro Lys Ser Asp Ser Gly Leu Lys His  
 595 600 605  
 Arg Trp Val Glu Glu Gly Glu Trp Leu Val Lys Ala  
 610 615 620

<210> 2  
 <211> 520  
 5 <212> PRT  
 <213> Polyporus pinsitus

<220>  
 <221> mat\_péptido  
 10 <222> (1)..(520)

<400> 2

Met Ser Arg Phe His Ser Leu Leu Ala Phe Val Val Ala Ser Leu Thr  
 1 5 10 15

Ala Val Ala His Ala Gly Ile Gly Pro Val Ala Asp Leu Thr Ile Thr  
 20 25 30

Asn Ala Ala Val Ser Pro Asp Gly Phe Ser Arg Gln Ala Val Val Val  
 35 40 45

Asn Gly Gly Thr Pro Gly Pro Leu Ile Thr Gly Asn Met Gly Asp Arg  
 50 55 60

Phe Gln Leu Asn Val Ile Asp Asn Leu Thr Asn His Thr Met Val Lys  
 65 70 75 80  
 Ser Thr Ser Ile His Trp His Gly Phe Phe Gln Lys Gly Thr Asn Trp  
 85 90 95  
 Ala Asp Gly Pro Ala Phe Ile Asn Gln Cys Pro Ile Ser Ser Gly His  
 100 105 110  
 Ser Phe Leu Tyr Asp Phe Gln Val Pro Asp Gln Ala Gly Thr Phe Trp  
 115 120 125  
 Tyr His Ser His Leu Ser Thr Gln Tyr Cys Asp Gly Leu Arg Gly Pro  
 130 135 140  
 Phe Val Val Tyr Asp Pro Asn Asp Pro Ala Ala Asp Leu Tyr Asp Val  
 145 150 155 160  
 Asp Asn Asp Asp Thr Val Ile Thr Leu Val Asp Trp Tyr His Val Ala  
 165 170 175  
 Ala Lys Leu Gly Pro Ala Phe Pro Leu Gly Ala Asp Ala Thr Leu Ile  
 180 185 190  
 Asn Gly Lys Gly Arg Ser Pro Ser Thr Thr Thr Ala Asp Leu Ser Val  
 195 200 205  
 Ile Ser Val Thr Pro Gly Lys Arg Tyr Arg Phe Arg Leu Val Ser Leu  
 210 215 220  
 Ser Cys Asp Pro Asn Tyr Thr Phe Ser Ile Asp Gly His Asn Met Thr  
 225 230 235 240  
 Ile Ile Glu Thr Asp Ser Ile Asn Thr Ala Pro Leu Val Val Asp Ser  
 245 250 255  
 Ile Gln Ile Phe Ala Ala Gln Arg Tyr Ser Phe Val Leu Glu Ala Asn  
 260 265 270  
 Gln Ala Val Asp Asn Tyr Trp Ile Arg Ala Asn Pro Asn Phe Gly Asn  
 275 280 285  
 Val Gly Phe Thr Gly Gly Ile Asn Ser Ala Ile Leu Arg Tyr Asp Gly  
 290 295 300  
 Ala Ala Ala Val Glu Pro Thr Thr Thr Gln Thr Thr Ser Thr Ala Pro  
 305 310 315 320  
 Leu Asn Glu Val Asn Leu His Pro Leu Val Thr Thr Ala Val Pro Gly  
 325 330 335

Ser Pro Val Ala Gly Gly Val Asp Leu Ala Ile Asn Met Ala Phe Asn  
 340 345 350

Phe Asn Gly Thr Asn Phe Phe Ile Asn Gly Thr Ser Phe Thr Pro Pro  
 355 360 365

Thr Val Pro Val Leu Leu Gln Ile Ile Ser Gly Ala Gln Asn Ala Gln  
 370 375 380

Asp Leu Leu Pro Ser Gly Ser Val Tyr Ser Leu Pro Ser Asn Ala Asp  
 385 390 395 400

Ile Glu Ile Ser Phe Pro Ala Thr Ala Ala Ala Pro Gly Ala Pro His  
 405 410 415

Pro Phe His Leu His Gly His Ala Phe Ala Val Val Arg Ser Ala Gly  
 420 425 430

Ser Thr Val Tyr Asn Tyr Asp Asn Pro Ile Phe Arg Asp Val Val Ser  
 435 440 445

Thr Gly Thr Pro Ala Ala Gly Asp Asn Val Thr Ile Arg Phe Arg Thr  
 450 455 460

Asp Asn Pro Gly Pro Trp Phe Leu His Cys His Ile Asp Phe His Leu  
 465 470 475 480

Glu Ala Gly Phe Ala Val Val Phe Ala Glu Asp Ile Pro Asp Val Ala  
 485 490 495

Ser Ala Asn Pro Val Pro Gln Ala Trp Ser Asp Leu Cys Pro Thr Tyr  
 500 505 510

Asp Ala Leu Asp Pro Ser Asp Gln  
 515 520

<210> 3  
 <211> 343  
 <212> PRT  
 <213> Streptomyces coelicolor

5

<220>  
 <221> mat péptido

<222> (1)..(343)

<400> 3

Met Asp Arg Arg Gly Phe Asn Arg Arg Val Leu Leu Gly Gly Ala Ala  
1 5 10 15

Ala Ala Thr Ser Leu Ser Ile Ala Pro Glu Val Ala Gly Ala Ala Pro  
20 25 30

Ala Ala Lys Gly Ile Thr Ala Arg Thr Ala Pro Ala Gly Gly Glu Val



Gly Ala Thr Ala Lys Ser Gly Glu Ser Gly Glu Pro Thr Gly Gly Ala  
325 330 335

Ala Ala His Glu His Glu His  
340

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Proceso para degradar la micotoxina zearalenona en un producto de alimentación para animales, proceso que comprende tratar dicho producto de alimentación para animales con una lacasa.
2. Proceso según la reivindicación 1 donde la dosificación de la lacasa es 0,01-100 mg de proteína enzimática por kg de materia seca, 0.1-10 mg de proteína enzimática por kg de materia seca, o 1-5 mg de proteína enzimática por kg de materia seca.
- 10 3. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 donde se usa un mediador.
4. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 donde el mediador es metilsiringato o ácido fenotiazina-10-propiónico.
- 15 5. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 donde el producto de alimentación para animales es un producto de alimentación para animales a base de grano.
6. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde el producto de alimentación para animales comprende uno o más productos seleccionados de maíz, trigo, cebada, centeno, arroz, sorgo y mijo.
- 20 7. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 donde el producto de alimentación para animales es una composición de alimentación para animales.
- 25 8. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 donde el producto de alimentación para animales es un subproducto de un proceso de fermentación.
9. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 donde el producto de alimentación para animales comprende bagazo, grano agotado de destilería, grano mojado de destilería, y/o grano seco de destilería.
- 30 10. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 donde el producto de alimentación para animales es un producto de alimentación para puercos.
11. Uso de una lacasa para la degradar la micotoxina zearalenona.
- 35 12. Uso según la reivindicación 11 en un producto de alimentación para animales a base de grano.
- 40 13. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 12, donde la dosificación de la lacasa es 0,01-100 mg de proteína enzimática por kg de materia seca, 0.1-10 mg de proteína enzimática por kg de materia seca, o 1-5 mg de proteína enzimática por kg de materia seca.